

AZIZA KAMAL GENENA

**EXTRAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DO EXTRATO
DE ALECRIM (*Rosmarinus officinalis* L.):
ESTUDO DE SUA AÇÃO ANTIOXIDANTE**

Florianópolis – SC

2005

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO TECNOLÓGICO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE
ALIMENTOS

**EXTRAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DO EXTRATO
DE ALECRIM (*Rosmarinus officinalis* L.):
ESTUDO DE SUA AÇÃO ANTIOXIDANTE**

AZIZA KAMAL GENENA

Engenheira de Alimentos, 2002 - UFSC

Orientador: Prof. Dr-Ing Haiko Hense

Florianópolis

2005

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO TECNOLÓGICO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE ALIMENTOS

**EXTRAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DO EXTRATO
DE ALECRIM (*Rosmarinus officinalis* L.):
ESTUDO DE SUA AÇÃO ANTIOXIDANTE**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos do Centro Tecnológico da Universidade Federal de Santa Catarina, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Engenharia de Alimentos.

Área de Concentração: Desenvolvimento de Processos na Indústria de Alimentos.

Orientador: Prof. Dr-Ing Haiko Hense

AZIZA KAMAL GENENA

Florianópolis

2005

“Dedico esse título à minha mãe por todo seu amor,
esforço e dedicação para comigo durante toda
minha vida, e a minha querida e amada
Santra (in memorium).”

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por todo amor, força e incentivo para continuar SEMPRE.

Em segundo lugar, e não menos importante, as minhas queridas e amadas mãe Tânia Regina Ferreira e irmã Samia Kamal Genena, por toda dedicação, amor durante toda minha vida, companhia e desejo de ver meus sonhos realizados.

Ao Prof. Dr-Ing Haiko Hense pela boa orientação e companheirismo no decorrer do trabalho.

A Duas Rodas Industrial Ltda pelo apoio financeiro, em especial ao Dr-Ing Jaime Moya Donoso, pela atenção, auxílio e dedicação sempre que preciso.

As minhas duas grandes companheiras e amigas de mestrado e LATESC, Cíntia Sorane G. Kitzberger e Luanda M^a Campos, que sempre estiveram presentes e muito me ajudaram no desenvolvimento, andamento e decisões durante todo o trabalho, além da ótima amizade e companhia.

A Fernanda V. Leimann pelo auxílio, companhia e amizade.

Ao meu amigo Leandro, pela valiosa amizade, mesmo à distância, e pelas valiosas contribuições no trabalho.

Aos amigos do LATESC, Gabi Neves, Gabi Jahn, Eliane, Gica, Priscilla, Clarice, Rose, Gustavo, Rodrigo, pela companhia, amizade e colaboração durante esses dois anos de trabalho.

A CAPES pelo suporte financeiro.

PENSAMENTO

“O segredo da felicidade está em olhar todas as
maravilhas do mundo e nunca se esquecer
da sua missão ou do seu objetivo.”

(Paulo Coelho)

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	i
LISTA DE TABELAS	v
NOMENCLATURA	vii
RESUMO	x
ABSTRACT	xi
1. INTRODUÇÃO	1
2. OBJETIVO	3
2.1 Objetivos Específicos	3
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	4
3.1 Oxidação Lipídica	4
3.1.1 Radicais Livres	6
3.2 Antioxidantes	7
3.2.1 Mecanismos Antioxidantes	9
3.2.2 Antioxidantes Sintéticos	10
3.2.3 Antioxidantes Naturais	12
3.2.4 Especiarias e Ervas como Fonte de Antioxidantes Naturais	13
3.2.5 Polifenóis	16
3.3 Extração Supercrítica	17
3.3.1 Solubilidade	25
3.3.2 Modelagem	26
3.4 Alecrim (<i>Rosmarinus Officinalis</i> L.)	29
4. MATERIAIS E MÉTODOS	34
4.1 Aquisição e Preparação da Matéria-Prima	34
4.2 Caracterização da MP e do Leito de Partículas	35
4.2.1 Determinação do Teor de Umidade	35
4.2.2 Determinação do Tamanho das Partículas	35
4.2.3 Determinação do Diâmetro Médio das Partículas	36
4.2.4 Determinação da Densidade Real ou Absoluta (dr)	37
4.2.5 Determinação da Densidade Aparente (da)	37
4.2.6 Determinação da Porosidade Total do Leito de Partículas (ϵ)	37
4.2.7 Densidade do Solvente	37

4.3	Equipamento de Extração	38
4.3.1	Extração Supercrítica	38
4.3.1.1	Unidade de ESC-A	38
4.3.1.1.1	Determinação da Solubilidade Experimental Preliminar	40
4.3.1.2	Unidade de ESC-B	41
4.3.2	Extração com Solventes Orgânicos	43
4.3.2.1	Extração Sólido-Líquido com Maceração em Etanol seguida do Fracionamento com Solventes Orgânicos	43
4.3.2.2	Extração Soxhlet	44
4.4	Condições Operacionais	45
4.5	Modelagem Matemática das Curvas de ESC	45
4.6	Caracterização do Extrato de Alecrim	45
4.6.1	Antioxidantes	45
4.6.1.1	Determinação do Radical DPPH (1,1-Diphenyl-2-Picryl Hydrazyl)	45
4.6.1.2	Método de Folin-Denis	46
4.6.2	Análise Cromatográfica Acoplada com Espectrometria de Massas	48
5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	49
5.1	Testes Preliminares	49
5.2	Caracterização da Matéria-Prima	51
5.2.1	Determinação do Teor de Umidade	51
5.2.2	Determinação do Diâmetro Médio das Partículas	52
5.2.3	Determinação da Densidade Real ou Absoluta (ρ_r)	53
5.2.4	Determinação da Densidade Aparente (ρ_a)	53
5.2.5	Determinação da Porosidade Total do Leito de Partículas (ϵ)	53
5.3	Inversão das Isotermas de Rendimento	54
5.4	Determinação da Solubilidade Preliminar	55
5.5	Influência dos Parâmetros de Processo no Rendimento	57
5.5.1	Influência da Temperatura no Rendimento Global de Extração	59
5.5.2	Influência da Pressão no Rendimento Global de Extração	61
5.5.3	Influência da Granulometria no Rendimento Global de Extração	63
5.5.4	Influência da Vazão de Solvente no Rendimento Global de Extração	63
5.6	Modelagem das Curvas de ESC	65
5.7	Rendimento	73

5.8	Atividade Antioxidante	74
5.8.1	DPPH	75
5.8.2	Folin-Denis	79
5.9	Composição Química dos Extratos	81
6.	CONCLUSÕES	88
7.	SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	91
8.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	92
Anexo I	– Equações dos Modelos	104
Anexo I-A	– Modelo de Crank	104
Anexo I-B	– Modelo de Sovová	105
Anexo I-C	– Modelo de Martínez et al.	109
Anexo II	– Dados Experimentais das Curvas de ESC	112
Anexo II-A	– Dados Experimentais: Unidade ESC-A	112
Anexo II-B	– Dados Experimentais: Unidade ESC-B	115
Anexo III	– Dados das Curvas Ajustadas pelo SAS (dados de Solubilidade Preliminar)	119
Anexo III-A	– Ensaio ESC 100 bar / 30 °C – 1,205 gCO ₂ /min	119
Anexo III-B	– Ensaio ESC 100 bar / 40 °C – 1,425 gCO ₂ /min	121
Anexo III-C	– Ensaio ESC 100 bar / 50 °C – 1,478 gCO ₂ /min	123
Anexo III-D	– Ensaio ESC 200 bar / 30 °C – 1,135 gCO ₂ /min	125
Anexo III-E	– Ensaio ESC 200 bar / 40 °C – 1,084 gCO ₂ /min	127
Anexo III-F	– Ensaio ESC 200 bar / 50 °C – 0,910 gCO ₂ /min	129
Anexo IV	– Dados das Curvas Ajustadas pelo SAS (Dados para Modelagem)	131
Anexo IV-A	– Ensaio ESC 200 bar / 30 °C – 5 gCO ₂ /min	131
Anexo IV-B	– Ensaio ESC 200 bar / 40 °C – 5 gCO ₂ /min	133
Anexo IV-C	– Ensaio ESC 200 bar / 50 °C – 5 gCO ₂ /min	135
Anexo IV-D	– Ensaio ESC 300 bar / 30 °C – 5 gCO ₂ /min	137
Anexo IV-E	– Ensaio ESC 300 bar / 40 °C – 5 gCO ₂ /min	139
Anexo IV-F	– Ensaio ESC 300 bar / 50 °C – 5 gCO ₂ /min	141
Anexo V	– Gráficos Obtidos para Análise DPPH	143
Anexo V-A	– Gráficos DPPH para Extração FSC e Soxhlet	143
Anexo V-B	– Gráficos DPPH para ESC 300 bar e 40 °C	147
Anexo VI	– Cromatogramas dos Extratos de Alecrim	151
Anexo VII	– Estrutura Química dos Compostos Identificados nos Extratos de Alecrim	155

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 – Estrutura química dos principais antioxidantes sintéticos.
- Figura 2 – Diagrama de fases.
- Figura 3 – Esquema ilustrativo das etapas da curva de extração.
- Figura 4 – Estrutura do ácido carnósico, alguns de seus produtos de degradação e ácido rosmarínico.
- Figura 5 – Diagrama esquemático da unidade de ESC-A.
- Figura 6 – Foto da unidade de ESC-A.
- Figura 7 – Diagrama esquemático da unidade de ESC-B.
- Figura 8 – Foto da unidade de ESC-B.
- Figura 9 – Aparato completo para Extração Soxhlet.
- Figura 10 – Influência do TE de 0 e 3 horas no rendimento para ESC a 100bar/30°C, granulometria de -20 +32 mesh e vazão de 1,165 e 1,205 g CO₂/min respectivamente.
- Figura 11 – Influência do TE no rendimento para ESC a 200 bar/40 °C, 5gCO₂/min e granulometria de -20 +32 mesh.
- Figura 12 – Fotografias da amostra de alecrim -20 + 32 mesh obtida por MEV.
- Figura 13 – Gráfico da inversão das isotermas de rendimento para ESC de alecrim.
- Figura 14 – Gráfico da influência da temperatura no rendimento para ESC à 100bar.
- Figura 15 – Gráfico da influência da temperatura no rendimento para ESC à 200bar.
- Figura 16 – Gráfico da influência da temperatura no rendimento para ESC à 300bar.
- Figura 17 – Gráfico da influência da pressão no rendimento para ESC à 30 °C.
- Figura 18 – Gráfico da influência da pressão no rendimento para ESC à 40 °C.
- Figura 19 – Gráfico da influência da pressão no rendimento para ESC à 50 °C.
- Figura 20 – Gráfico da influência da granulometria no rendimento para ESC à 200bar / 40°C.

- Figura 21 – Gráfico da influência da vazão do solvente no rendimento para ESC à 200bar / 40°C.
- Figura 22 – Modelagem da curva total de ESC 200 bar/ 30 °C.
- Figura 23 – Modelagem da curva total de ESC 200 bar/ 40 °C.
- Figura 24 – Modelagem da curva total de ESC 200 bar/ 50 °C.
- Figura 25 – Modelagem da curva total de ESC 300 bar/ 30 °C.
- Figura 26 – Modelagem da curva total de ESC 300 bar/ 40 °C.
- Figura 27 – Modelagem da curva total de ESC 300 bar/ 50 °C.
- Figura 28 – Gráfico de concentração *versus* AA para ESC 300 bar/40 °C.
- Figura 29 – Foto DPPH para condição de 300 bar/40 °C.
- Figura 30 – Curva padrão para o ácido tânico comercial (Folin-Denis).
- Figura 31 – Perfil CG-MS para extrato de alecrim obtido por ESC 300 bar/50 °C.
- Figura IIIA.1 – Gráfico SAS da dispersão para ESC 100 bar/30 °C.
- Figura IIIA.2 – Gráfico SAS de ajuste para ESC 100 bar/30 °C.
- Figura IIIB.1 – Gráfico SAS da dispersão para ESC 100 bar/40 °C.
- Figura IIIB.2 – Gráfico SAS de ajuste para ESC 100 bar/40 °C.
- Figura IIIC.1 – Gráfico SAS da dispersão para ESC 100 bar/50 °C.
- Figura IIIC.2 – Gráfico SAS de ajuste para ESC 100 bar/50 °C.
- Figura IIID.1 – Gráfico SAS da dispersão para ESC 200 bar/30 °C.
- Figura IIID.2 – Gráfico SAS de ajuste para ESC 200 bar/30 °C.
- Figura IIIE.1 – Gráfico SAS da dispersão para ESC 200 bar/40 °C.
- Figura IIIE.2 – Gráfico SAS de ajuste para ESC 200 bar/40 °C.
- Figura IIIF.1 – Gráfico SAS da dispersão para ESC 200 bar/50 °C.
- Figura IIIF.2 – Gráfico SAS de ajuste para ESC 200 bar/50 °C.
- Figura IVA.1 – Gráfico SAS da dispersão para ESC 200 bar/30 °C.
- Figura IVA.2 – Gráfico SAS de ajuste para ESC 200 bar/30 °C.

- Figura IVB.1 – Gráfico SAS da dispersão para ESC 200 bar/40 °C.
- Figura IVB.2 – Gráfico SAS de ajuste para ESC 200 bar/40 °C.
- Figura IVC.1 – Gráfico SAS da dispersão para ESC 200 bar/50 °C.
- Figura IVC.2 – Gráfico SAS de ajuste para ESC 200 bar/50 °C.
- Figura IVD.1 – Gráfico SAS da dispersão para ESC 300 bar/30 °C.
- Figura IVD.2 – Gráfico SAS de ajuste para ESC 300 bar/30 °C.
- Figura IVE.1 – Gráfico SAS da dispersão para ESC 300 bar/40 °C.
- Figura IVE.2 – Gráfico SAS de ajuste para ESC 300 bar/40 °C.
- Figura IVF.1 – Gráfico SAS da dispersão para ESC 300 bar/50 °C.
- Figura IVF.2 – Gráfico SAS de ajuste para ESC 300 bar/50 °C.
- Figura VA.1 – Gráfico de concentração *versus* AA para ESC 100 bar/30 °C.
- Figura VA.2 – Gráfico de concentração *versus* AA para ESC 100 bar/40 °C.
- Figura VA.3 – Gráfico de concentração *versus* AA para ESC 100 bar/50 °C.
- Figura VA.4 – Gráfico de concentração *versus* AA para ESC 200 bar/30 °C.
- Figura VA.5 – Gráfico de concentração *versus* AA para ESC 200 bar/40 °C.
- Figura VA.6 – Gráfico de concentração *versus* AA para ESC 200 bar/50 °C.
- Figura VA.7 – Gráfico de concentração *versus* AA para ESC 300 bar/30 °C.
- Figura VA.8 – Gráfico de concentração *versus* AA para ESC 300 bar/50 °C.
- Figura VA.9 – Gráfico de concentração *versus* AA para a extração Soxhlet Hexano.
- Figura VA.10 – Gráfico de concentração *versus* AA para a extração Soxhlet Etanol.
- Figura VB.1 – Gráfico de concentração *versus* AA para tempo de 0-10 min de ESC.
- Figura VB.2 – Gráfico de concentração *versus* AA para tempo de 10-20 min de ESC.
- Figura VB.3 – Gráfico de concentração *versus* AA para tempo de 20-30 min de ESC.
- Figura VB.4 – Gráfico de concentração *versus* AA para tempo de 30-40 min de ESC.
- Figura VB.5 – Gráfico de concentração *versus* AA para tempo de 40-50 min de ESC.
- Figura VB.6 – Gráfico de concentração *versus* AA para tempo de 50-60 min de ESC.

- Figura VB.7 – Gráfico de concentração *versus* AA para tempo de 60-80 min de ESC.
- Figura VB.8 – Gráfico de concentração *versus* AA para tempo de 80-100 min de ESC.
- Figura VB.9 – Gráfico de concentração *versus* AA para tempo de 100-120 min de ESC.
- Figura VB.10 – Gráfico de concentração *versus* AA para tempo de 120-150 min de ESC.
- Figura VI.1 – Perfil CG-MS para extrato de alecrim obtido por ESC 100 bar/30 °C.
- Figura VI.2 – Perfil CG-MS para extrato de alecrim obtido por ESC 100 bar/40 °C.
- Figura VI.3 – Perfil CG-MS para extrato de alecrim obtido por ESC 100 bar/50 °C.
- Figura VI.4 – Perfil CG-MS para extrato de alecrim obtido por ESC 200 bar/30 °C.
- Figura VI.5 – Perfil CG-MS para extrato de alecrim obtido por ESC 200 bar/40 °C.
- Figura VI.6 – Perfil CG-MS para extrato de alecrim obtido por ESC 200 bar/50 °C.
- Figura VI.7 – Perfil CG-MS para extrato de alecrim obtido por ESC 300 bar/30 °C.
- Figura VI.8 – Perfil CG-MS para extrato de alecrim obtido por ESC 300 bar/40 °C.
- Figura VI.9 – Perfil CG-MS para extrato de alecrim obtido por extração Soxhlet n-Hexano.
- Figura VI.10 – Perfil CG-MS para extrato de alecrim obtido por extração Soxhlet Etanol.

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 – Ordem de magnitude de dados físicos para agentes de extração em várias fases
- Tabela 2 – Concentração de ácido tânico (mg) conforme alíquota da solução B.
- Tabela 3 – Dados característicos da matéria-prima e leito de partículas.
- Tabela 4 – Dados experimentais de solubilidade preliminar para as condições de operação.
- Tabela 5 – Dados experimentais para as condições de operação realizadas na unidade ESC-A.
- Tabela 6 – Dados experimentais para as condições de operação realizadas na unidade ESC-B.
- Tabela 7 – Dados utilizados no modelo de Sovová, constantes para os experimentos.
- Tabela 8 – Parâmetros do modelo de Sovová para as diferentes condições de extração modeladas.
- Tabela 9 – Parâmetros ajustáveis do modelo de Crank (D) e Martínez et al. (b e t_m) para as condições de extração modeladas.
- Tabela 10 – Dados estimados de vazão para o modelo de Sovová *.
- Tabela 11 – Erro médio quadrático obtido nos modelos empregados
- Tabela 12 – Rendimentos obtidos nas extrações supercrítica e convencional.
- Tabela 13 – Dados de Atividade Antioxidante (%) obtidos nas extrações supercrítica e convencional.
- Tabela 14 – Dados de Atividade Antioxidante (%) obtidos na ESC 300 bar/40 °C.
- Tabela 15 – Fenólicos totais (Folin-Denis) obtidos nas extrações supercrítica e convencional.
- Tabela 16 – Composição química (proporção relativa a área) percentual dos compostos identificados nos extratos de alecrim.
- Tabela 17 – Quantidade de compostos encontrados, identificados e porcentagem do extrato identificada.
- Tabela II-A.1 – Dados experimentais ESC 100 bar / 30 °C – 1,205 gCO₂/min.

- Tabela II-A.2 – Dados experimentais ESC 100 bar / 40 °C – 1,425 gCO₂/min.
- Tabela II-A.3 – Dados experimentais ESC 100 bar / 50 °C – 1,478 gCO₂/min.
- Tabela II-A.4 – Dados experimentais ESC 200 bar / 30 °C – 1,135 gCO₂/min.
- Tabela II-A.5 – Dados experimentais ESC 200 bar / 40 °C – 1,084 gCO₂/min.
- Tabela II-A.6 – Dados experimentais ESC 200 bar / 40 °C – 0,910 gCO₂/min.
- Tabela II-B.1 – Dados experimentais ESC 100 bar / 30 °C - 5 gCO₂/min.
- Tabela II-B.2 – Dados experimentais ESC 100 bar / 40 °C - 5 gCO₂/min.
- Tabela II-B.3 – Dados experimentais ESC 100 bar / 50 °C - 5 gCO₂/min.
- Tabela II-B.4 – Dados experimentais ESC 200 bar / 30 °C - 5 gCO₂/min
- Tabela II-B.5 – Dados experimentais ESC 200 bar / 40 °C - 5 gCO₂/min
- Tabela II-B.6 – Dados experimentais ESC 200 bar / 40 °C – 8,33 gCO₂/min
- Tabela II-B.7 – Dados experimentais ESC 200 bar / 40 °C – 11,67 gCO₂/min
- Tabela II-B.8 – Dados experimentais ESC 200 bar / 50 °C - 5 gCO₂/min
- Tabela II-B.9 – Dados experimentais ESC 300 bar / 30 °C - 5 gCO₂/min
- Tabela II-B.10 – Dados experimentais ESC 300 bar / 40 °C - 5 gCO₂/min
- Tabela II-B.11 – Dados experimentais ESC 300 bar / 50 °C - 5 gCO₂/min
- Tabela VII.1 – Dados dos compostos químicos identificados nos extratos de alecrim.

NOMENCLATURA

ε	– porosidade do leito de partículas
ρ_f, ρ_{CO_2}	– densidade da fase fluida ($\text{kg}_{\text{solvente}}/\text{m}^3$)
ρ_s	– densidade da fase sólida ($\text{kg}_{\text{solvente}}/\text{m}^3$)
AA	– atividade antioxidante (%)
Abs_{amostra}	– absorvância lida para a amostra
Abs_{branco}	– absorvância lida para o branco
Abs_{DPPH}	– absorvância lida para a solução DPPH
Ac	– área de um círculo (mm^2)
A_i	– parâmetro ajustável do modelo de Martínez et al.
Ar	– área de um retângulo (mm^2)
b_i	– parâmetro ajustável do modelo de Martínez et al.
CER	– período de taxa constante de extração
CG-MS	– cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas
CO ₂	– dióxido de carbono
D	– coeficiente de difusão do soluto na esfera (m^2s^{-1})
da	– densidade aparente da partícula (g/m^3)
D_{aX}	– coeficiente de difusão na fase sólida (m^2s^{-1})
D_{aY}	– coeficiente de dispersão axial (m^2s^{-1})
dp	– diâmetro médio das partículas (mm)
DPPH	– 1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl
dr	– densidade real da partícula (g/m^3)
EDC	– etapa de difusão controlada
ESC	– extração supercrítica
ESL	– extração sólido-líquido
FER	– período de taxa decrescente de extração
FSC	– fluido supercrítico
G	– granulometria das partículas (mesh)
H	– comprimento total do leito de extração (m)
h	– coordenada axial no leito de extração (m)

H_b	– altura do leito (extrator) (m)
I.R.	– índice de retenção
$J(X, Y)$	– fluxo de transferência de massa ($\text{kg}/\text{m}^3 \cdot \text{s}$)
K	– óleo de difícil acesso no interior da partícula (kg)
K_{XA}	– coeficiente de transferência de massa na fase sólida (min^{-1})
K_{YA}	– coeficiente de transferência de massa na fase fluida (min^{-1})
M_{CER}	– taxa de extração de óleo na etapa CER (g/min)
m_{CO_2}	– massa acumulada de CO_2 (g)
MEV	– microscopia eletrônica de varredura
m_{extr}	– massa acumulada de extrato (g)
m_{ti}	– parâmetro ajustável do modelo de Martínez et al.
N	– massa de matéria-prima livre de soluto (sólido inerte) (kg)
N	– perda de peso (g)
n	– inteiro
O	– teor inicial de óleo no sólido (kg)
P	– peso inicial de amostra (g)
P	– óleo de fácil acesso que se encontra na superfície do sólido (kg)
P	– pressão de operação do sistema (bar)
P.M.	– peso molecular (g/gmol)
Q_{CO_2}	– vazão média do solvente (gCO_2/min)
r	– raio da esfera (m)
r	– raio interno do extrator (m)
t	– tempo de extração (s)
T	– temperatura de operação do sistema ($^{\circ}\text{C}$)
TAE	– equivalente em ácido tânico
t_{CER}	– tempo de duração da etapa CER (min)
TE	– tempo estático (horas)
t_{FER}	– período de taxa decrescente de extração (s)
t_{FINAL}	– tempo total de extração (min)
t_{mi}	– parâmetro ajustável do modelo de Martínez et al.
u	– velocidade superficial do solvente (m/s)
VM	– válvula micrométrica

X	– razão mássica de soluto na fase sólida (g/g)
X, x	– concentração do soluto remanescente na esfera (kg/m ³)
X_0	– teor (razão mássica) inicial de óleo presente na matriz sólida (g _{óleo} /g _{sólido})
X_k	– razão mássica de soluto no interior de células intactas (óleo de difícil acesso) (g _{óleo} /g _{sólido})
X_p	– corresponde ao óleo de fácil acesso (g _{óleo} /g _{sólido})
W	– parâmetro do período de extração lenta
Y, y	– razão mássica de soluto na fase fluida
Y, Y^*	– solubilidade do soluto no solvente (g _{óleo} /g _{CO2})
Y_{CER}	– concentração de soluto na fase solvente para a etapa CER (g _{óleo} /g _{sólido})
Z	– parâmetro do período de extração rápida
Z_W	– coordenada adimensional da posição entre extração rápida e lenta

RESUMO

A oxidação de lipídios insaturados iniciada por radicais livres é uma das principais causas da deterioração da qualidade de alimentos, e, para retardá-la ou preveni-la, antioxidantes, que podem ser de origem sintética ou natural, são adicionados aos alimentos. Devido aos seus possíveis efeitos indesejáveis na saúde humana, o uso de antioxidantes sintéticos é restrito em vários países. Portanto, há um grande interesse na obtenção e utilização de antioxidantes naturais. O maior nível de atenção entre ervas e especiarias como fonte de antioxidantes tem sido focado no alecrim. A extração com fluido supercrítico é uma tecnologia de interesse para a indústria de alimentos, cosméticos e farmacêutica, como uma alternativa aos processos convencionais, para obtenção de óleos essenciais e oleoresinas, pois produz extratos livres de resíduos, e, pode ser conduzida a baixas temperaturas, preservando a qualidade de produtos termosensíveis. O presente trabalho teve como objetivo principal a obtenção e caracterização do extrato de alecrim visando a obtenção de compostos antioxidantes. No processo de obtenção do extrato avaliou-se a solubilidade preliminar do soluto no dióxido de carbono supercrítico, o ponto de inversão das isotermas, o efeito de algumas variáveis de processo (temperatura, tempo estático, pressão, vazão de solvente e granulometria) sobre o rendimento da extração supercrítica, e a aplicação de modelos para a predição das curvas de extração. Comparou-se os rendimentos, a atividade antioxidante, e a composição química dos extratos obtidos por diferentes métodos de extração. O modelo de Martínez et al. (2003) foi o que representou melhor os dados experimentais obtidos. O maior rendimento de extração foi obtido por extração Soxhlet com etanol. O principal composto obtido, através de análise CG-MS, em todos os extratos analisados, foi o isocarnosol, importante fenólico diterpênico e principal responsável pela atividade antioxidante do alecrim, justificando assim, a alta atividade antioxidante obtida nos extratos.

ABSTRACT

The unsaturated lipids oxidation started from free radicals is one of the main causes of the deterioration of food quality, and, in order to delay or even prevent it, antioxidants, which can be synthetic or natural, are added to foods. Due to possible undesirable side-effects to human health, the use of synthetic antioxidants is restricted in some countries. Therefore, there is a great interest in the obtaining and use of natural antioxidants. The highest level of attention between herbs and spices as natural antioxidant has been centered in the rosemary. The extraction with supercritical fluid is a technology of interest for the food, cosmetics and pharmaceutical industries, as an alternative to the obtaining of essential and oleoresins by conventional processes, therefore it produces extracts free of residues, and can be carried out at low temperatures, preserving the quality of term-sensible products. The main objective of the present work was related to the characterization of the rosemary extract in order to obtain antioxidant compounds. The preliminary solubility of solute in the supercritical carbon dioxide, the point of inversion of the isotherms, the effect of some variable of process (temperature, stationary time, pressure, solvent's flow, size of particles) on the yield of the supercritical extraction, and the application of models for the prediction of the extraction curves were also evaluated. The comparisons of extraction yields, the antioxidant activity and the chemical composition of extracts obtained through supercritical and conventional extraction are also presented in the work. The model of Martínez et al. (2003) it was adjusted in the representation of the experimental data. The biggest yield of extraction was obtained by Soxhlet extraction with ethanol. The main compound obtained, through CG-MS analysis, in all extracts, was isocarnosol, important phenolic diterpene responsible for the antioxidant activity of the rosemary, justifying the high antioxidant activity obtained in the extracts.

1. INTRODUÇÃO

Uma das principais causas da deterioração da qualidade de alimentos é a oxidação de lipídios insaturados iniciada por radicais livres. Quando os lipídios são expostos à fatores ambientais como o ar, luz e temperatura, reações de oxidação começam a produzir indesejáveis flavors, odores rançosos, descoloração e outras formas de deterioração. Para retardar ou prevenir a deterioração oxidativa, antioxidantes são adicionados aos alimentos. Os antioxidantes adicionados então mantêm a qualidade e aumentam a vida de prateleira de muitos produtos alimentícios (HRAS et al., 2000).

Os antioxidantes podem ser de origem sintética ou natural. O uso de antioxidantes sintéticos é restrito em vários países, devido aos seus possíveis efeitos indesejáveis na saúde humana. Como resultado disso, há um grande interesse na obtenção e utilização de antioxidantes de fontes naturais porque eles são presumidamente seguros, desde que ocorram em plantas (HRAS et al., 2000).

O maior nível de atenção entre ervas e especiarias tem sido focado no alecrim. Muitos estudos têm sido realizados para examinar a atividade antioxidante do alecrim cru e diferentes extratos de alecrim. Os compostos responsáveis pela atividade antioxidante do alecrim são principalmente fenólicos diterpênicos como ácido carnósico, carnosol, rosmanol, epirosmanol, isorosmanol, metil carnosato e outros ácidos fenólicos como o ácido rosmarínico (HRAS et al., 2000). A atividade antioxidante do alecrim (*Rosmarinus officinalis*) é conhecida há aproximadamente 30 anos (NASSU et al., 2003).

A extração com fluido supercrítico (ESC) é uma tecnologia de interesse para a indústria de alimentos, cosméticos e farmacêutica, como uma alternativa aos processos convencionais, como extração com solvente e destilação à vapor, para obtenção de óleos essenciais e oleoresinas. Os extratos produzidos por ESC são livres de resíduos; além disso, a ESC pode ser conduzida a baixas temperaturas, necessário para preservar a qualidade de produtos termosensíveis (ZANCAN et al., 2003).

O presente trabalho tem como objetivo principal uma análise comparativa de diferentes métodos de extração do óleo de alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) visando a obtenção de compostos antioxidantes.

O primeiro capítulo deste trabalho apresenta uma breve introdução. O segundo capítulo apresenta os objetivos principal e específicos do trabalho.

A revisão bibliográfica está apresentada no capítulo 3, abrangendo assuntos sobre oxidação lipídica, antioxidantes, extração supercrítica e alecrim.

Os materiais e métodos utilizados no trabalho são descritos no capítulo 4. No capítulo 5 estão apresentados os resultados e discussões deste trabalho, e, aos capítulos 6, 7, e 8, as conclusões obtidas, sugestões para trabalhos futuros, e referências bibliográficas utilizadas, respectivamente.

2. OBJETIVO

O objetivo principal deste trabalho consiste na obtenção e caracterização do extrato de alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) visando a obtenção de compostos antioxidantes.

2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Os objetivos específicos, por sua vez, consistem em:

- caracterização da matéria-prima e do leito de partículas utilizada nos experimentos;
- determinação, na extração supercrítica (ESC), do ponto de inversão das isotermas de rendimento;
- determinação da solubilidade preliminar (pelo método dinâmico) do óleo de alecrim no dióxido de carbono supercrítico;
- verificação da influência dos parâmetros de processo (tempo estático, temperatura, pressão, granulometria e vazão de solvente) no rendimento de extração da ESC;
- modelagem matemática das curvas de ESC;
- determinação e comparação dos rendimentos de extração dos extratos obtidos por ESC e extração convencional;
- determinação e comparação da atividade antioxidante dos extratos obtidos por ESC e extração convencional;
- avaliação da composição química dos extratos obtidos quanto à presença de compostos antioxidantes.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

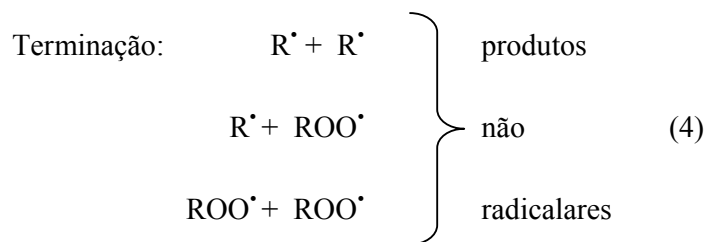
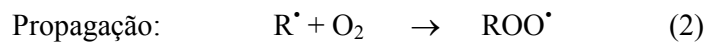
3.1 OXIDAÇÃO LIPÍDICA

Os lipídios desempenham um papel importante na qualidade de certos produtos alimentares, particularmente em relação às propriedades organolépticas que os tornam desejáveis (sabor, odor, cor, textura). Além destas, conferem valor nutritivo aos alimentos, constituindo uma fonte de energia metabólica, de ácidos graxos essenciais e de vitaminas lipossolúveis. Entretanto, são suscetíveis ao ataque por radicais livres e a sua oxidação é prejudicial devido à sua continuidade, como uma reação em cadeia. A oxidação lipídica, sendo um fenômeno espontâneo e inevitável, com uma implicação direta no valor comercial seja dos compostos graxos, seja de todos os produtos que a partir deles são formulados, conduz à mudanças que ocorrem durante o processamento, distribuição e preparação final dos alimentos. A oxidação de lipídios inicia também outras mudanças nos alimentos que afetam sua qualidade nutricional, cor, flavor e textura (GÓMEZ, 2003).

A oxidação lipídica ocorre quando o oxigênio reage com lipídios em uma série de reações em cadeia dos radicais livres que é freqüentemente iniciada pela exposição dos lipídios à luz, calor, radiação ionizante, íons metálicos ou catálise metalo-protéica e que conduzem à complexas alterações químicas. A oxidação de lipídios em alimentos causa perdas na qualidade e, em seres humanos, podem causar diversas doenças como câncer, aterosclerose, e processo de envelhecimento (ATOUI et al., 2005; FUKUMOTO et al., 2000; GÓMEZ, 2003; IBAÑEZ et al., 2000).

O mecanismo da oxidação envolve alguns processos fundamentais tais como as reações da iniciação, onde os radicais livres são gerados pelo calor, pela luz ou por ações combinadas; reações de propagação (oxidação), conduzindo aos radicais peroxi; reações de quebra de cadeia, rendendo produtos da oxidação por reações monomoleculares, pseudo-moleculares ou bimoleculares; e, reações de terminação, onde os radicais livres são eliminados do sistema reagindo entre si, quando uma redução

na quantidade de oxigênio disponível é estabelecida. Um esquema destas reações é mostrado na sequência abaixo (GÓMEZ, 2003; CORTESI et al., 1999).



Os produtos da autoxidação primária são hidroperóxidos, que não apresentam gosto e flavor, mas seus produtos de degradação (aldeídos, cetonas, etc) são potentes modificadores do gosto e do flavor (HRAS et al., 2000). Assim, a proteção de alimentos contra essa deterioração é de grande importância econômica e nutricional para a indústria de alimentos. Por isso, antioxidantes são frequentemente utilizados em produtos alimentícios para prevenir ou retardar a oxidação de óleos e gorduras.

Nos últimos anos tem ocorrido um crescente interesse no uso de antioxidantes nas indústrias de alimentos, não apenas pela sua utilidade como método de preservação, mas também devido aos efeitos benéficos para a saúde humana (CORTESI et al., 1999). O uso de antioxidantes sintéticos na indústria de alimentos é severamente restrito quanto sua aplicação e nível (KOSAR et al., 2003; SOARES, 2002). Entre os antioxidantes naturais, o alecrim tem sido extensamente aceito como umas das espécies, junto com a sálvia, com mais alta atividade antioxidante (SEÑORÁNS et al., 2000).

3.1.1 RADICAIS LIVRES

Os radicais livres são moléculas reativas e altamente instáveis, pois possuem elétrons desemparelhados. São metabólitos comuns em sistemas biológicos e alimentícios. Exemplos de radicais livres derivados do oxigênio incluem os radicais superóxido (O_2^-), hidroxil (OH^\cdot), hidroperoxil (HOO^\cdot), peroxil (ROO^\cdot) e alkoxil (RO^\cdot). Outras espécies reativas comuns do oxigênio (ROS) produzidas no corpo humano incluem o óxido nítrico (NO^\cdot) e o ânion peroxinitrito ($ONOO^-$). Radicais livres reagem rapidamente com outros compostos, tentando capturar os elétrons necessários para ganhar estabilidade. Geralmente os radicais livres atacam as moléculas estáveis mais próximas, sequestrando seus elétrons. Quando a molécula que está sendo atacada perde seu elétron, ela própria torna-se um radical livre, iniciando uma reação em cadeia (GÓMEZ, 2003; KAUR et al., 2001). Em sistemas alimentícios, os radicais livres podem atacar ligações insaturadas de moléculas lipídicas, proteínas, carboidratos, e nucleotídeos, causando o desenvolvimento de rancidez, off-flavors, e perda de valores nutritivos e vida de prateleira dos produtos (LOULI, 2004).

Felizmente, a formação de radicais livres, também conhecidos por ROS, é controlada naturalmente por vários compostos benéficos como os antioxidantes. Antioxidantes são capazes de estabilizar ou desativar radicais livres antes do ataque às células e aos alvos biológicos. Antioxidantes neutralizam radicais livres doando um de seus próprios elétrons, finalizando a reação sequestrante de elétrons. Os antioxidantes por si próprios não transformam-se em radicais livres porque são estáveis em qualquer forma. Assim eles são bem definidos como substâncias que são capazes de quelar ou estabilizar radicais livres (KAUR et al., 2001; ATOUI et al., 2005).

A necessidade de antioxidantes não se limita apenas a produtos ricos em gordura, mas também a produtos com conteúdo de gordura baixo, entre 2% e 5%. O antioxidante ideal deverá ser seguro sob o ponto de vista alimentar, não alterar o sabor, o aroma ou a cor do alimento, ser eficiente a baixas concentrações, e à temperaturas de fritura e cozimento, ser facilmente incorporável, de fácil obtenção e barato (BERNARDO-GIL et al., 2002).

3.2 ANTIOXIDANTES

Antioxidantes são de interesse para a indústria de alimentos porque eles previnem a rancidez dos alimentos (LACROIX et al., 1997).

Uma substância antioxidante pode ser definida como: 1) composto ou substância química que inibe a oxidação ou, 2) qualquer substância que, quando presente em baixa concentração comparada a do substrato oxidável, pode retardar ou inibir significativamente a oxidação do mesmo (ATOUI et al., 2005), pela inibição da iniciação ou propagação das reações de oxidação em cadeia (LOULI, 2004; SOARES, 2002; ZHENG et al., 2001; VELIOGLU et al., 1998). Segundo a *US Food and Drug Administration* (FDA), são substâncias usadas para preservar alimentos pelo retardamento da deterioração, rancidez ou descoloração causados pela oxidação (KAUR et al., 2001). Quando adicionados à alimentos, os antioxidantes minimizam a rancidez, retardam a formação de produtos de oxidação tóxicos, mantêm a qualidade nutricional, e aumentam a vida de prateleira (FUKUMOTO et al., 2000; HRAS et al., 2000). Do ponto de vista biológico, os antioxidantes são definidos como compostos que protegem sistemas biológicos contra os efeitos potencialmente danosos de processos ou reações que promovem a oxidação de macromoléculas ou estruturas celulares (GÓMEZ, 2003).

Os antioxidantes também desempenham um papel importante no metabolismo humano. Normalmente o corpo humano mantém um equilíbrio entre a quantidade de antioxidantes e iniciadores da oxidação (i.e. radicais livres) por produção simultânea de ambos, como resultado de processos metabólicos. Quando um desequilíbrio desses dois tipos de compostos se faz presente, um fenômeno conhecido como “estresse oxidativo” é induzido. Esse fenômeno, acredita-se, seja uma importante parte do processo de envelhecimento natural, e desempenha um papel significativo em alguns problemas de saúde como aterosclerose e reumatismo (YEPEZ et al., 2002).

Há duas categorias básicas de antioxidantes: sintética e natural. Atualmente, existe uma grande quantidade de compostos, tanto naturais quanto sintéticos, com propriedades antioxidantes, embora tenham que cumprir certos requisitos para seu uso em alimentos, sendo um deles a segurança para a saúde (GÓMEZ, 2003). Em geral,

antioxidantes sintéticos são compostos com estruturas fenólicas que apresentam vários graus de substituição alquil, ao passo que antioxidantes naturais podem ser: compostos fenólicos (tocoferóis, flavonóides, e ácidos fenólicos), compostos nitrogenados (alcalóides, derivados da clorofila, aminoácidos e amins), ou carotenóides, bem como ácido ascórbico. Antioxidantes sintéticos como o butil hidroxianisol (BHA) e butil hidroxitolueno (BHT) têm sido usados como antioxidantes desde o século passado (KAUR et al., 2001). Embora os antioxidantes sintéticos sejam efetivos, atualmente o uso de antioxidantes sintéticos é restrito em muitos países, devido aos seus possíveis efeitos indesejáveis à saúde humana (razões toxicológicas), tais como carcinogenicidade (ZHENG et al., 2001). Como resultado, há um grande aumento no interesse de se obter e utilizar antioxidantes de fontes naturais (FUKUMOTO et al., 2000; LEAL et al., 2003; VELIOGLU et al., 1998) porque eles são presumidamente seguros desde que originados de plantas (HRAS et al., 2000; LOULI, 2004).

Muitas espécies incluindo alecrim, cravo, pimenta preta, gengibre, alho e cebola exibem atividade antioxidante em uma variedade de sistemas (ARUOMA et al., 1996).

A maioria dos experimentos para determinar a atividade antioxidante consistem da aceleração da oxidação em sistemas lipídicos, geralmente pelo calor, e são então monitorados pelo consumo de oxigênio, redução do substrato, ou produtos formados. Devido ao fato de muitos fatores afetarem a oxidação, incluindo a temperatura, pressão do oxigênio, catalisadores de metal, composição da gordura, e formas de gordura, os resultados podem depender das condições de oxidação (FUKUMOTO et al., 2000).

Dois radicais livres, o ácido 3-etil-benzotiazolino-6-sulfônico ($ABTS^{*+}$) e o 2,2-difenil-1-picrilhidrazil ($DPPH^*$), têm sido usados para avaliar a atividade antioxidante de extratos de plantas. A redução do $DPPH^*$ por um antioxidante ($DPPH^* + A \rightarrow DPPH-H + A^*$) ou por uma espécie radical ($DPPH^* + R^* \rightarrow DPPH-R$) resulta em uma perda de absorvância a 515 nm (FUKUMOTO et al., 2000). BRAND-WILLIAMS et al. (1995) desenvolveram um método espectrométrico usando o $DPPH^*$, que dá resultados similares aos do método de oxidação, mas as comparações não foram

quantitativas porque a reação com DPPH^{*} depende da conformação estrutural dos compostos (FUKUMOTO et al., 2000).

Compostos com atividade antioxidante também podem exibir comportamento pró-oxidante sob determinadas condições. Atividade pró-oxidante pode acelerar os danos às moléculas, tais como às de DNA, carboidratos ou proteínas. Sendo assim, os antioxidantes potenciais também devem ser testados em sua atividade pró-oxidante (FUKUMOTO et al., 2000).

Os antioxidantes são compostos que contém diferentes grupos químicos e têm diferentes estruturas e propriedades. Para extrair e manipular essas substâncias complexas, um solvente ‘elástico’ (capaz de extrair diferentes grupos de substâncias) é necessário. O CO₂ supercrítico parece ser o solvente ideal neste campo devido às condições de temperatura suaves empregadas no estágio da extração. Além disso, o processamento com o CO₂ cria um meio sem oxigênio, de modo que as reações indesejáveis da oxidação podem ser evitadas (CORTESI et al., 1999).

3.2.1 MECANISMOS ANTIOXIDANTES

Os mecanismos/sistemas pelos quais estes antioxidantes estão envolvidos no controle da autoxidação são diferentes, podendo ser descritos por dois sistemas, o primário e o secundário (GÓMEZ, 2003; HRAS et al., 2000).

O sistema primário constitui-se em uma primeira linha de defesa formada por substâncias que impedem a geração de espécies reativas ou através da retirada das mesmas de forma a impedir sua interação com alvos celulares, ou seja, bloqueiam a etapa de iniciação da cadeia radicalar. Nesse grupo encontram-se: a) enzimas antioxidantes. b) quelantes e proteínas como a transferrina e a ceruloplasmina que transportam, respectivamente, ferro e cobre, impedindo que esses metais sejam liberados e catalisem a formação de espécies oxidantes e c) substâncias não-enzimáticas como o ascorbato, albumina e carotenóides que seqüestram radicais superóxido e hidroxila, ou suprimem oxigênio singlet (DORMAN et al., 2003; GÓMEZ, 2003; KAUR et al., 2001).

O sistema de defesa secundário é formado por compostos que atuam bloqueando a etapa de propagação da cadeia radicalar (quebrando a cadeia), seqüestrando radicais intermediários (ex. peroxil ou alcoxil). Esses antioxidantes geralmente são compostos fenólicos ou aminas aromáticas. Entre eles estão o α -tocoferol, flavonóides e vários antioxidantes sintéticos (DORMAN et al., 2003; GÓMEZ, 2003; KAUR et al., 2001).

Os extratos fenólicos da planta são antioxidantes multifuncionais que podem agir em diversos níveis na seqüência oxidativa. O oxigênio singlet que extingue e então diminui a concentração local de oxigênio tem sido sugerido ocorrer em compostos fenólicos. A ação queladora do metal de transição por fenólicos tem sido descrita. A potencialidade das diferentes substâncias fenólicas para carregar vários tipos de radicais iniciadores da oxidação tem sido reportada na fase polar e na fase lipídica. Os compostos fenólicos também são sugeridos como sendo capazes de regenerar o α -tocoferol. Eles também são conhecidos por inibir vários tipos de enzimas de oxidação (RICE-EVANS et al., 1997). Estes mecanismos potenciais múltiplos da ação antioxidante fazem dos diversos grupos de compostos fenólicos um alvo interessante na busca de fitoquímicos benéficos à saúde, e oferecem também a possibilidade de usar os compostos fenólicos ou os extratos ricos neles em alimentos ricos em lipídios a fim estender sua vida útil (DORMAN et al., 2003).

Numerosas técnicas são disponíveis para avaliar a atividade antioxidante de compostos e misturas complexas tais como extratos de plantas. Porém, um procedimento isolado pode não ser eficiente para identificar todos os mecanismos possíveis que caracterizam um antioxidante (GÓMEZ, 2003; KAUR et al., 2001).

3.2.2 ANTIOXIDANTES SINTÉTICOS

Os principais antioxidantes sintéticos utilizados habitualmente nos alimentos são os fenóis com várias substituições no anel (Figura 1). A eficácia de um antioxidante está relacionada com muitos fatores, como a energia de ativação, as constantes de velocidade, o potencial de óxido-redução, a facilidade com a qual pode-se destruir ou

perder o antioxidante e a sua solubilidade. Os antioxidantes fenólicos são excelentes doadores de elétrons ou de hidrogênio e além disso, seus radicais intermediários são relativamente estáveis devido à falta de posições moleculares apropriadas para serem atacadas pelo oxigênio molecular (GÓMEZ, 2003).

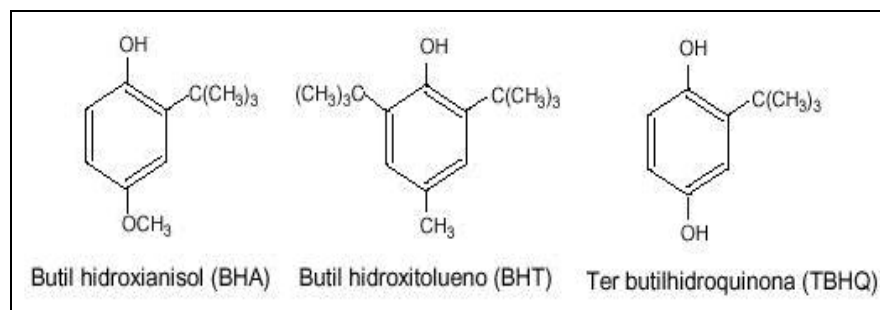


Figura 1 – Estrutura química dos principais antioxidantes sintéticos

Este grupo de compostos de derivados fenólicos incluem o BHA (butil hidroxianisol), BHT (butil hidroxitolueno), TBHQ (ter-butilhidroquinona) entre outros, e têm sido freqüentemente usados como antioxidantes em alimentos lipídicos. Uma desvantagem, consiste em que esses antioxidantes são produzidos por processos químicos sintéticos, sendo seu uso freqüentemente limitado por regulamentos e não sendo aceitos em algumas aplicações (MATTEA et al., 2004). Apesar da elevada capacidade antioxidante e antimicrobiana desses compostos, a sua utilização tem sido controversa, pela suspeita de uma possível toxicidade e/ou mutagenicidade desses antioxidantes, fator que tem sido objeto de estudo por muitos anos, e tem trazido um novo interesse aos antioxidantes naturais (BERNARDO-GIL et al., 2002; IBAÑEZ et al., 2000; RIBEIRO et al., 2001).

Há diversos relatórios recentes sobre o efeito do BHA na conversão de materiais ingeridos em substâncias tóxicas ou cancerígenas devido ao aumento da secreção de enzimas microsômicas do fígado e dos órgãos extra hepáticos, tais como os pulmões e a mucosa do trato gastrointestinal. Além disso, tem sido relatado que o BHT é cancerígeno em ratos. Em adição, o TBHQ não é aprovado para o uso em alimentos na Europa, Japão e Canadá (RIBEIRO et al., 2001).

Estudos revelam que a possibilidade dos antioxidantes BHA e BHT apresentarem certa toxicidade e eficiência inferior a alguns antioxidantes naturais, junto com uma maior consciência dos consumidores com relação a segurança dos aditivos em alimentos, cria a necessidade de identificar fontes naturais alternativas de antioxidantes para alimentos (ALBU et al., 2004; GÓMEZ, 2003; MATTEA et al., 2004; RIBEIRO et al., 2001).

3.2.3 ANTIOXIDANTES NATURAIS

Antioxidantes naturais extraídos de plantas, podem ser usados como alternativas aos antioxidantes sintéticos, devido a seu efeito equivalente ou maior na inibição da oxidação lipídica. Assim, antioxidantes naturais presentes em alimentos e outros materiais biológicos têm atraído considerável interesse nas últimas duas décadas devido à sua presumida segurança e potencial nutricional e efeitos terapêuticos. Alimentos ricos em antioxidantes têm sido apresentados como tendo papel essencial na prevenção de doenças cardiovasculares, câncer, doenças neurodegenerativas, onde as mais conhecidas são as doenças de Parkinson e Alzheimer e problemas causados pelo envelhecimento das células (BANDONIENE et al., 2002; DEMO et al., 1998; GÓMEZ, 2003; KAUR et al., 2001; TORRE et al., 2001).

Os compostos antioxidantes naturais têm sido isolados de diferentes partes de plantas tais como sementes, frutas, folhas e raízes. Esses compostos incluem flavonóides, ácidos fenólicos, terpenos, tocoferóis mixados, fosfolipídios, ácidos orgânicos polifuncionais e também extratos de plantas (GÓMEZ, 2003; KAUR et al., 2001; RIBEIRO et al., 2001). Os mais importantes comercialmente explorados são os tocoferóis, ácido ascórbico e recentemente alguns extratos de plantas como alecrim, sálvia, chá verde, etc (BANDONIENE et al., 2002; MATTEA et al., 2004). Estes extratos contém principalmente compostos fenólicos e são bem conhecidos por suas propriedades antioxidantes, anti-mutagênicas, anti-inflamatórias, anti-úlceras, anti-carcinogênicas e antimicrobianas, bem como pela redução do risco de doenças cardiovasculares (LOULI, 2004; HRAS et al., 2000).

Os antioxidantes naturais podem funcionar como agentes redutores, inibidores de radicais livres, quelantes ou seqüestrantes do oxigênio singlet e como desativadores de metais pró-oxidantes (GÓMEZ, 2003). A atividade antioxidante dos fenólicos é devida principalmente a suas propriedades redutoras. Além disso, eles apresentam um potencial como quelantes de metais (ATOUI et al., 2005). Extratos de alecrim e o tocoferol agem como seqüestrantes de radicais (HRAS et al., 2000).

No alecrim tem sido reportada a presença de ao menos seis compostos fenólicos diterpenos com atividade antioxidante: carnosol, ácido carnósico, rosmadiol, rosmanol, epirosmanol, e metil carnosato (INATANI et al., 1983). A atividade antioxidante de vários flavonóides encontrados em alecrim como genkvanina e cirsimaritina também tem sido reportada. Na fração de diterpenos fenólicos do *Rosmarinus officinalis*, o ácido carnósico é o componente majoritário e é também o que exibe a maior atividade antioxidante, embora outros compostos antioxidantes também tenham sido descritos (IBAÑEZ et al., 2000; MATTEA et al., 2004).

O método mais comumente utilizado para o isolamento de antioxidantes naturais de materiais vegetais é a extração com solvente, polares ou não-polares, como metanol, hexano ou pentano (BANDONIENE et al., 2002). A desvantagem desses métodos é o fato de que solventes convencionais têm baixa seletividade com relação aos compostos antioxidantes. Extração com fluido supercrítico tem sido usada para superar algumas dessas limitações, gerando produtos de qualidade superior (MATTEA et al., 2004).

Ervas e especiarias são importantes antioxidantes naturais (HRAS et al., 2000). Sua atividade antioxidante tem sido atribuída à presença de compostos fenólicos polares e óleos essenciais (DEMO et al., 1998).

3.2.4 ESPECIARIAS E ERVAS COMO FONTE DE ANTIOXIDANTES NATURAIS

Desde antigamente, especiarias e ervas têm sido usadas não somente para melhorar o sabor e odor em alimentos e estender o tempo de prateleira, mas também

pelas suas propriedades anti-sépticas e medicinais (ZHENG et al., 2001). O efeito de preservação das especiarias e ervas sugerem a presença de constituintes antioxidantes e antimicrobianos, sendo que, a atividade antioxidante das especiarias é devido, principalmente, aos compostos fenólicos (GÓMEZ, 2003).

Sendo assim, o uso de especiarias e ervas como antioxidantes no processamento de alimentos é uma alternativa promissora para o uso de antioxidantes sintéticos (MADSEN et al., 1998).

Um grande número de especiarias e ervas foram estudadas para determinar a atividade antioxidante e identificar os compostos responsáveis pela atividade mencionada, entre elas alecrim, sálvia, cravo, canela, orégano, gengibre e noz-moscada. As propriedades antioxidantes de ervas e especiarias são indicadas como efetivas para retardar o processo de peroxidação lipídica em óleos e alimentos gordurosos e têm despertado o interesse de muitos grupos de pesquisa. Entre as ervas e especiarias extensamente estudadas, as plantas obtidas da família *Labiatae* possuem uma atividade antioxidante significativa (GÓMEZ, 2003; YEPEZ et al., 2002).

O mais alto nível de atenção sobre ervas e especiarias tem sido focado no alecrim. Muitos estudos têm sido feitos para examinar as atividades antioxidantes do alecrim in natura e diferentes extratos de alecrim. Paralelamente à avaliação da atividade antioxidante dos extratos de alecrim, pesquisas tem focado também o isolamento e identificação de compostos antioxidantes. Extratos de alecrim comercialmente disponíveis exibem uma potente atividade antioxidante, e são frequentemente usados em indústrias de alimentos (GÓMEZ, 2003; HRAS et al., 2000). Em um estudo de 16 compostos isolados do alecrim, incluindo flavonas, diterpenos, esteróis, e triterpenos, BRACCO et al. (1981) concluiu que a atividade antioxidante dos extratos de alecrim é primeiramente relatada para dois fenólicos diterpênicos: ácido carnósico e carnosol. Essa conclusão foi confirmada por outros pesquisadores. Diversos outros antioxidantes diterpênicos como o rosmanol, epirosmanol e isorosmanol, rosmaridifenol, e rosmariquinona também tem sido reportadas por contribuírem com a atividade antioxidante dos extratos de alecrim (SEÑORÁNS et al., 2000). Em folhas de alecrim frescas, o ácido carnósico é o fenólico diterpênico majoritário. O nível de carnosol é de aproximadamente 10% do conteúdo de ácido carnósico, e os outros

diterpenos são encontrados em menores quantidades. Durante a extração de extratos de alecrim, o ácido carnósico é parcialmente convertido em carnosol ou em outros diterpenos (HOPIA et al., 1996).

Diversos métodos têm sido reportados para a extração de antioxidantes de plantas, incluindo extração sólido-líquido, extração alcalina aquosa e extração com fluido supercrítico (ESC). Os extratos obtidos por ESC frequentemente possuem uma atividade antioxidante superior àqueles obtidos por extração com solventes orgânicos, embora, como tem sido sugerido previamente por alguns autores, a performance antioxidativa depende dos parâmetros de extração bem como de outros fatores como a qualidade da planta original, a origem geográfica, a data de colheita, e sua estocagem e processamento prévio à extração (REVERCHON et al., 1992). Tem sido sugerido que a menor atividade dos extratos de alecrim obtidos com solventes orgânicos derivar-se das condições de extração aplicadas, onde o ácido carnósico é degradado em diversas extensões e outros fenólicos diterpênicos, com menor atividade são formados (SEÑORÁNS et al., 2000). De fato, alguns autores já tem indicado que o aquecimento converte o ácido carnósico em carnosol, rosmanol, e 7-oxi derivados, que podem explicar as diferenças encontradas entre os extratos (IBAÑEZ et al., 2000).

Muitos dos produtos obtidos de plantas possuem características que impossibilitam seu uso em diversas aplicações. Por exemplo, o eugenol, antioxidante obtido do cravo, tem um forte odor. Outros antioxidantes naturais não são facilmente separados dos óleos essenciais herbáceos, que é responsável pelo sabor e odor. Extração com fluido supercrítico também tem sido usada por muitos grupos de pesquisa para superar essas limitações. Em princípio, pela manipulação da pressão e da temperatura é possível controlar finamente a solubilidade dos compostos presentes nos materiais herbáceos e então faz-se possível a produção de produtos superiores (YEPEZ et al., 2002).

Muitas fontes de antioxidantes naturais têm sido descobertas nos últimos anos. Torna-se necessária a identificação dos seus compostos ativos, além de serem realizados estudos toxicológicos para sua utilização. Para o desenvolvimento de antioxidantes de origem natural com atividade comparável aos antioxidantes sintéticos, deve levar-se em

conta aspectos como a variedade do alimento, estabilidade, solubilidade, elaboração e custo (GÓMEZ, 2003).

3.2.5 POLIFENÓIS

Polifenóis são metabólitos secundários das plantas e conferem tanto às frutas como aos vegetais qualidades desejáveis e indesejáveis. Compostos fenólicos são comumente encontrados em plantas comestíveis e não comestíveis, e têm sido reportados por apresentarem múltiplos efeitos biológicos, incluindo atividade antioxidante. Historicamente eles são considerados como antinutricionais porque alguns (taninos) mostraram efeitos adversos no metabolismo humano, mas recentemente o conhecimento de propriedades antioxidantes desses fenólicos tem focado atenção aos benefícios que podem trazer à saúde (KAUR et al., 2001; SOARES, 2002). Extratos crus de frutas, ervas, vegetais, cereais e outras plantas ricos em fenólicos são de interesse cada vez maior das indústrias de alimentos porque eles retardam a degradação oxidativa dos lipídios e assim melhoram a qualidade e o valor nutricional dos alimentos (KÄHKÖNEN et al., 1999).

As propriedades antioxidantes dos fenólicos é principalmente devida às suas propriedades redutoras, que permitem que ajam como agentes redutores, doadores de hidrogênio e queladores do oxigênio singlet e de metais (RICE-EVANS et al., 1997; KÄHKÖNEN et al., 1999; ZHENG et al., 2001). Uma substância polifenólica pode ser definida como um antioxidante somente se suprir duas condições, primeiramente, quando presentes em baixas concentrações relativas ao substrato susceptível à oxidação e puder atrasar, retardar ou impedir a oxidação ou o radical livre mediador da oxidação do substrato, e em segundo, que os radicais resultantes formados após a limpeza sejam estáveis (KAUR et al., 2001; SOARES, 2002).

Mesmo que estudos intensivos dos constituintes fenólicos em numerosas fontes de plantas estejam sendo realizados, os dados de composição ainda são insuficientes. Os perfis fenólicos têm sido freqüentemente analisados após a hidrólise de ligações glicosídicas a fim de simplificar o processo de identificação. Nesse processo a

informação necessária da estrutura autêntica dos compostos é perdida. Sabe-se que o grau de glicosilação afeta significativamente as propriedades antioxidantes dos compostos. A grande variedade de sistemas de oxidação e caminhos para medir a atividade usada em avaliações antioxidantes torna difícil a comparação de resultados de diferentes estudos (KÄHKÖNEN et al., 1999).

3.3 EXTRAÇÃO SUPERCRTICA

A extração de produtos naturais com fluidos sub- e supercríticos constituíram o objeto de desenvolvimento do método da extração supercrítica, que começou a ser estudada durante a década de 50 por vários grupos de investigadores na URSS, USA e Alemanha. No final da década de sessenta, surgiram várias patentes de processos usando fluidos supercríticos (FSC) como solventes de extração de aromas e lipídios. A aplicação comercial da extração supercrítica foi iniciada em 1978, com a extração da cafeína do café e a extração de lúpulo (BERNARDO-GIL et al., 2002).

O Brasil tem uma grande biodiversidade contendo 55.000 das 350.000 espécies de plantas conhecidas no mundo. Isto, associado ao fato de que o Brasil tem tradição em produção agrícola, pode garantir a disponibilidade de materiais in natura em custo e qualidade suficiente. Além disso, há diversas pesquisas na América do Sul relacionada a ESC. Apesar disso, ainda não há unidades em escala industrial para produzir extratos por ESC nessa região (BACKLEH et al., 2003).

Nos últimos vinte anos, a extração por fluido supercrítico (ESC) conquistou um lugar de destaque tanto na química analítica quanto nos processos industriais. A extração por fluido supercrítico é geralmente mais rápida que a extração líquida e, quando usa o dióxido de carbono como solvente, muito mais ecológica por não deixar resíduo de solvente no extrato obtido. De fato, boa parte da ênfase dada à ESC vem da necessidade de substituir solventes orgânicos devido a pressões internacionais dos ambientalistas e também devido à tendência de um rápido aumento dos custos industriais. Em consequência, a ESC tornou-se uma alternativa importante na extração de materiais de plantas em escala industrial (MAUL, 1999).

Na prática, o estado supercrítico é obtido elevando-se a pressão e a temperatura de um gás ou de um líquido (Figura 2) de forma que se altere o estado de agregação e, como consequência, as propriedades da substância de interesse (LANÇAS, 2000). A extração com fluido supercrítico (ESC) emprega solventes acima ou próximos de suas temperatura e pressão crítica; extração com líquidos pressurizados, por exemplo, dióxido de carbono a 300 bar ($> 73,8$ bar, a pressão crítica) e 303,15 K ($< 304,15$ K, a temperatura crítica), é também denotado um processo de ESC (LEAL et al., 2003).

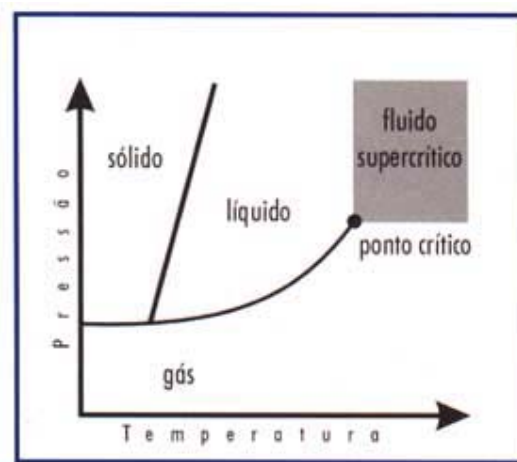


Figura 2 – Diagrama de fases (LANÇAS, 2000).

As propriedades dos fluidos supercríticos com maior importância para a extração são a densidade, a viscosidade e o coeficiente de difusão que tomam valores que se aproximam dos valores dos líquidos, no caso da densidade e valores próximos dos gases, no caso da viscosidade e do coeficiente de difusão. Estas propriedades, particularmente a densidade, podem ser alteradas com pequenas variações de pressão e/ou temperatura, permitindo o fracionamento do extrato. Na zona próxima do ponto crítico é onde se produzem, com pequenas alterações de pressão e temperatura, as maiores variações da densidade do fluido supercrítico, e por consequência do seu poder solvente (BERNARDO-GIL et al., 2002).

As ordens de magnitude dos dados físicos para agentes de extração em várias fases são dadas na Tabela 1 (STARMANS et al., 1996).

Tabela 1– Ordem de magnitude de dados físicos para agentes de extração em várias fases.

Propriedade	Fase do Agente de Extração		
	Gás	Supercrítico	Líquido
Coefficiente de Difusão [cm ² /s]	10 ⁻¹	10 ⁻³	5 x 10 ⁻⁶
Densidade [g/cm ³]	10 ⁻³	3 x 10 ⁻¹	1
Viscosidade [g/cm.s]	10 ⁻⁴	10 ⁻⁴	10 ⁻²

* (STARMANS et al., 1996)

Entre os principais parâmetros de processo que afetam a extração estão o pré-tratamento das matrizes herbáceas, a pressão e temperatura de extração e a taxa de fluxo do solvente (GASPAR et al., 2003).

Vantagens da ESC

Das muitas vantagens particulares da extração supercrítica, as principais são:

- os solventes usados, geralmente, são gasosos à pressão normal e temperatura ambiente, ou seja, após a extração, eles podem ser facilmente eliminados de ambos, dos resíduos de extração e dos produtos extraídos e recuperados;
- as propriedades solventes dos gases comprimidos podem ser grandemente variadas, tanto pelo ajuste apropriado da temperatura e da pressão quanto pela introdução de agentes aditivos (co-solventes) que mudem a polaridade dos gases. Em adição, pela alteração gradual da temperatura e da pressão, podem ser feitas extrações multifase e fracionamento do extrato, nos produtos desejados;
- a maioria dos gases utilizados são fisiologicamente seguros e inertes;
- com muitos gases, a separação de materiais é feita a baixas temperaturas, o que é extremamente importante quando se extraem substâncias naturais;
- os extratos quase não sofrem hidrólise, oxidação, esterificação, caramelização ou alterações térmicas, por isso representam melhor o material original;

- a força solvente é ajustada via compressão mecânica;
- os solventes podem ser reutilizados, o que significa um baixo custo operacional (MAUL, 1999; ZANCAN et al., 2002).

Desvantagens da ESC

O processo torna-se caro devido ao custo dos equipamentos. Assim, produtos de baixo valor agregado e baixo rendimento não podem ser economicamente extraídos por esse processo. Ainda, compostos muito polares, dificilmente serão extraídos sem a adição de um co-solvente adequado (MAUL, 1999).

Vantagens do uso do dióxido de carbono como fluido supercrítico

O CO₂ apresenta como vantagens:

- É inerte na natureza, assim, não há nenhum risco de reações laterais como a oxidação;
- Não cria problemas ambientais;
- Não é tóxico nas quantidades utilizadas (o que o torna particularmente adequado na indústria alimentar);
- Não se inflama;
- Existe em larga disponibilidade;
- Tem uma temperatura crítica de 304,15 K; isso significa que as extrações podem ser conduzidas à temperaturas que são suficientemente baixas para não prejudicar as propriedades físico-químicas do extrato.
- A pressão crítica é relativamente baixa;
- É barato em puridades elevadas quando comparado com outros solventes;

- Não são, normalmente, necessários processos subsequentes de limpeza dos extratos;
- Tem uma baixa polaridade, próxima ao do pentano e hexano, que são solventes comumente usados em procedimentos de extração líquida. Assim, uma escala similar de compostos pode ser extraída usando ambas as técnicas;
- Permite a separação fracionada; pela simples escolha de diferentes condições de temperatura e pressão para um número de vasos separadores seqüenciais, uma separação fracionada dos compostos orgânicos pode ser alcançada;
- É facilmente separado do produto que se pretende extrair através da alteração das condições de pressão e temperatura de modo que seja gasoso nessas condições (BERNARDO-GIL et al., 2002; MAUL, 1999; STARMANS et al., 1996; KIRIAMITI et al., 2001; RIBEIRO et al., 2001; LI et al., 2003).

Desvantagens do uso do dióxido de carbono como FSC

O CO₂ possui, como desvantagens:

- O equilíbrio de fases entre o solvente supercrítico e o soluto pode ser muito complexo;
- Como é não-polar, dissolve muito bem apenas os solutos não polares;
- A adição de co-solventes pode alterar a polaridade do CO₂, mas podem ficar resíduos desses solventes no extrato, sendo necessário um processo subsequente de eliminação dessas impurezas;
- A adição de co-solventes altera ainda mais o diagrama de equilíbrio de fases, complicando a realização do 'scale-up', o que agrava economicamente o processo;
- A altas pressões há dificuldade de introdução contínua de sólidos no extrator;
- A utilização de altas pressões implica que todo o equipamento tem que ser muito bem otimizado, sendo muito dispendioso;

→ Os custos operacionais são também elevados, o que implica não ser rentável na substituição da maior parte dos processos de extração com solventes orgânicos, sendo, ainda hoje, sobretudo utilizado na extração de produtos de alto valor agregado (BERNARDO-GIL et al., 2002).

Aplicações da extração supercrítica

São inúmeras as aplicações da extração supercrítica. Como exemplos, mencionam-se:

- Descafeinação de café, chá, cacau;
- Extração de aromas, antioxidantes e outras substâncias ativas de várias partes das plantas (alecrim, segurelha, coentro, tomilho, orégano, murta, cidreira, etc.);
- Desodorização de óleos e de gorduras animais e vegetais;
- Extração de lúpulo, corantes naturais, esteróis, esteróides e alcalóides;
- Extração fracionada de aromas, polímeros, fármacos, glicéridos contidos em gorduras de peixe, óleo de fígado de bacalhau, manteiga ou óleos já usados;
- Extração de produtos de elevado valor agregado de algas ou de sementes;
- Remoção de compostos poluentes de águas residuais;
- Regeneração de catalisadores e adsorventes (BERNARDO-GIL et al., 2002; MAUL, 1999).

Novos solventes supercríticos

O inconveniente de se usar o dióxido de carbono supercrítico para a extração de compostos orgânicos de materiais de plantas é o fato de que a performance da extração é consideravelmente diminuída quando o material contém água. Além disso, somente compostos que tem uma polaridade moderada e contém componentes não

polares são bem extraídos. Para contornar esses problemas, solventes polares como o etanol ($T_c = 516 \text{ K}$, $P_c = 6,2 \text{ MPa}$) são freqüentemente misturados ao dióxido de carbono supercrítico (STARMANS et al., 1996).

Há outros gases que também têm propriedades solventes interessantes no seu estado supercrítico. Entretanto, por razões de custo, perigo de explosão, toxicidade, inflamabilidade e propriedades físicas adversas, poucos são usados comercialmente (MAUL, 1999; STARMANS et al., 1996).

Perspectivas futuras

As perspectivas do emprego da extração supercrítica relacionadas com os resultados das pesquisas em desenvolvimento dão maior consciência aos demais profissionais da área sobre as possibilidades que o processo oferece, sobre sua viabilidade econômica, disseminação dos atuais conhecimentos sobre o assunto, escolha das matérias-primas mais adequadas, necessidade de obter produtos isentos de solventes orgânicos, as restrições cada vez mais presentes ao uso dos solventes orgânicos tóxicos, necessidade de fracionamentos de óleos essenciais sem quebra de moléculas e obtenção de produtos idênticos aos existentes na natureza, são adequadas para a indústria alimentícia, cosmética e farmacêutica (MAUL, 1999).

O número de aplicações potenciais da extração por fluidos supercríticos, continua a crescer em todo o mundo. Pelo que se verifica, sua aplicação já é uma realidade, em parte impulsionada pela demanda crescente de produtos de alta qualidade e da globalização da economia, também no comércio de insumos farmacêuticos, alimentícios, químicos e cosméticos e principalmente, pela seletividade, facilidade e capacidade de separação e fracionamento que oferece para um grande número de compostos orgânicos, muitas vezes impossíveis de extrair pelos processos tradicionais e aqueles cuja purificação torna-se por demais onerosa, necessitando de colunas de alta resolução, nem sempre disponíveis no mercado nacional (MAUL, 1999).

Curva de Extração

O processo de extração com ESC não é linear com respeito ao tempo de extração. Pela avaliação da curva de extração, o processo de extração pode ser dividido em três períodos: (1) período de taxa constante de extração (CER), quando a superfície externa das partículas está completamente coberta de óleo – a resistência à transferência de massa é na fase solvente; (2) período de taxa decrescente de extração (FER), quando partes sem óleo aparecem na superfície da partícula – o soluto é facilmente esgotado na entrada do extrator – inicia o mecanismo de difusão; e (3) etapa de difusão controlada (EDC), que é caracterizada pela difusão da mistura soluto-solvente dentro das partículas e através do volume do fluido. Na terceira etapa, a desorção do soluto da matriz sólida também é influenciado com o processo de extração. Um esquema ilustrativo da quantidade de óleo em uma partícula está apresentado na Figura 3. DEAN et al. (1993) indicaram que as duas primeiras etapas representam mais de 70% do rendimento total do processo de extração, com a contabilidade de 50% para o período CER. Sendo assim, o processo pode ser modelado considerando o processo convectivo (fenômeno de superfície). O coeficiente de transferência de massa pode ser representado pela transferência de massa na fase FSC (FERREIRA et al., 1999; FERREIRA et al., 2002).

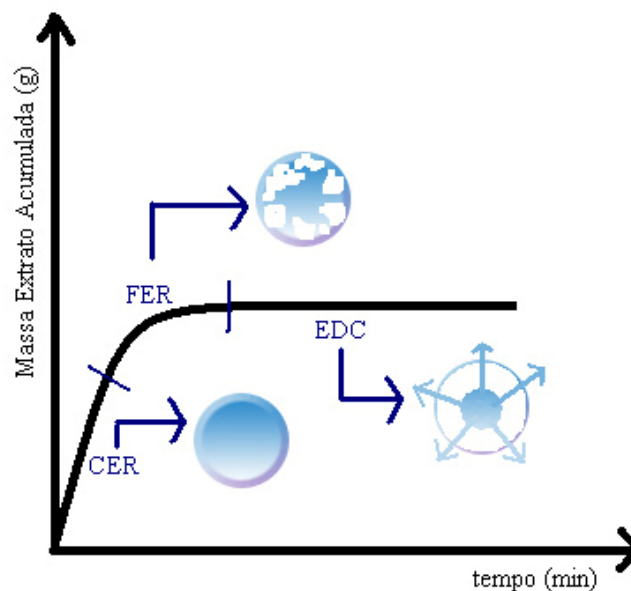


Figura 3 – Esquema ilustrativo das etapas da curva de extração.

3.3.1 SOLUBILIDADE

Segundo BRUNNER (1994) citado por DANIELSKI (2002), a solubilidade de um soluto no fluido supercrítico pode ser entendida como a máxima concentração de extrato presente na fase solvente, em equilíbrio com a concentração do extrato presente na fase sólida e deve, geralmente, ser obtida experimentalmente (REVERCHON, 1997).

Através do método dinâmico pode-se determinar a curva de extração, relacionando a quantidade de produto extraído com o tempo de extração e/ou massa de solvente utilizado. A curva de extração representa o comportamento da extração à medida que o soluto é extraído (DANIELSKI, 2002).

Durante a CER pode-se determinar a solubilidade, que é um dado de equilíbrio. A solubilidade de um soluto em um FSC pode ser obtida pelo método dinâmico através da inclinação da curva de extração na CER porque nesta etapa, garantido suficiente tempo de contato entre as fases, o solvente deixa o extrator saturado com o solvente (BRUNNER, 1994; FERREIRA et al., 1999; JOCHMANN, 2000).

Um parâmetro importante apontado por Sovová é que a solubilidade, e assim, a taxa de extração dependem ambas da pressão e temperatura no extrator. Em geral, a baixa pressão, a solubilidade aumenta com o aumento da pressão e com o decréscimo da temperatura, enquanto que, a altas pressões, acima do então chamado “crossover” de pressão, a solubilidade aumenta tanto com o aumento na pressão como com a temperatura (KIRIAMITI et al., 2001).

CARVALHO-JUNIOR et al. (2003) observaram a inversão das isotermas em estudos a 30°C e 40°C para o alecrim ao se elevar a pressão de 100 para 177 bar, acompanhado por um aumento na densidade do solvente e, assim, um aumento na solubilidade do extrato de alecrim. Isto pode ser explicado pela diminuição na distância média entre as moléculas, aumentando a interação específica entre soluto e solvente. Para pressões maiores que 200 bar, o aumento na pressão causa um aumento moderado na densidade e, logo, um aumento moderado na solubilidade. Há dois principais efeitos da temperatura sobre a solubilidade, a pressão de vapor do soluto e a densidade do solvente. Para pressões inferiores a 177 bar, a densidade do CO₂ diminui

significativamente com o aumento da temperatura. Como consequência, a solubilidade do extrato de alecrim diminui e o fenômeno de retrogradação é observado. Para pressões de 177 bar, os dois efeitos de temperatura na solubilidade apresentam importância similar. Para pressões superiores a 177 bar, o aumento na pressão de vapor do soluto com a temperatura é mais significativo que a diminuição da densidade do solvente.

3.3.2 MODELAGEM

A extração com fluido supercrítico (ESC) é um processo baseado no contato entre um material sólido e um solvente pressurizado, que remove os compostos de interesse da fase sólida. Após essa remoção o extrato é separado do solvente através da redução da pressão. Essa técnica tem sido usada desde décadas passadas como uma alternativa para os métodos convencionais, como a destilação à vapor e a extração com solventes orgânicos, porque gera extratos mais ricos nos compostos desejáveis que a destilação à vapor e livre de solventes orgânicos (MARTÍNEZ et al., 2003).

A otimização das condições operacionais usadas na ESC é de grande importância para tornar esta técnica economicamente viável porque o custo do investimento para a construção de uma unidade de ESC é alta (MARTÍNEZ et al., 2003).

A modelagem matemática dos dados experimentais da ESC tem o objetivo de determinar parâmetros para o desenvolvimento do processo, tais como dimensões do equipamento, taxa de fluxo do solvente e tamanho da partícula, para fazer possível a predição da viabilidade de processos de ESC em escala industrial, através da simulação das curvas totais de extração (MARTÍNEZ et al., 2003).

Do ponto de vista industrial, a otimização do processo que emprega ESC requer o conhecimento de características termodinâmicas (solubilidade e seletividade) bem como características cinéticas (taxa de transferência de massa) (FERREIRA et al., 1999).

Há muitos modelos matemáticos na literatura para ajustar curvas de extração ESC para dados experimentais. Alguns desses modelos são totalmente empíricos, mas a maioria deles são baseados no balanço de massa dentro do leito de extração. Modelos fenomenológicos de processos de extração consistem de equações de balanço de massa para o soluto na fase sólida e na fase fluida. Pela integração dessas equações diferenciais, perfis de concentração dependentes do tempo em ambas as fases são obtidos e a curva de extração é calculada para a concentração na fase fluida na saída do extrator (MARTÍNEZ et al., 2003; SOVOVÁ, 2005).

O Modelo de CRANK (1975) apresentado por REVERCHON (1997) é baseado na analogia da transferência de calor. Cada partícula vegetal única é considerada como uma esfera quente que está sendo refrigerada em um meio uniforme. Assumindo que os componentes a serem extraídos estão uniformemente distribuídos no interior da partícula, e aplicando a segunda lei de Fick para a difusão, da analogia da transferência de calor e transformadas de Fourier, o balanço de material através da superfície interna da partícula pode ser resolvido analiticamente. As equações do Modelo de Crank estão apresentadas no Anexo IA.

REVERCHON et al. (1993) aplicou esse modelo para descrever as curvas de rendimento dos óleos essenciais isolados por ESC de várias matrizes vegetais, entre elas o alecrim. Os resultados experimentais foram razoavelmente bem descritos por esse modelo para o óleo essencial de alecrim.

Não obstante, o modelo de SOVOVÁ (1994) tem a vantagem de fornecer uma solução analítica razoavelmente simples às equações de balanço de massa e uma boa descrição física do processo.

O modelo do Sovová supõe o fluxo constante em estado pseudo-estacionário, temperatura, pressão, e velocidade do solvente são mantidas constante durante toda a extração. O leito é homogêneo com respeito ao soluto e distribuição de tamanho das partículas (RODRIGUES et al., 2003).

Segundo SOVOVÁ (1994), nas plantas em sua forma original, o soluto como um óleo volátil por exemplo, está contido no interior das células, e, portanto, protegido

pela parede celular. Porém, o pré-tratamento do material envolve, entre outros processos, uma moagem ou trituração que visa aumentar a superfície de contato entre o sólido e o solvente. Este tratamento resulta também no rompimento de parte das paredes celulares, deixando o soluto livre para o contato direto com o solvente. No entanto, não é a totalidade das paredes celulares que se rompe, de forma que parte do soluto permanece protegido, sendo de difícil acesso ao solvente. Podemos, portanto, dividir a quantidade total de soluto disponível em duas partes sendo uma de fácil e outra de difícil acesso. Esta interpretação interfere na forma do termo que se refere à transferência de massa interfacial da equação de balanço de massa.

SOVOVÁ (1994) despreza, nas equações de balanço de massa, os termos referentes à dispersão na fase fluida e à difusão na fase sólida, além da variação da solubilidade com o tempo, por considerar que estes fenômenos pouco influem no processo, quando comparados à convecção na fase fluida causada pelo escoamento do solvente a uma dada velocidade. As equações do Modelo de Sovová estão apresentadas no Anexo IB.

O modelo apresentado por MARTÍNEZ et al. (2003) é baseado no balanço de massa no leito de extração, considerando um leito cilíndrico com comprimento H muito maior que o diâmetro, no qual o solvente escoar na direção axial, e, a matéria-prima disposta uniformemente no leito, apresentando assim, uma porosidade uniforme em toda a sua extensão. Pode ser aplicado considerando o extrato como um pseudocomponente ou como uma mistura de substâncias ou grupos de compostos de estrutura química similar. A melhor correlação foi obtida usando o soluto como um simples componente. O fluxo de massa interfacial de cada grupo de compostos é assumido como sendo descrito por uma das soluções de um modelo logístico, razão pela qual o modelo também é conhecido como Modelo Logístico. Negligencia o acúmulo e a dispersão na fase fluida devido ao fato de que esse fenômeno não tem influência significativa no processo quando comparado ao efeito da convecção. Assim, a equação do balanço de massa para a fase fluida é simplificada e dois parâmetros ajustáveis são apresentados no modelo para cada grupo de componentes. As equações do Modelo de Martínez estão apresentadas no Anexo IC.

3.4 ALECRIM (*Rosmarinus officinalis* L.)

Rosmarinus officinalis, de nome comum alecrim, é um arbusto verde e é uma das espécies de ervas da família Labiatae. Foi cultivado primeiro no Mediterrâneo e então transplantado para China e agora é cultivado em todo o mundo. É cultivado principalmente na Espanha, Marrocos e Tunísia, que são também os principais produtores do seu óleo. EUA, Japão e países da União Européia são os principais importadores (FLAMINI et al., 2002; HUI-HUI et al., 2001). O alecrim é uma planta aromática usada para impor flavor a uma variedade de alimentos além de aplicações medicinais (CARVALHO-JUNIOR et al., 2004). Diferentes espécies de alecrim existem em todo o mundo: *R. officinalis*, *R. eriocalyx*, *R. laxiflorus*, e *R. laVandulaceus*. O *R. officinalis* é o único que cresce naturalmente nas regiões Mediterrâneas (ANGIONE et al., 2004).

Segundo LOEWENFELD et al. (1978) citado por PORTE et al. (2001), o alecrim ocupava lugar de honra entre as plantas domésticas trazidas pelos primeiros colonos. Pode produzir flores azuis ou brancas e seu nome em latim significa “orvalho do mar”, referindo-se ao local de origem desta planta. Apresenta emprego culinário, medicinal, farmacêutico e cosmético. Proporciona um dos aromas mais refrescantes e menos caros, sendo uma das ervas mais importantes na atualidade. Existem lendas e tradições a respeito desta planta. Supunha-se que só crescia no jardim dos justos e tinha fama de reforçar a memória, por isso converteu-se no símbolo da fidelidade, da amizade e da lembrança. Quando faltava incenso nas igrejas, o alecrim era queimado como substituto. Os estudantes gregos usavam-no com freqüência durante as provas, pois acreditavam em seu poder de reforçar o cérebro e a memória. Isto se deve à dilatação dos tecidos que a planta provoca, aumentando sua irrigação e exercendo efeito estimulante. Conhecida desde 116-27 a.C., apresenta propriedades estomacais, estimulantes, antiespasmódica e emenagoga.

A composição química do óleo volátil (essencial) do alecrim e/ou extrato é dependente de condições climáticas e de cultivos, da parte da planta usada, tipo de preparação do material (*in natura* ou seco), bem como do método de extração empregado (CARVALHO-JUNIOR et al., 2004; SVOBODA et al., 1992).

SOLIMAN et al. (1994), em estudos prévios do óleo essencial de *Rosmarinus officinalis*, apresentaram como seus principais constituintes: 1,8-cineol, cânfora, borneol, acetato de bornila, canfeno, α -pineno, ρ -cimeno, mirceno, sabineno, β -felandreno, β -pineno, dipenteno e β -cariofileno.

Alguns componentes emprestam certas características específicas ao óleo essencial de alecrim, ou seja, 1,8-cineol – aroma refrescante; α -pineno – aroma de pinho; cânfora – aroma de menta; borneol – gosto acre (SVOBODA et al., 1992).

O alecrim, que é conhecido há bastante tempo como espécie e erva medicinal, está recebendo um aumento de atenção devido aos seus constituintes antimicrobianos, anti-inflamatórios e antioxidantes (BACKLEH et al., 2003).

A atividade antioxidante do alecrim é conhecida a aproximadamente 30 anos, e seus compostos ativos têm sido identificados (NASSU et al., 2003). As propriedades antioxidantes dos extratos da folha de alecrim são atribuídas ao seu grande conteúdo de fenólicos diterpênicos (SAENZ-LOPEZ et al., 2002; THORSEN et al., 2003).

As atividades antioxidante e antimicrobactericida dos extratos de gengibre (*Zingiber officinale* Roscoe), alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.), e curcuma (*Curcuma longa* L.) foram avaliadas por LEAL et al. (2003). Os extratos foram obtidos usando CO₂ supercrítico com e sem etanol e/ou álcool isopropílico como co-solvente. O poder antioxidante dos extratos foi testado usando a reação entre o β -caroteno e o ácido linoleico e a atividade antimicrobactericida contra *M. tuberculosis* foi medida pelo teste do azul de Alamar em microplacas (MABA). Os extratos de alecrim exibiram a mais forte atividade antioxidante e a menor atividade antimicrobactericida.

JOSÉ DEL BAÑO et al. (2003) avaliaram a atividade de seis extratos de alecrim com diferentes composição de polifenólicos em sistemas lipídicos e aquosos, e os resultados sugeriram claramente que os extratos de alecrim são excelentes antioxidantes em ambos os sistemas. HUI-HUI et al. (2001) verificaram que o carnosol, rosmanol e epirosmanol, fenólicos diterpenos do *Rosmarinus officinalis*, exibem inibição na atividade da oxidação da lipoproteína de baixa densidade. Segundo HOPIA et al. (1996), o carnosol e o ácido carnósico são efetivos eliminadores de radicais peroxi.

O antioxidante mais efetivo e majoritário na fração de fenólicos diterpênicos do alecrim é o ácido carnósico; alguns outros diterpenos, menos efetivos na planta, são produtos de degradação do ácido carnósico, que é convertido na maior parte a carnosol, metil éster do ácido carnósico, epirosmanol, rosmanol, and 7-metilrosmanol, como apresentado na Figura 4 (BACKLEH et al., 2003; THORSEN et al., 2003; JOSÉ DEL BAÑO et al., 2003; BANDONIENE et al., 2002; IBAÑEZ et al., 2000).

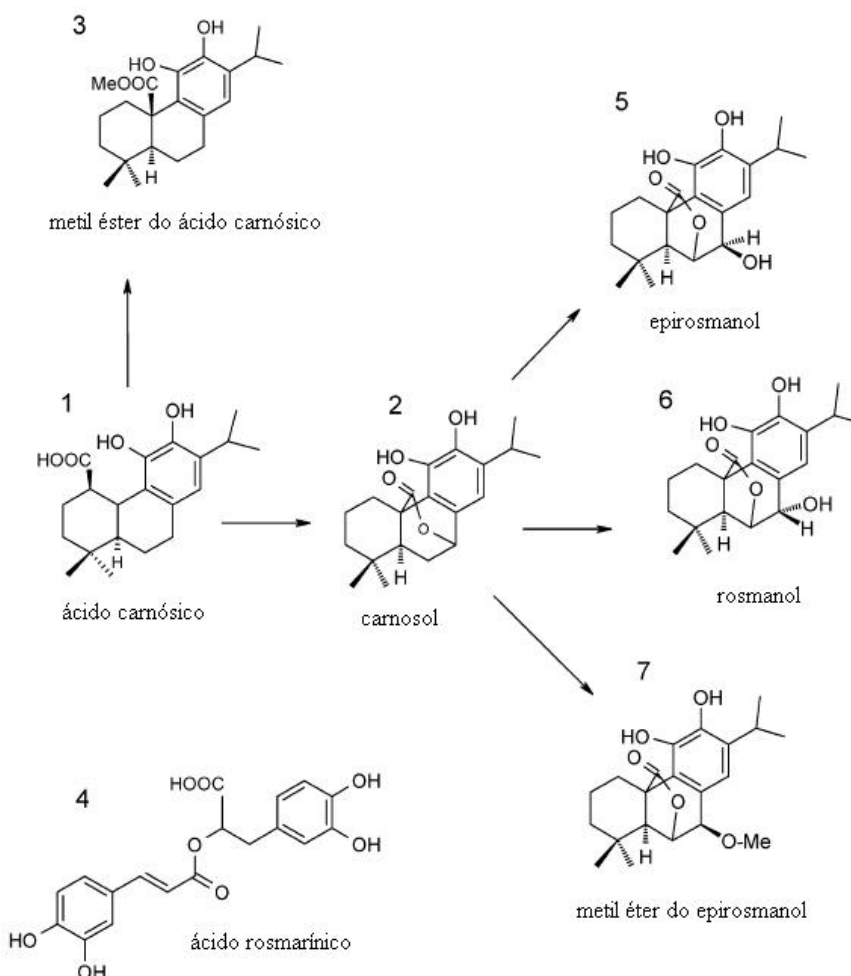


Figura 4 – Estrutura do ácido carnósico (1), alguns de seus produtos de degradação (2, 3, 5-7) e ácido rosmarínico (4) (BACKLEH et al., 2003).

Conforme citado em LUXENBURGER (2003) o carnosol é uma lactona diterpênica que exhibe uma variedade de atividades biológicas, como efeitos anti-sépticos, anti-inflamatórios, antioxidantes e propriedades anticancerígenas.

O efeito da atividade antioxidante na oxidação lipídica de substratos foi avaliado por HOPIA et al. (1996) nos sistemas “bulk” e emulsificados. No bulk metil linolato, o ácido carnósico foi melhor antioxidante que o carnosol, e ambos foram mais ativos que o α -tocoferol. Entretanto, no ácido linoleico o carnosol foi mais efetivo que o ácido carnósico. No bulk de triglicerídeos de óleo de milho e em todos os sistemas emulsificados, o α -tocoferol apresentou a melhor atividade antioxidante. Durante a oxidação, o ácido carnósico e o carnosol são convertidos em substâncias desconhecidas que exibem atividade antioxidante. O tipo e a polaridade do sistema lipídico usado como substrato modelo afeta significativamente a atividade antioxidante do carnosol e do ácido carnósico.

O alecrim e seus extratos são os únicos condimentos usados comercialmente como antioxidantes, sendo alguns combinados com tocoferóis. Isto porque, existe sinergismo entre o alecrim e o α -tocoferol (extrato de alecrim regenera o tocoferol). O alecrim também demonstra efeito sinérgico com o ácido cítrico e BHA, mas não com ácido ascórbico. O aquecimento resulta em alguma redução da atividade antioxidante da maioria dos condimentos, devido à reação dos compostos fenólicos com outras substâncias (MADSEN et al., 1995).

Com relação à atividade bacteriana e anti-HIV, conforme citado por COWAN (1999), os compostos da classe terpenóide do alecrim são os principais responsáveis. Os compostos aos quais podem ser atribuídas atividades antibacterianas na sálvia e alecrim são: borneol, 1,8-cineol, pineno, canfeno e cânfora (SHELEF et al., 1980; BURT, 2004).

KARAMANOLI et al. (2000) testaram o efeito antibactericida dos principais constituintes do *R. officinalis* (α -pineno, limoneno, 1,8-cineol, cânfora, terpineol-4-ol, and α -terpineol) e encontraram que a cânfora, terpineol-4-ol, e α -terpineol foram ativos contra duas bactérias Gram-negativas patógenas de plantas, *Eriwinia herbicola* e *Pseudomonas syringae*. INOUYE et al. (2001) encontraram que o terpineol-4-ol foi altamente efetivo contra *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, e *Escherichia coli*.

ABUTBUL et al. (2004) testaram o uso do *Rosmarinus officinalis* como um tratamento contra *Streptococcus iniae* em uma espécie de peixe, *Oreochromis sp.* (tilapia), e verificaram que o extrato da folha de *R. officinalis*, extraído com solvente, tem efeito bacteriostático no *S. iniae*.

Em estudo apresentado por PANIZZI et al. (1993), foi estudada a ação de quatro espécies da família Lamiaceae, *Satureja montana* L., *Rosmarinus officinalis* L., *Thymus vulgaris* L. e *Calamintha nepeta* (L.) contra os seguintes microorganismos: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, *Saccharomyces cerevisiae* e *Candida albicans*, e o *Rosmarinus officinalis* L. foi o menos efetivo.

Segundo PANDIT et al. (1994) o *Rosmarinus officinalis* L. apresentou efeito contra o patógeno *Listeria monocytogenes* à concentrações inferiores a 1%.

Conforme SOLIMAN et al. (1994) citado por PORTE et al. (2001), em óleos essenciais de alecrim, de diferentes partes do Egito, foram encontradas adequadas atividades inibitórias contra *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans*, *Mycobacterium intracellulare*, mas nenhuma atividade contra *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigatus* e *Trichophyton mentagrophytes*. Os principais componentes que o óleo de alecrim egípcio apresentou foram: cânfora, α -pineno e 1,8-cineol, que acredita-se então, terem a maior atividade antimicrobiana.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

Neste capítulo são apresentados os materiais e métodos utilizados na obtenção do óleo de alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.), na determinação dos parâmetros de processo para a operação de extração supercrítica e convencional juntamente com os procedimentos de análise.

4.1 AQUISIÇÃO E PREPARAÇÃO DA MATÉRIA-PRIMA

A matéria-prima (MP) utilizada nos experimentos, fornecida pela Central de Plantas Medicinais e Aromáticas do Paraná, localizada em Curitiba/PR, foi doada pela Duas Rodas Industrial Ltda., e tem como referência os seguintes dados:

Produto: Alecrim;

Número: 2119/2;

Parte utilizada: Folhas;

Embalagem: 10 kg;

Colheita (Mês/Ano): 01/2004;

Validade: 01/2006.

Com o objetivo de gerar uma maior exposição do soluto ao solvente, as matrizes vegetais utilizadas foram trituradas, por cerca de 10 seg, em um liquidificador doméstico (Walita, São Paulo, SP). As partículas foram separadas em diferentes frações de tamanhos de partícula com auxílio de peneiras (Bertel Indústria Metalúrgica Ltda., Caieiras, SP). A preparação da matéria-prima selecionada neste estudo constituiu da separação das frações peneiradas, e armazenamento em sacos herméticos em freezer doméstico (Brastemp), a $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$, até sua utilização.

4.2 CARACTERIZAÇÃO DA MP E DO LEITO DE PARTÍCULAS

A determinação das características físicas das partículas e do leito fixo por elas formado, é necessária para a avaliação das propriedades de transporte, tais como a porosidade do leito (ϵ), a densidade real (d_r) e aparente (d_a) das partículas, utilizadas na modelagem matemática das curvas de extração.

4.2.1 DETERMINAÇÃO DO TEOR DE UMIDADE

Para determinação do teor de umidade foi utilizado o método de Perda por Dessecação (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 1985).

Cinco gramas da amostra foram pesadas em pesa-filtro tarado, previamente aquecido em estufa a 105 °C, por 1 hora, resfriado em dessecador até temperatura ambiente e pesado. Os pesa filtros com as amostras foram aquecidos em estufa a 105 °C por 3 horas, resfriados em dessecador até a temperatura ambiente e pesados. Essa operação de aquecimento e resfriamento é repetida até peso constante da amostra.

Para o cálculo do teor de umidade, a seguinte equação foi empregada:

$$\frac{100 \times N}{P} = \text{umidade\%} \quad \text{a } 105 \text{ }^\circ\text{C p/p} \quad (4.1)$$

onde N é a perda de peso em g e P é o número de gramas de amostra.

4.2.2 DETERMINAÇÃO DO TAMANHO DAS PARTÍCULAS

A matéria-prima foi primeiramente moída, e em seguida peneirada em agitador de peneiras (Bertel Indústria Metalúrgica Ltda., Caieiras, SP). A granulometria utilizada para os experimentos foi de -20 +32 mesh, exceto para os testes de granulometria (para

avaliar a influência do tamanho das partículas no rendimento de extrato), onde foram utilizadas granulometrias na faixa de -16 a +80 mesh.

4.2.3 DETERMINAÇÃO DO DIÂMETRO MÉDIO DAS PARTÍCULAS

Para determinação do diâmetro médio de partículas, uma amostra de alecrim previamente moído conforme descrito anteriormente, foi submetida à análise de microscopia eletrônica de varredura (MEV), realizada no Laboratório de Caracterização Microestrutural do Departamento de Engenharia Mecânica da Universidade Federal de Santa Catarina, através de um microscópio eletrônico de varredura, de marca PHILIPS, modelo XL 30.

A MEV consiste na deposição da amostra em um suporte, que é então recoberto com ouro em uma célula de vácuo. Após esse procedimento a amostra é então colocada no microscópio onde um feixe fino de elétrons de alta energia incide na superfície da amostra onde parte do feixe é refletida e coletada por um detector que converte este sinal em imagem de elétrons retroespalhados.

O diâmetro médio das partículas da amostra analisada na MEV foi determinado utilizando o software próprio do equipamento MEV. Através deste são tomadas duas dimensões da partícula, o comprimento e a espessura. Como as partículas utilizadas assemelham-se a retângulos, com os valores médios do comprimento e espessura, calculou-se a área do retângulo. Considerou-se esta área como sendo igual à de um círculo, e, através da Equação 4.2 calculou-se o diâmetro médio das partículas:

$$A_R = A_C = \frac{\pi \cdot dp^2}{4} \quad (4.2)$$

onde:

A_R e A_C correspondem, respectivamente, às áreas de um retângulo e de um círculo, e,

dp corresponde ao diâmetro médio das partículas.

4.2.4 DETERMINAÇÃO DA DENSIDADE REAL OU ABSOLUTA (d_r)

A densidade real do alecrim moído (d_r) foi determinada no Laboratório de Materiais Particulados da Universidade de São Carlos, no Centro de Caracterização e Desenvolvimento de Materiais – UFSCar (São Carlos, São Paulo) pelo método de Determinação da Densidade Real por Picnometria de Hélio, através do equipamento Ultracycrometer 1000 da Quantachrome.

4.2.5 DETERMINAÇÃO DA DENSIDADE APARENTE (d_a)

A densidade aparente (d_a) do leito de partículas foi calculada através da razão da massa de amostra utilizada nas extrações pelo volume do leito, conforme a Equação 4.3.

$$d_a = \frac{\textit{massa de alecrim}}{\textit{volume do leito}} \quad (4.3)$$

4.2.6 DETERMINAÇÃO DA POROSIDADE TOTAL DO LEITO DE PARTÍCULAS (ϵ)

Pelo emprego da Equação 4.4 pode-se calcular a porosidade total do leito fixo de partículas (ϵ), utilizando os valores pré-determinados e/ou calculados da densidade real das partículas e a densidade aparente do leito.

$$\epsilon = 1 - \frac{d_a}{d_r} \quad (4.4)$$

4.2.7 DENSIDADE DO SOLVENTE

A equação de ANGUS et al. (1976), baseada em dados experimentais, foi utilizada para determinação da densidade do dióxido de carbono supercrítico (CO_2) nas condições operacionais e ambientais de extração. Estes valores são utilizados na

avaliação da influência da temperatura e da pressão na variação da densidade do solvente, e, na aplicação do modelo de transferência de massa descrito por SOVOVÁ (1994).

4.3 EQUIPAMENTO DE EXTRAÇÃO

Todos os procedimentos de extração supercrítica, bem como os de extração convencional foram executados no Laboratório de Termodinâmica e Extração Supercrítica (LATESC) da Universidade Federal de Santa Catarina.

4.3.1 EXTRAÇÃO SUPERCRÍTICA

Para a obtenção do óleo de alecrim foram utilizadas duas unidades de extração supercrítica do Laboratório de Termodinâmica e Extração Supercrítica (LATESC) da Universidade Federal de Santa Catarina. Os dados de solubilidade preliminares foram realizados na unidade de ESC-A, que opera com pressões na faixa de 80 – 200bar, temperatura de 40 a 80°C e fluxo de CO₂ na ordem de 0,03 – 0,3kg/h. Os demais experimentos foram obtidos na unidade de ESC-B, que possui capacidade de operar com pressões na faixa de 80 – 400bar, temperatura de extração na ordem de 40 – 100°C e fluxo de CO₂ entre 0,1 – 2,5kg/h. A seguir é apresentada a descrição detalhada das unidades de ESC empregadas neste estudo.

4.3.1.1 Unidade de ESC-A

A unidade de ESC-A constitui-se de um cilindro de CO₂ com tubo pescador (R), fornecido pela White Martins Ltda., que alimenta um tanque pulmão (P) de aço inox de 200 cm³ (Suprilab, Campinas, SP) através de uma válvula de três vias (VTV) (Hoke, modelo 7165G4Y, Cresskill, NJ, EUA) com dispositivo de segurança. Este tanque é provido de uma camisa de PVC para manter o solvente resfriado, através de um banho termostático (T) (Microquímica, modelo MQBTZ99-20, Florianópolis, SC)

cuja temperatura, programada para menos de 1°C, garante o estado líquido do solvente antes do seu bombeamento, evitando a cavitação da bomba (B) (Thermo Separation Products, modelo 3200 P/F, Fremont, CA, EUA) utilizada. O tanque pulmão ainda possui um manômetro para o controle da pressão com precisão de 0,5% (IOPE, modelo 01221-40-2, São Paulo, SP). Através de uma válvula globo (VG) (Whitey, modelo SS-43S4, Solon, OH, EUA) o solvente passa à bomba, operando no modo de pressão constante, fornecendo uma vazão de solvente adequada, normalmente entre 1 e 10 mL/min. A temperatura de operação do extrator é controlada e mantida constante através de um banho termostático (T) (Microquímica, modelo MQBTZ99-20, Florianópolis, SC). Na entrada do extrator encontra-se acoplado um manômetro (Header, modelo H-11, São Paulo, SP), onde a pressão de extração é monitorada. O extrator (Suprilab, Campinas, SP), onde é formado o leito fixo de partículas, constitui-se de um cilindro de aço inoxidável encamisado de 2,1 cm de diâmetro interno, 40 cm de comprimento e volume de 138,5 mL, possuindo ainda extremidades rosqueadas. Na saída do extrator é conectada uma válvula agulha micrométrica (VM) (Swagelok, modelo SS-31RS4, Solon, OH, EUA), onde ocorre a despressurização da mistura soluto/solvente, e sua conseqüente separação.

A fim de evitar o congelamento da mesma, devido a drástica redução da pressão na VM (mudança de estado físico do solvente de fluido supercrítico para vapor), a mesma é aquecida com uma fita de aquecimento (Fisatom, modelo 5, São Paulo, SP), que tem sua temperatura controlada por um potenciômetro (Quimis Aparelhos Científicos Ltda., modelo Q-323.2, Diadema, SP).

Após a VM o extrato obtido é coletado em frascos de vidro âmbar (C) e, após o ponto de coleta, encontra-se conectado um bolhometro (BL) onde são realizadas as leituras de vazão de solvente, mediante o deslocamento de coluna de líquido, conforme descrito por Jochmann (2000).

A foto e o esquema da unidade de ESC-A são mostrados nas Figuras 5 e 6, respectivamente.

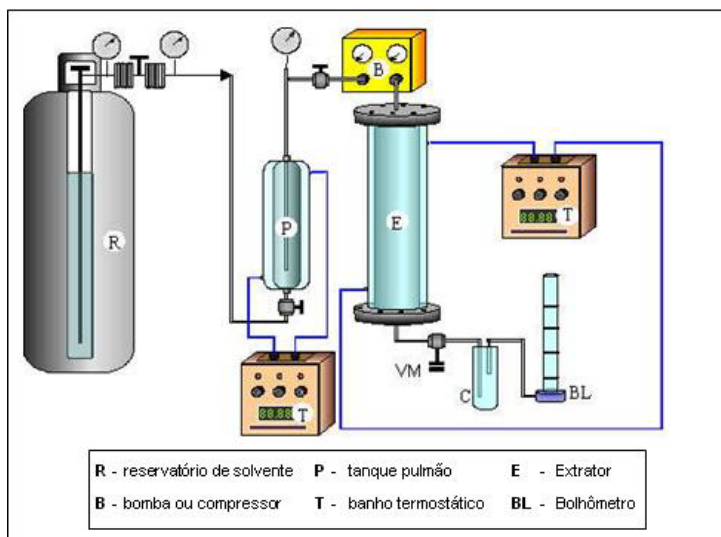


Figura 5 – Diagrama esquemático da unidade de ESC-A.



Figura 6 – Foto da unidade de ESC-A.

4.3.1.1.1 Determinação da Solubilidade Experimental Preliminar

Para a aplicação do modelo de transferência de massa de SOVOVÁ (1994), a solubilidade é um parâmetro termodinâmico essencial.

A solubilidade determinada foi chamada de preliminar pelo fato de que, como não era o objetivo do trabalho, não foi realizado um estudo específico e completo para a determinação da solubilidade do óleo de alecrim no dióxido de carbono supercrítico. Essa solubilidade preliminar foi obtida na unidade de ESC-A pelo método dinâmico de extração, onde a solubilidade é representada pela inclinação das curvas de extração, na etapa de taxa constante de extração (CER).

A vazão utilizada para determinação da solubilidade experimental foi baseada no estudo feito por DANIELSKI (2002), que definiu a faixa de 0,9 g/min à 1,4 g/min para a solubilidade de oleoresinas em CO₂ supercrítico, garantindo assim o tempo de contato entre as fases, necessário para alcançar o equilíbrio. Com os dados experimentais obtidos foram construídas as curvas de extração (massa acumulada de extrato vs. massa acumulada de solvente utilizado). As curvas de extração foram ajustadas linearmente pelo método *spline* utilizando os procedimentos PROCREG e PROCNLIN disponíveis no programa SAS for Windows – versão 8.5 (SAS Institute Inc., Cary, NC, EUA) com o objetivo de determinar a inclinação da reta ajustada durante o período de taxa constante de extração (CER), onde a massa de soluto obtido permanece constante. Esta inclinação passa então a corresponder ao valor de Y_{CER} (g soluto/g solvente) para a condição de temperatura e pressão específica.

4.3.1.2 Unidade de ESC-B

A unidade de ESC-B constitui-se de um cilindro de CO₂ com tubo pescador (White Martins Ltda, Joinville, SC, Brasil), que alimenta a linha de extração, que passa imersa em um banho termostático de resfriamento (Thermo Haake C10 - K10) programado para manter a temperatura inferior a 0 °C, garantindo assim que o solvente siga no estado líquido à bomba (Maximator M111 CO₂), que trabalha suprida por uma linha de ar comprimido e filtrado. A pressão de operação desejada é regulada através da válvula V1 (Tescom Cat N° 26-1761-24-161). A bomba é alimentada com o solvente, que é então pressurizado a uma pressão pré-estabelecida em V1, e encaminhado à linha de extração, passando ao extrator, que constitui-se de um cilindro encamisado de aço inox com extremidades rosqueadas de 33,5 cm de comprimento, 2,042 cm de diâmetro

interno e volume interno de 100 mL. A temperatura de operação do extrator é mantida constante através de um banho termostático de aquecimento (Thermo Haake DC30 – B30). Toda a tubulação onde encontram-se conectadas as válvulas V1 a V6 é mantida submersa em um banho termostático de aquecimento (Microquímica, modelo MQBTZ99-20) a uma temperatura de 60 °C. A tubulação da saída do extrator é conectada à V3 (Sitec Microvalve 710.3012) e em seguida à V4 (Sitec Shutoff Valve 710.3010) por onde o fluxo de CO₂ é regulado. Após passar pela V4, o extrato é coletado em tubos âmbar, onde também é conectado um rotâmetro (ABB Automation Products 10 A 61) para medição do fluxo de CO₂, regulado na V3 e V4.

Essa unidade de ESC foi completamente desenvolvida e construída na Alemanha, na Technische Universität Hamburg-Harburg (TUHH), no Laboratório ‘Thermische Verfahrenstechnik’. A foto e o esquema da unidade de ESC-B são mostrados nas Figuras 7 e 8, respectivamente.

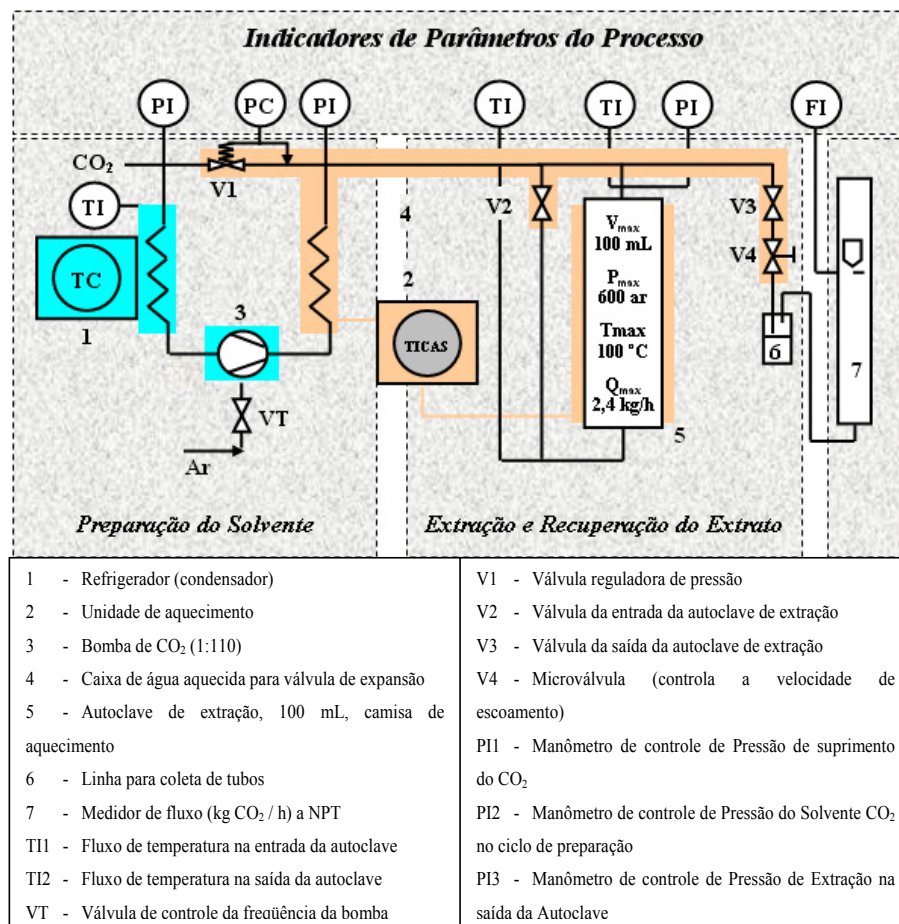


Figura 7 – Diagrama esquemático da unidade de ESC-B.



Figura 8 – Foto da unidade de ESC-B.

4.3.2 EXTRAÇÃO COM SOLVENTES ORGÂNICOS

4.3.2.1 Extração Sólido-Líquido com Maceração em Etanol seguida do Fracionamento com Solventes Orgânicos

Para a extração sólido-líquido com maceração em etanol seguida do fracionamento com solventes orgânicos (ESL) foram utilizados os seguintes solventes orgânicos: hexano, diclorometano e acetato de etila em ordem crescente de polaridade: $0,0 < 3,4 < 4,3$ para o fracionamento do extrato bruto que foi obtido a partir da maceração em etanol (polaridade de 5,2). Estes solventes foram escolhidos pois são os mais indicados na extração de óleo de matrizes vegetais. As características do solvente, como polaridade e afinidade pelo soluto vão definir a seletividade do processo, propriedade fundamental para o estudo da eficiência das extrações.

Uma quantidade de 100 gramas da matriz vegetal seca e triturada, conforme item 4.2.2 foi macerada em etanol, em uma proporção de 1:4 durante 5 dias. Após esta etapa, o extrato alcoólico foi filtrado e concentrado em rotaevaporador até 10% do volume. Ao extrato alcoólico concentrado foi adicionado 10% de volume de água e então novamente concentrou-se em rotaevaporador para retirada do etanol do extrato hidroalcoólico. O extrato resultante foi misturado a um volume de hexano até que a mistura ficasse branca (transparente). Esta mistura foi concentrada para retirada do hexano, então foi adicionado ao extrato sulfato de sódio anidro para retirada de vestígios de água e o extrato final foi novamente concentrado. Para os demais solventes, diclorometano e acetato de etila e realizou-se o mesmo procedimento. No fim da extração com solventes orgânicos foram obtidos 4 extratos: fração hexano, fração diclorometano, fração acetato de etila, e fração aquosa.

4.3.2.2 Extração Soxhlet

Os solventes utilizados foram o etanol e o hexano, de polaridades 5,2 e 0,0 respectivamente. A oleoresina foi obtida como segue: cinco gramas de folhas de alecrim de -20 +32 mesh e 150 mL de solvente foram colocados dentro de uma aparato Soxhlet (Figura 9) de 500 mL e mantido sob refluxo por 4 horas. O solvente foi removido usando um evaporador rotatório (Fisatom 802) com controle de vácuo (Nova Técnica, Modelo NT 613, Piracicaba, SP).

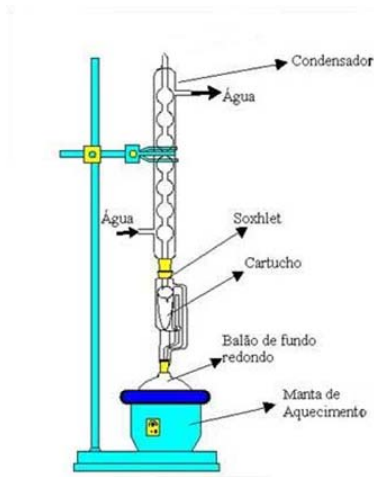


Figura 9 – Aparato completo para Extração Soxhlet.

4.4 CONDIÇÕES OPERACIONAIS

Realizaram-se experimentos de extração supercrítica em duplicata nas temperaturas de 30, 40 e 50 °C e pressões de 100, 200 e 300 bar. O solvente empregado foi o dióxido de carbono.

4.5 MODELAGEM MATEMÁTICA DAS CURVAS DE ESC

Foram empregados três modelos matemáticos: o modelo de CRANK (1975) apresentado por REVERCHON (1997); o modelo de SOVOVÁ (1994) e o modelo de MARTÍNEZ et al. (2003). Os programas para a modelagem das curvas de extração utilizando os três modelos descritos foram elaborados no LATESC com o software MATLAB R12 (CAMPOS et al., 2005).

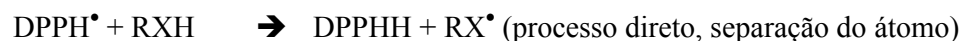
4.6 CARACTERIZAÇÃO DO EXTRATO DE ALECRIM

4.6.1 ANTIOXIDANTES

A avaliação da atividade antioxidante e a presença de fenólicos totais nos extratos de alecrim obtidos via extração supercrítica e soxhlet foram determinados no LATESC pelos métodos de determinação do radical DPPH e Folin-Denis, respectivamente.

4.6.1.1 Determinação do radical DPPH (1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl)

O radical DPPH tem sua absorção máxima em 517 nm. Quando este composto recebe um elétron ou um radical hidrogênio para se tornar um composto mais estável, sua absorção diminui.



A técnica constitui na incubação por 30 minutos a 37 °C do composto em análise em uma solução etanólica de DPPH na concentração de 0,3 mM, com posterior leitura da absorbância em 517 nm (MENSOR, 2001).

A solução estoque da amostra (1,0 mg/mL) será diluída em concentrações de 250, 125, 50, 25, 10 e 5 µg/mL.

O percentual de inibição da amostra testada sobre os radicais DPPH será calculado, convertendo em porcentagem de atividade antioxidante (AA) usando a seguinte fórmula:

$$AA\% = 100 - \left\{ \frac{[(Abs_{amostra} - Abs_{branco}) \times 100]}{Abs_{DPPH}} \right\} \quad (4.5)$$

4.6.1.2 Método de Folin-Denis

Este método baseia-se na redução em meio alcalino do reagente Folin-Denis (ácido fosfomolibdico + tungstato de sódio) pelos fenóis a molibdênio promovendo coloração azul, que é medido a 760 nm.

A metodologia descrita pelo método 9110 (AOAC, 1980) constitui-se, primeiro na preparação dos reagentes:

- Reativo de Folin-Denis: adicionar 750 mL de água destilada a uma mistura de 100 g de tungstato de sódio (Na₂WO₄.2H₂O), 20 g de ácido do fosfomolibdico e 50 mL de ácido ortofosfórico (H₃PO₄). Ferver em refluxo durante duas horas, esfriar e diluir para 1:1;

- Solução saturada de carbonato de sódio (Na_2CO_3): adicionar 350 g de carbonato de sódio a 1000 mL de água destilada a 80 °C. Esfriar durante toda a noite. Semear a solução supersaturada de cristais de $\text{Na}_2\text{CO}_3 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$;
- Solução padrão de ácido tânico: pesar acuradamente 0,1 g de ácido tânico e diluir para 100 mL com água destilada (Solução A). Transferir uma alíquota de 10 mL da solução A para um balão de 100 mL e completar o volume com água destilada (Solução B). Usar a solução B para montar a curva padrão.

Para a preparação da curva padrão, pipetar alíquotas de 1, 2, 4, 6, 8 e 10 mL da solução padrão de ácido tânico (B) para balões de 100 mL contendo 75 mL de água destilada. Adicionar 5 mL do reagente Folin-Denis e 10 mL da solução de carbonato de sódio, e diluir até a marca dos 100 mL com água destilada. Homogeneizar e deixar em repouso por 30 minutos. Filtrar e determinar a absorvância a 760 nm. As soluções adquirem coloração azul marinho cuja intensidade é proporcional a concentração de tanino.

Construir a curva padrão (absorvância *versus* concentração de taninos). A Tabela 2 apresenta a concentração de ácido tânico (mg) para cada alíquota (mL) da solução B pipetada para a construção da curva padrão.

Tabela 2 – Concentração de ácido tânico (mg) conforme alíquota da solução B.

Volume da Solução B (mL)	Concentração de ácido tânico (mg)
1	0,1
2	0,2
4	0,4
6	0,6
8	0,8
10	1,0

Para a execução do ensaio, diluir o extrato para 100 mL em balão volumétrico. Pipetar 1 mL dessa solução em outro balão de 100 mL. Pipetar 5 mL do reagente Folin-Denis e 10 mL da solução saturada de carbonato de sódio. Completar o volume com água destilada, homogeneizar e aguardar 30 minutos. Fazer um branco em paralelo.

Filtrar a amostra e o branco. Efetuar a leitura no espectrofotômetro (Spectronic Unicam, modelo Genesys 10 vis, Rochester, NY USA) a 760 nm.

Para o cálculo da quantidade de fenólicos (em TAE) emprega-se a seguinte equação:

$$Fenólicos\ Totais \left(\frac{g_{TAE}}{100g_{EXTRATO}} \right) = \frac{leitura(mg/mL) \times 10}{peso\ da\ amostra(g)} \quad (4.6)$$

onde: leitura = concentração de ácido tânico obtida do gráfico da curva padrão de ácido tânico referente à absorbância lida para a amostra.

4.6.2 ANÁLISE CROMATOGRÁFICA ACOPLADA COM ESPECTROMETRIA DE MASSAS

A composição química dos extratos de alecrim obtidos por extração supercrítica e extração soxhlet foi determinada utilizando um GC-MS (Cromatografo Gasoso Varian® CP-3800 acoplado ao Espectrômetro de Massas Saturn® 2000) equipado com uma coluna capilar CP-Sil 8 CB Low Bleed/MS (30 m x 0.25mm – filme 0.25µm). O Gás de Arraste foi o He (Fluxo Constante de 1 ml/min). A identificação dos compostos majoritários presentes nos extratos de alecrim foi feita por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-MS). As análises foram realizadas no Instituto de Pesquisas Tecnológicas de Blumenau (IPTB) na FURB (SC). A coluna foi aquecida a 60 °C por 3 min, programada a 5 °C/min até 220 °C, e mantida a 220 °C por 5 min. O extrato diluído em acetato de etila foi injetado a 250 °C. O software de gerenciamento foi Saturn® GC/MS Workstation 5.51.

A identificação das substâncias majoritárias foi baseada em (i) comparação do espectro de massa da substância com banco de dados do sistema GC-MS (Standard Reference Data Series do National Institute of Standard and Technology - NIST 98 MS Library), e (ii) índice de retenção. A quantificação da composição química dos extratos de alecrim obtidos por ESC e extração Soxhlet, foi feita pela proporção relativa às áreas obtidas para cada composto nos devidos cromatogramas.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 TESTES PRELIMINARES

Foram realizados testes preliminares com a finalidade de definir as condições de operação adequadas para a extração de óleo de alecrim com fluido supercrítico (FSC).

Em uma primeira etapa foi fixado o tamanho das partículas de acordo com o padrão utilizado no LATESC, o qual permite uma boa reprodutibilidade no empacotamento do leito, portanto, a granulometria de $-20 +32$ mesh foi utilizada em todos os experimentos nas unidades de ESC-A e B, com exceção, na unidade de ESC-B, dos testes para avaliação do efeito da granulometria no rendimento, onde foram empregadas granulometrias na faixa de -16 a $+80$ mesh, bem como partículas não trituradas. Para a unidade ESC-A, a quantidade de matéria-prima utilizada em cada experimento foi de 40 gramas e para a unidade ESC-B, 15 gramas.

A vazão de solvente (CO_2) foi um outro parâmetro previamente fixado. Para a unidade de ESC-A, utilizada para os experimentos de determinação da solubilidade preliminar, foram empregadas baixas vazões, na faixa de 0,910 a 1,478 g CO_2/min . Para a unidade de ESC-B, foi fixada a vazão de 5 g CO_2/min para todos os experimentos, exceto para os testes de avaliação da influência da vazão no rendimento, onde também foram empregadas as vazões de 8,33 e 11,67 g CO_2/min .

Pelo estudo do comportamento da extração do soluto com o tempo na unidade de ESC-B, verificou-se que um tempo de extração de 4 horas é suficiente para que a curva se aproxime bastante da etapa de taxa nula de extração, e portanto, um tempo de extração de 4 horas foi fixado para essa unidade. Já para a unidade de ESC-A, as extrações à baixas vazões foram executadas sem definição de tempo, até quase o esgotamento do soluto na matéria-prima, devido à necessidade de uma boa definição das etapas de extração para futura determinação da solubilidade.

A influência do tempo estático (TE – tempo de contato entra a fase solvente e sólida antes do início da extração) foi avaliada para as duas unidades de ESC. Para a unidade de ESC-A, a primeira etapa da curva de extração (CER) deve estar bem definida para que se possa determinar a solubilidade, e, sendo assim, foram realizados experimentos sem TE, e foi verificado que não há uma boa definição da etapa CER. Foram executados então experimentos com um TE de 3 horas, que resultaram em uma boa definição da etapa CER, e portanto, um TE de 3 horas foi estabelecido para a unidade de ESC-A. A diferença na definição da etapa CER para os experimentos sem TE e com TE de 3 horas pode ser vista no destaque da Figura 10 para a condição de extração de 100 bar e 30 °C e vazão de 1,165 e 1,205 gCO₂/min, respectivamente.

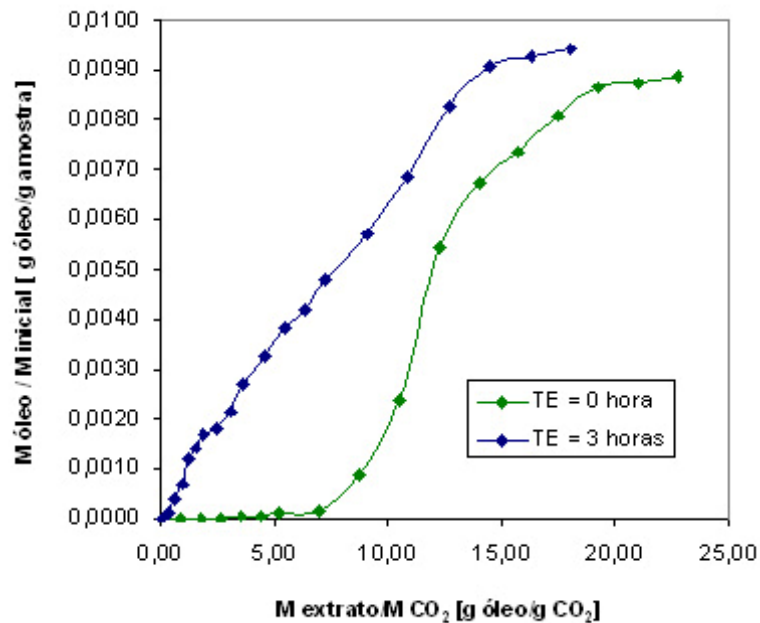


Figura 10 – Influência do TE de 0 e 3 horas no rendimento para ESC a 100 bar / 30 °C, granulometria de -20 +32 mesh e vazão de 1,165 e 1,205 g CO₂/min respectivamente.

Para a unidade de ESC-B foram realizados 04 experimentos na condição de 200 bar e 40 °C, fixada para esses testes devido à limitações no equipamento, 5 g CO₂/min, com TE's de 0, 1, 2 e 3 horas, respectivamente, para a avaliação da influência do TE no rendimento de extração. Como pode ser observado na Figura 11, o TE

apresentou pouca influência no rendimento de extração, e portanto, optou-se por não utilizar TE nos experimentos posteriormente executados na unidade de ESC-B.

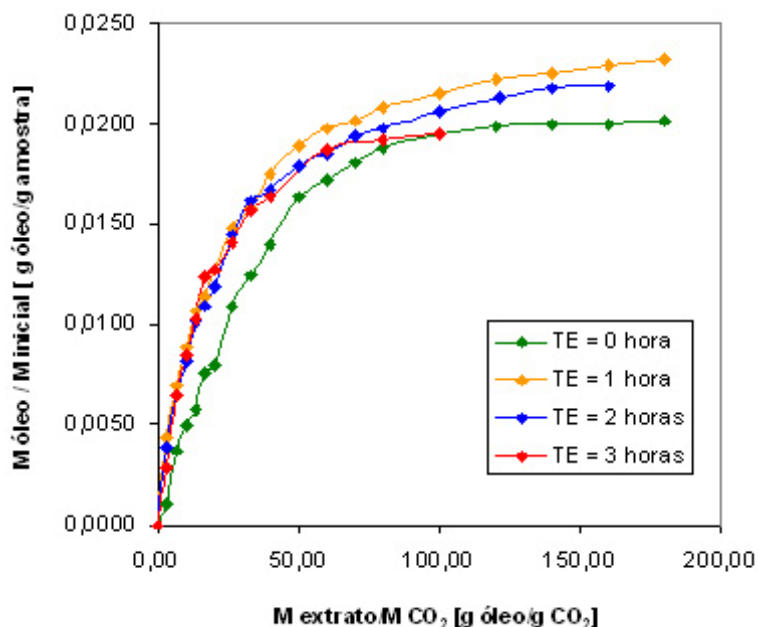


Figura 11 – Influência do TE no rendimento para ESC a 200 bar / 40 °C, 5 g CO₂/min e granulometria de -20 +32 mesh.

5.2 CARACTERIZAÇÃO DA MATÉRIA-PRIMA

Para a caracterização do leito de partículas, foram determinadas características como a umidade da amostra, e, para a modelagem matemática do processo, a densidade real (d_r), aparente (d_a), diâmetro médio das partículas e a porosidade (ϵ).

5.2.1 DETERMINAÇÃO DO TEOR DE UMIDADE

Para a determinação da umidade da matéria-prima utilizada nos experimentos, foram realizados dois experimentos em triplicata de acordo com a metodologia

apresentada no item 4.2.1. Pelo emprego da Equação 4.1 pode-se obter os valores de umidade, e assim, a matéria-prima apresentou um valor médio de 9,6 % de umidade.

5.2.2 DETERMINAÇÃO DO DIÂMETRO MÉDIO DAS PARTÍCULAS

Conforme citado anteriormente (Seção 4.2.3), as amostras de folhas de alecrim moídas e peneiradas (granulometria -20 +32 mesh) foram analisadas por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) afim de determinar o diâmetro médio dessas partículas.

A Figura 12 apresenta as fotografias obtidas na MEV com um aumento de 20 vezes (*a* e *b*), 21 e 98 vezes (*c* e *d*, respectivamente).

Fica claro que as partículas não apresentam forma esférica, e sendo assim, o diâmetro médio das partículas foi obtido pelo uso da Equação 4.2, que resulta em um diâmetro de 1,142 mm, equivalente ao de uma esfera, para que se possa caracterizar o leito de sólidos utilizado nos experimentos.

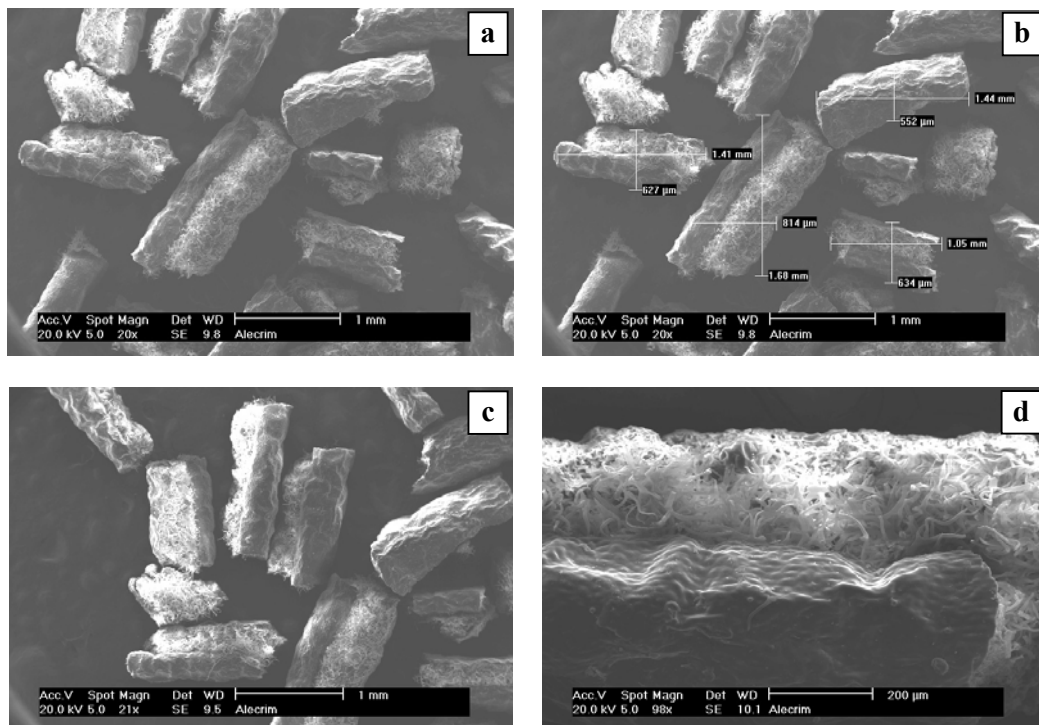


Figura 12 – Fotografias da amostra de alecrim -20 + 32 mesh obtida por MEV.

5.2.3 DETERMINAÇÃO DA DENSIDADE REAL OU ABSOLUTA (d_r)

A densidade real da amostra de alecrim com granulometria $-20 +32$ mesh foi determinada por Picnometria a Gás Hélio, como citado na Seção 4.2.4. A densidade real (d_r) obtida no experimento foi de $1,33 \pm 0,01$ g/cm³.

5.2.4 DETERMINAÇÃO DA DENSIDADE APARENTE (d_a)

A densidade aparente é a relação entre a massa de alecrim utilizada para formar o leito de partículas e o volume do extrator, e, sendo assim apenas os poros do leito (não os poros das partículas) estão incluídos. Portanto, pelo emprego da Equação 4.3 determinou-se a densidade aparente de $0,3348$ g/cm³ da amostra de alecrim (granulometria $-20 +32$ mesh).

5.2.5 DETERMINAÇÃO DA POROSIDADE TOTAL DO LEITO DE PARTÍCULAS (ϵ)

Uma vez determinados os valores da densidade real e aparente das partículas, foi possível o cálculo da porosidade do leito de partículas (ϵ) pela aplicação da Equação 4.4, que para a unidade de ESC-B foi de $0,7483$.

A Tabela 3 apresenta os dados característicos da matéria-prima utilizada nos experimentos descritos e do leito de partículas.

Tabela 3 – Dados característicos da matéria-prima e leito de partículas.

Umidade (%)	Diâmetro médio (mm)	Densidade real (g/cm ³)	Densidade aparente (g/cm ³)	Porosidade* (ϵ)
9,6	1,142	$1,33 \pm 0,01$	0,3348	0,7483

* Porosidade referente à unidade de ESC-B.

5.3 INVERSÃO DAS ISOTERMAS DE RENDIMENTO

Segundo CARVALHO-JUNIOR et al. (2003) há dois principais efeitos da temperatura sobre a solubilidade e rendimento, a pressão de vapor do soluto e a densidade do solvente. Para pressões inferiores ao ponto da inversão das isotermas, o efeito dominante é o da densidade do solvente e para pressões superiores, o efeito da pressão de vapor do soluto é dominante.

A Figura 13 apresenta o gráfico de inversão das isotermas de rendimento na pressão de 165 bar para a amostra de alecrim utilizada no trabalho. Para pressões inferiores a 165 bar, a densidade do CO₂ diminui bruscamente com o aumento da temperatura. Conseqüentemente, a solubilidade do extrato de alecrim, e logo o rendimento de extração diminui e o fenômeno de retrogradação é observado. Para pressões de 165 bar, os dois efeitos de temperatura na solubilidade apresentam importância similar. Para pressões superiores a 165 bar, o aumento na pressão de vapor do soluto com a temperatura é mais importante que a diminuição da densidade do solvente.

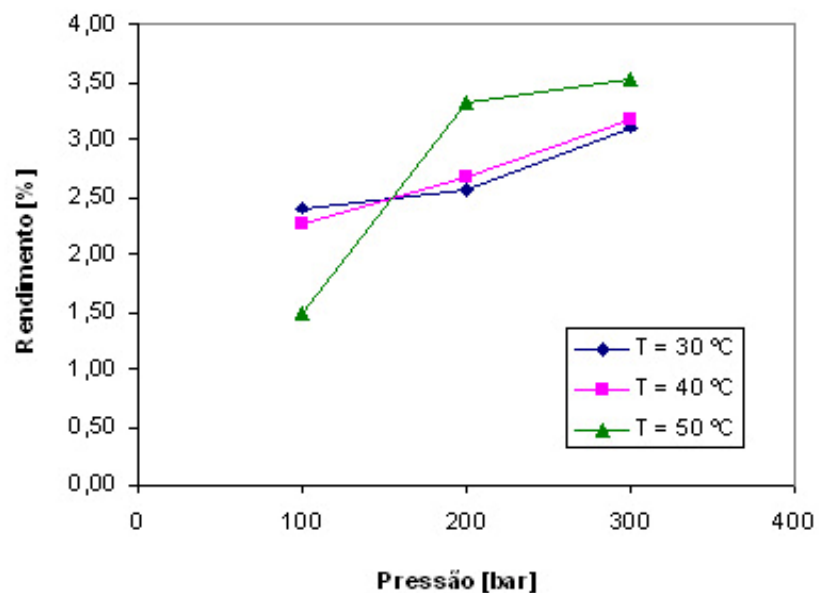


Figura 13 – Gráfico da inversão das isotermas de rendimento para ESC de alecrim.

O fenômeno da retrogradação foi observado por vários autores. CARVALHO-JUNIOR et al. (2003) observaram o efeito de inversão das isothermas para o alecrim na pressão de 177 bar (40 e 50°C). Os valores obtidos são próximos nos dois casos (165 e 177 bar), e a diferença pode ter ocorrido devido à diferenças na procedência da matéria-prima e nos equipamentos utilizados.

FERREIRA (1996) observou a inversão das isothermas para o óleo de pimenta do reino ocorreu em aproximadamente 170 bar (30 e 40°C). DANIELSKI (2002) observou que, para as oleoresinas de cavalinha (20 e 30°C) e carqueja (30 e 40°C), respectivamente, a inversão ocorreu nesta mesma faixa de pressão. MICHIELIN et al. (2005) observaram a inversão das isothermas (30 e 40°C) para a oleoresina de cavalinha entre 120 e 150 bar.

5.4 DETERMINAÇÃO DA SOLUBILIDADE PRELIMINAR

A solubilidade é a relação entre a massa de extrato obtido e a massa de solvente utilizado. É obtida a partir das curvas de extração, através das inclinação obtida na etapa de taxa constante de extração (CER), onde a massa de soluto obtido permanece constante com o tempo (DANIELSKI, 2002). Com o uso do programa computacional SAS, foram determinadas as solubilidades experimentais preliminares do óleo de alecrim no dióxido de carbono supercrítico, como citado na Seção 4.3.1.1.1. Os dados das curvas de extração da unidade ESC-A, utilizados para a determinação da solubilidade estão apresentados no Anexo II-A.

A faixa de vazão do solvente utilizada nos experimentos da unidade ESC-A para a determinação da solubilidade foram de 0,9 a 1,4 gCO₂/min, que, segundo DANIELSKI (2002) é a faixa de vazão apropriada para a determinação da solubilidade da calêndula (*Calendula officinalis* L.).

Os dados obtidos pelo SAS estão apresentados no Anexo III-A, e na Tabela 4, encontram-se os valores obtidos de solubilidade para as condições de operação testadas conforme as limitações da unidade ESC-A.

Pela análise da Tabela 4, conclui-se que o maior valor de solubilidade encontrado foi de $22,7 \times 10^{-4}$ g_{óleo}/gCO₂, obtido nas condições de 200 bar/50 °C e vazão média de 0,910 gCO₂/min.

Com o aumento da pressão, à temperatura constante, pode-se observar um aumento na solubilidade. Isso deve-se ao fato de que com o aumento isotérmico da pressão, ocorre um aumento na densidade do solvente, e portanto, no seu poder de solvatação, aumentando assim a solubilidade.

Tabela 4 – Dados experimentais de solubilidade preliminar para as condições de operação.

Temperatura (°C)	Pressão (bar)	Vazão CO ₂ (gCO ₂ /min)	Densidade CO ₂ * (g/cm ³)	Solubilidade ** (g _{óleo} /gCO ₂)
30	100	1,205	0,7721	$6,29 \times 10^{-4}$
30	200	1,135	0,8912	$20,2 \times 10^{-4}$
40	100	1,425	0,6298	$3,91 \times 10^{-4}$
40	200	1,084	0,8406	$22,0 \times 10^{-4}$
50	100	1,478	0,3853	$1,86 \times 10^{-4}$
50	200	0,910	0,7851	$22,7 \times 10^{-4}$

* Determinada de acordo com ANGUS et al. (1976).

** Solubilidade preliminar.

Na mesma Tabela, observa-se que, um aumento isobárico na temperatura do sistema promove uma diminuição na densidade do solvente. Segundo JOCHMANN (2000), com um aumento na temperatura, ocorre também um aumento na pressão de vapor do soluto, e esses dois efeitos, densidade do solvente e pressão de vapor do soluto, são contrários. Portanto, o comportamento da curva de extração com a influência da temperatura, à pressão constante, é ditado pelo efeito dominante sobre o poder de solvatação do solvente.

Como citado na Seção 5.3, para pressões inferiores à 165 bar o efeito dominante é o da densidade do solvente, ou seja, a solubilidade deve aumentar com o decréscimo da temperatura, e portanto, aumento da densidade do solvente. Já para pressões

superiores à 165 bar, o efeito dominante é o da pressão de vapor do soluto, e sendo assim, a solubilidade deve aumentar com o aumento da temperatura, e portanto, decréscimo da densidade do solvente.

Portanto, pode-se notar pela análise da Tabela 4 que, para a pressão de 100 bar (inferior à 165 bar), a solubilidade aumenta com o decréscimo da temperatura, e, para a pressão de 200 bar (superior à 165 bar) a solubilidade aumenta com o aumento da temperatura, comprovando o fenômeno de retrogradação, representando assim a influência da pressão de vapor do soluto e da densidade do solvente na solubilidade do óleo de alecrim no fluido supercrítico e no rendimento global da ESC.

5.5 INFLUÊNCIA DOS PARÂMETROS DE PROCESSO NO RENDIMENTO

Nas Tabelas 5 e 6 estão apresentados os rendimentos médios de extrato de alecrim em % peso, obtidos nas extrações realizadas nas unidades ESC-A e ESC-B, respectivamente. Os dados serão discutidos a seguir.

Tabela 5 – Dados experimentais para as condições de operação realizadas na unidade ESC-A.

Nº *	T *	P *	Vazão CO ₂	G *	ρ CO ₂ **	Rendimento
	(°C)	(bar)	(gCO ₂ /min)	(mesh)	(g/cm ³)	(%)
1	30	100	1,205	-20 +32	0,7721	0,94
2	30	200	1,135	-20 +32	0,8912	1,10
3	40	100	1,425	-20 +32	0,6298	0,62
4	40	200	1,084	-20 +32	0,8406	1,04
5	50	100	1,478	-20 +32	0,3853	0,29
6	50	200	0,910	-20 +32	0,7851	1,53

* Nº: número do experimento; T: temperatura de operação; P: pressão de operação; G: granulometria.

** Determinada de acordo com ANGUS et al. (1976).

Tabela 6 – Dados experimentais para as condições de operação realizadas na unidade ESC-B.

Nº *	T *	P *	Vazão CO ₂	G *	ρ CO ₂ **	Rendimento
	(°C)	(bar)	(gCO ₂ /min)	(mesh)	(g/cm ³)	(%)
7	30	100	5	-20 +32	0,7721	2,41
8	30	200	5	-20 +32	0,8912	2,56
9	30	300	5	-20 +32	0,9486	3,10
10	40	100	5	-20 +32	0,6298	2,27
11	40	200	5	-20 +32	0,8406	2,66
12	40	200	8,33	-20 +32	0,8406	3,17
13	40	200	11,67	-20 +32	0,8406	3,58
14	40	200	5	-32 +48	0,8406	2,99
15	40	200	5	-48 +80	0,8406	3,93
16	40	200	5	-16 +20	0,8406	2,07
17	40	200	5	Não moído	0,8406	1,62
18	40	300	5	-20 +32	0,9106	3,18
19	50	100	5	-20 +32	0,3853	1,50
20	50	200	5	-20 +32	0,7851	3,32
21	50	300	5	-20 +32	0,8712	3,52

* Nº: número do experimento; T: temperatura de operação; P: pressão de operação; G: granulometria.

** Determinada de acordo com ANGUS et al. (1976).

A influência da temperatura de extração, pressão de extração, tamanho das partículas (granulometria) e vazão de solvente no rendimento global de extração são discutidas a seguir.

5.5.1 INFLUÊNCIA DA TEMPERATURA NO RENDIMENTO GLOBAL DE EXTRAÇÃO

Como já foi citado nas Seções 5.3 e 5.4, a pressão de vapor do soluto e a densidade do solvente são os dois principais efeitos da temperatura sobre a solubilidade e rendimento.

Para a unidade ESC-B, como pode ser observado na Figura 14 e na Tabela 6 (experimentos do nº 1 ao 5 e 12 ao 15), para a condição de pressão de 100 bar, e portanto, pressão inferior àquela onde ocorre a inversão das isotermas, o rendimento aumenta com o decréscimo da temperatura, devido à influência predominante do efeito da densidade do solvente, que aumenta com o decréscimo da temperatura, aumentando o poder de solvatação do CO₂.

As Figuras 14 a 16 e a Tabela 6 (experimentos do nº 7 ao 11 e 18 ao 21) apresentam o efeito da temperatura para as pressões de 200 e 300 bar também para a unidade ESC-B, respectivamente. Ambas as pressões estão acima do ponto de inversão das isotermas, onde o efeito predominante é o da pressão de vapor do soluto, e portanto, o rendimento aumenta com o aumento da temperatura.

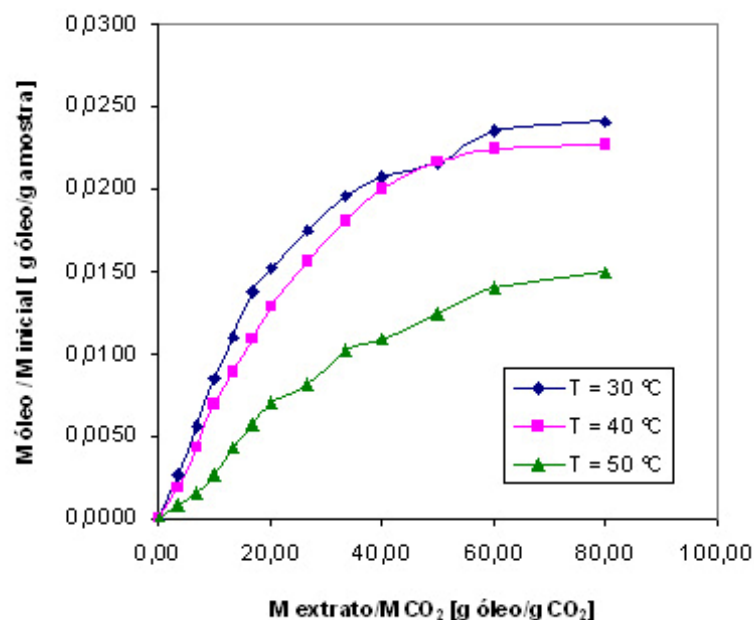


Figura 14 – Gráfico da influência da temperatura no rendimento para ESC à 100 bar.

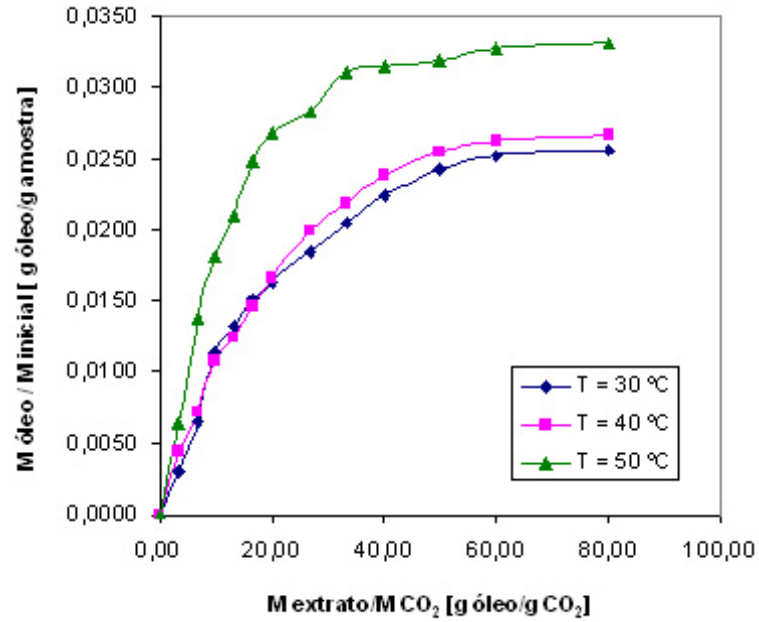


Figura 15 – Gráfico da influência da temperatura no rendimento para ESC à 200 bar.

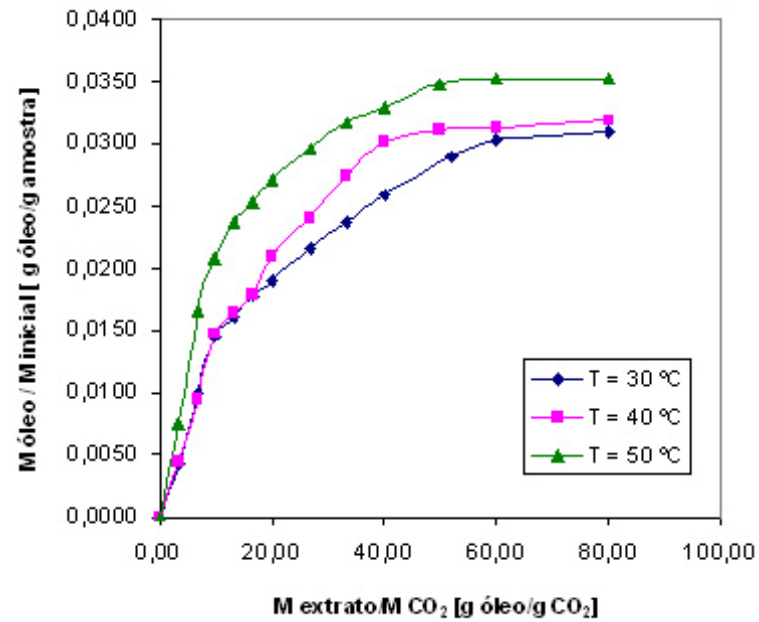


Figura 16 – Gráfico da influência da temperatura no rendimento para ESC à 300 bar.

Para a unidade ESC-A, foi observado um comportamento semelhante ao citado acima. O rendimento aumenta com o decréscimo da temperatura para a pressão de 100

bar, e com o acréscimo da temperatura para a pressão de 200 bar, exceto nos experimentos 2 e 4 (Tabela 5), onde, na condição de 200 bar, houve uma pequena diminuição no rendimento quando a temperatura passou de 30 °C para 40 °C, que pode ser devida às diferenças (devida às dificuldades no controle da vazão de CO₂ na unidade de ESC-A) nas vazões de solvente utilizadas nos dois experimentos.

5.5.2 INFLUÊNCIA DA PRESSÃO NO RENDIMENTO GLOBAL DE EXTRAÇÃO

Um aumento na pressão do sistema, à temperatura constante, ocorre um aumento na solubilidade, devido ao aumento na densidade do solvente, e conseqüentemente no seu poder de solvatação.

Para a unidade ESC-B, pode ser observado o aumento do rendimento com o aumento da pressão nas Figuras 17, 18 e 19, para as condições de 30, 40 e 50 °C, respectivamente, e na Tabela 6 (experimentos do nº 7 ao 11 e 18 ao 21). Para unidade ESC-A, pela análise da Tabela 5 o mesmo comportamento é observado.

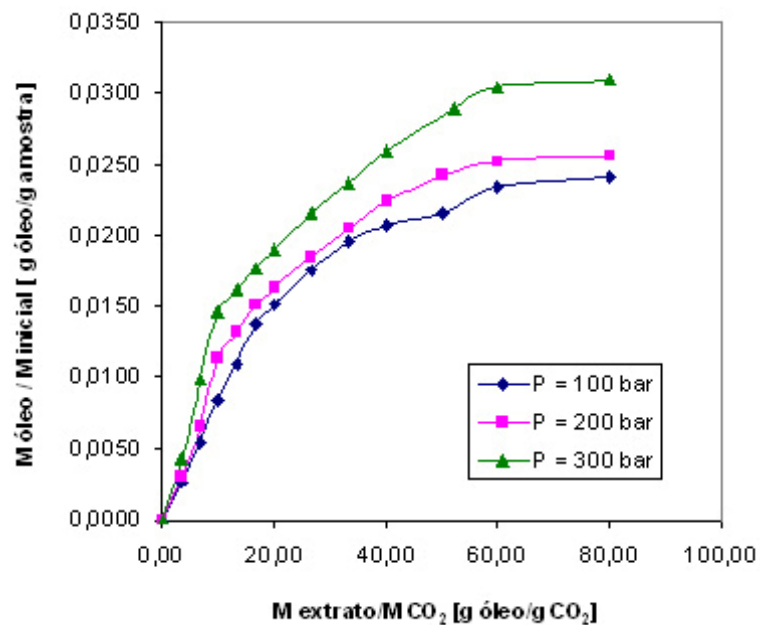


Figura 17 – Gráfico da influência da pressão no rendimento para ESC à 30 °C.

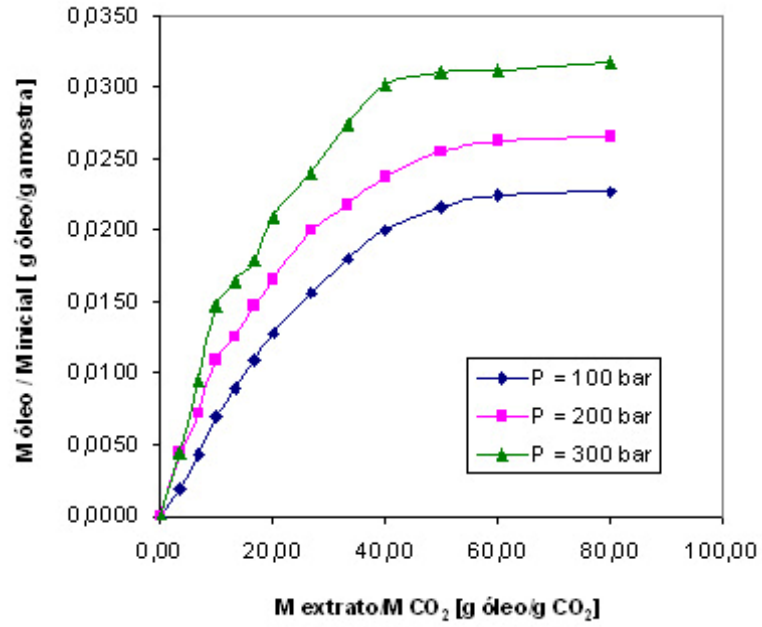


Figura 18 – Gráfico da influência da pressão no rendimento para ESC à 40 °C.

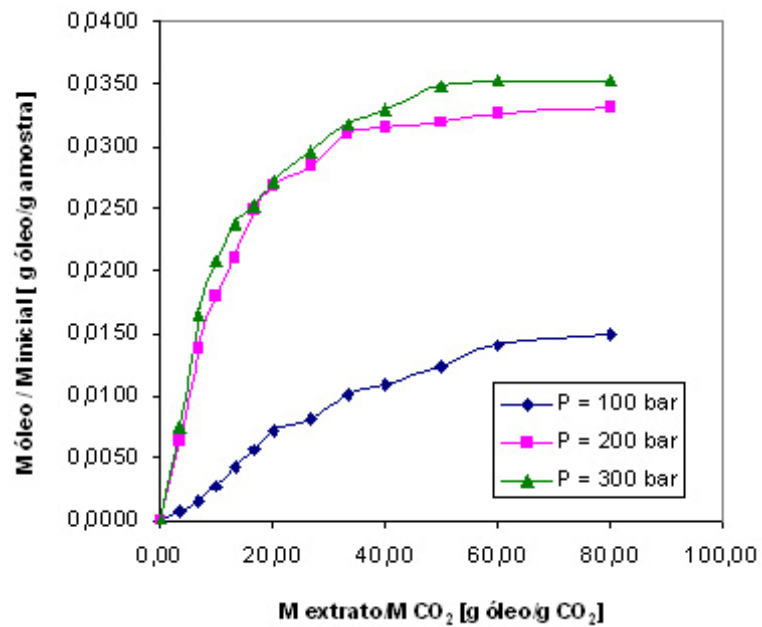


Figura 19 – Gráfico da influência da pressão no rendimento para ESC à 50 °C.

5.5.3 INFLUÊNCIA DA GRANULOMETRIA NO RENDIMENTO GLOBAL DE EXTRAÇÃO

A influência da granulometria das partículas no rendimento de extração foi avaliada na unidade ESC-B, na condição de operação de 200 bar / 40 °C e vazão de 5 g CO₂/min. Essa foi a condição fixada devido às limitações do equipamento no momento da execução desses testes, que impediu o emprego de pressões superiores.

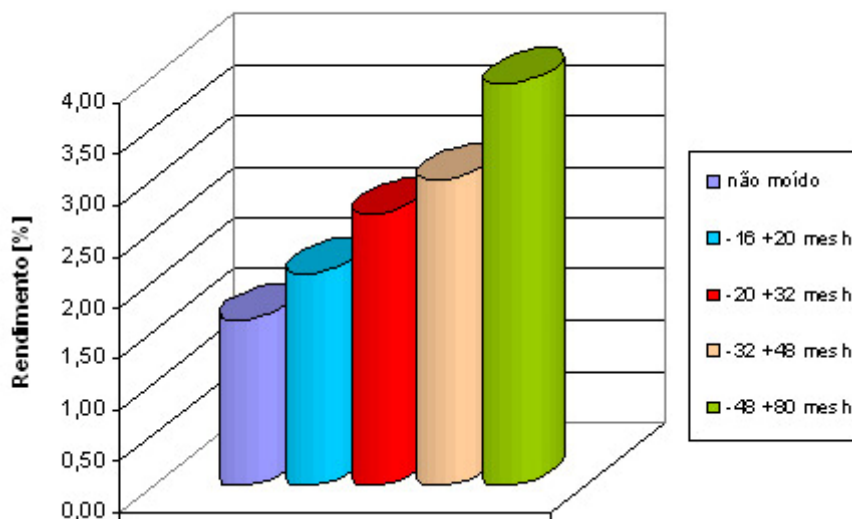


Figura 20 – Gráfico da influência da granulometria no rendimento para ESC à 200 bar / 40 °C.

Analisando a Figura 20 e a Tabela 6 (experimentos n° 11 e 14-17) pode-se concluir que, como já era previsto, quanto menor o tamanho das partículas, maior o rendimento de extração obtido. Isso acontece porque um menor tamanho de partículas promove uma maior área de exposição do soluto ao solvente.

5.5.4 INFLUÊNCIA DA VAZÃO DE SOLVENTE NO RENDIMENTO GLOBAL DE EXTRAÇÃO

Na Tabela 6 (experimentos do n° 11 ao 13) e na Figura 21 pode ser observada a influência da vazão do solvente no rendimento de extração, na condição de 200 bar e 40°C. Para esses experimentos, essa foi a condição fixada, da mesma forma que na

Seção 5.5.3, devido às limitações do equipamento no momento da execução desses testes, que impediu o emprego de pressões superiores.

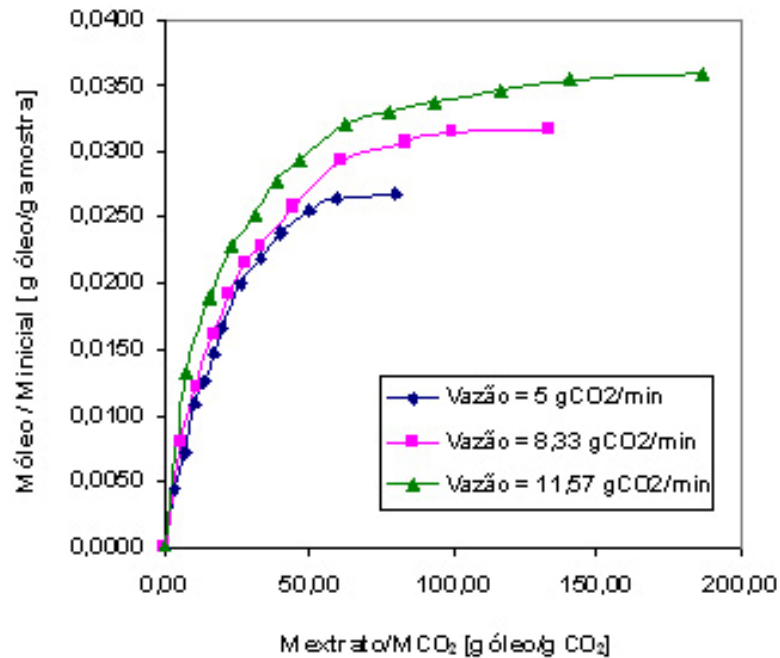


Figura 21 – Gráfico da influência da vazão do solvente no rendimento para ESC à 200 bar / 40 °C.

Os resultados indicam que um aumento na vazão do solvente acarreta um aumento no rendimento global de extração, devido à maior diferença no gradiente de concentração entre as fases soluto e solvente.

JOCHMANN (2000) sugere que o aumento no rendimento para a condição de maior vazão ocorre pelo fato de que o aumento na velocidade do solvente diminui a espessura do filme externo em torno das partículas, que é uma resistência à transferência de massa, e também pelo fato do aumento do gradiente de concentração entre o sólido e o solvente, já que há uma maior quantidade de solvente por unidade de tempo percorrendo o extrator, o que aumenta a quantidade de extrato na saída do extrator.

O comportamento do aumento do rendimento com o aumento da vazão de solvente também foi observado por REVERCHON et al. (2000), MICHIELIN (2002) e WEINHOLD (2003).

5.6 MODELAGEM DAS CURVAS DE ESC

Para a descrição das curvas de extração obtidas na unidade de ESC-B nas condições de 200 e 300 bar; 30, 40 e 50 °C; vazão de solvente de 5 gCO₂/min e granulometria -20 +32 mesh, foram utilizados três modelos: o de CRANK (1975), o de SOVOVÁ (1994) e o de MARTÍNEZ et al. (2003), apresentados nos Anexos I-A, I-B e I-C, respectivamente.

Para a modelagem do processo de extração, em especial na aplicação do modelo de Sovová, é necessário o conhecimento de variáveis do processo, tais como a solubilidade (Tabela 4 – Seção 5.4), densidade do solvente (Tabela 6 – Seção 5.5), dados específicos da matéria-prima e do leito da partícula já citados anteriormente, e apresentados novamente na Tabela 7, e ainda, dados específicos da curva de extração a ser modelada, tais como o X_0 (teor inicial de óleo presente na matriz sólida), t_{CER} (tempo de duração da etapa CER), M_{CER} (taxa de extração de óleo na etapa CER), entre outros.

Da mesma forma como foi citado por MICHIELIN (2002), o valor de X_0 é determinado considerando-se que a massa acumulada total obtida na extração equivale a 90% do teor inicial de óleo presente na matriz sólida, uma vez que todas as curvas atingem a proximidade da etapa de taxa nula de extração.

Pelo ajuste das curvas de extração através do emprego do pacote estatístico SAS foram obtidos os valores de t_{CER} (referente ao knot1 do SAS) e M_{CER} (referente ao b1 do SAS). Os dados das curvas de extração utilizados na determinação desses dados estão apresentados no Anexo II-B, e os dados obtidos do SAS no Anexo III-B.

Uma vez obtido o valor de t_{CER} , pelo emprego da Equação IB.11 na Equação IB.10, apresentadas no Anexo I-B, obtém-se o valor de X_p , que corresponde ao óleo de fácil acesso, e, inserindo esse valor na Equação IB.12, o valor de X_k (óleo de difícil acesso) é obtido.

Com o valor do parâmetro M_{CER} , também obtido pelo SAS, obtém-se o valor de Y_{CER} (concentração de soluto na fase solvente para a etapa CER) pelo uso da Equação IB.9 (Anexo I-B).

Na Tabela 8 estão apresentados os valores dos parâmetros do modelo de Sovová citados acima nas condições de extração modeladas.

As equações dos modelos utilizados foram solucionadas através do programa MATLAB R12 (CAMPOS et al., 2005). Os parâmetros ajustáveis para o modelo de Martínez et al. (b e tm) e o modelo de Crank (D) estão apresentados na Tabela 9.

Tabela 7 – Dados utilizados no modelo de Sovová, constantes para os experimentos.

t_{FINAL} (min)	dr (g/m ³)	ε	H_b (m)	r (m)
240	1330000	0,7483	0,335	0,01021

Tabela 8 – Parâmetros do modelo de Sovová para as diferentes condições de extração modeladas.

Condição (bar / °C)	$X_o \times 10^2$ (g _{óleo} /g _{sólido})	$M_{CER} \times 10^3$ (g/min)	$Y_{CER} \times 10^4$ (g/g)	t_{CER} (min)	$X_k \times 10^2$ (g/g)	$X_p \times 10^2$ (g/g)	$K_{YA} \times 10^2$ (min ⁻¹)	$K_{XA} \times 10^2$ (min ⁻¹)
200 / 30	2,9278	4,29	8,58	64,20	1,95	0,976	2,83	0,201
200 / 40	3,0511	3,66	7,32	83,99	2,03	1,018	2,19	0,164
200 / 50	3,8289	8,06	16,12	48,22	1,98	1,845	7,19	0,288
300 / 30	3,5614	6,40	12,80	42,98	2,46	1,102	3,99	0,246
300 / 40	3,6649	5,19	10,38	71,05	2,32	1,342	3,06	0,194
300 / 50	4,0740	9,13	18,26	42,26	1,94	2,131	8,53	0,307

Tabela 9 – Parâmetros ajustáveis do modelo de Crank (D) e Martínez et al. (b e t_m) para as condições de extração modeladas.

Condição (bar / °C)	$b \times 10^3$ (min ⁻¹)	t_m (min)	$D \times 10^{10}$ (m ² /min)
200 / 30	19,4	-81.6552	8,677
200 / 40	20,8	-43.1016	8,602
200 / 50	28,1	-70.1639	12,464
300 / 30	17,5	-168.9876	8,237
300 / 40	22,9	-37.6795	9,298
300 / 50	27,1	-140.3030	12,551

Para todas as condições modeladas com o uso dos dados obtidos da curva experimental, os modelos de Crank e Martínez et al. apresentaram um bom ajuste dos dados experimentais. O modelo de Sovová não apresentou um bom ajuste. Verificou-se que, na Equação IB.9, alterando-se o valor da vazão de CO₂, sem variar o valor de M_{CER} , já que este valor é obtido da própria curva experimental, não sendo plausível sua alteração, obtém-se um novo valor de para Y_{CER} , já definido acima. Dessa forma, empregando um valor estimado para a vazão de solvente, um melhor ajuste dos dados experimentais foi obtido, definindo para fins de diferenciação como Sovová *. Os novos valores estimados em cada condição para a vazão e conseqüentemente para alguns parâmetros estão apresentados na Tabela 10.

Tabela 10 – Dados estimados de vazão para o modelo de Sovová *.

Condição (bar / °C)	Vazão CO ₂ (g/min)	$Y_{CER} \times 10^4$ (g/g)	$X_k \times 10^2$ (g/g)	$X_p \times 10^2$ (g/g)	$K_{XA} \times 10^2$ (min ⁻¹)	$K_{YA} \times 10^2$ (min ⁻¹)
200 / 30	2,26	19,00	0,68	2,251	0,201	6,52
200 / 40	1,76	20,82	0,46	2,587	0,164	5,58
200 / 50	3,93	20,52	1,09	2,743	0,288	10,68
300 / 30	3,08	20,80	1,53	2,027	0,246	7,33
300 / 40	2,45	21,18	0,76	2,909	0,194	6,63
300 / 50	4,45	20,50	1,36	2,715	0,307	10,87

A Tabela 11 apresenta os erros médios quadráticos obtidos em cada condição para cada modelo.

O erro médio quadrático é uma medida do desvio dos valores calculados em relação aos valores originais. É estimado tomando-se uma amostra dos valores calculados e comparando-a com seus valores reais. As diferenças entre elas são então elevadas ao quadrado e somadas. A soma é então dividida pelo número de medidas, para que se obtenha a média cuja raiz quadrada fornece uma medida característica de erro na mesma unidade das medidas originais. O erro médio quadrático é diretamente comparável ao conceito de desvio padrão.

Tabela 11 – Erro médio quadrático obtido nos modelos empregados.

Condição (bar / °C)	Martínez et al. (x 10 ³)	Crank (x 10 ³)	Sovová (x 10 ³)	Sovová * (x 10 ⁴)
200 / 30	0,0924	0,2802	0,9559	0,4323
200 / 40	0,0605	0,2901	1,2453	0,6000
200 / 50	0,0802	0,3255	0,9985	0,6445
300 / 30	0,1624	0,2577	0,7981	0,4028
300 / 40	0,1155	0,3597	1,3208	0,6656
300 / 50	0,1476	0,2778	0,8805	0,6861

As Figuras 22 a 27 apresentam para as condições de 200 bar/30 °C, 200 bar/40 °C, 200 bar/50 °C, 300 bar/30 °C, 300 bar/40 °C e 300 bar/50 °C respectivamente, os gráficos das curvas em função da massa de óleo acumulada (g) *versus* o tempo de extração (s) e os modelos empregados.

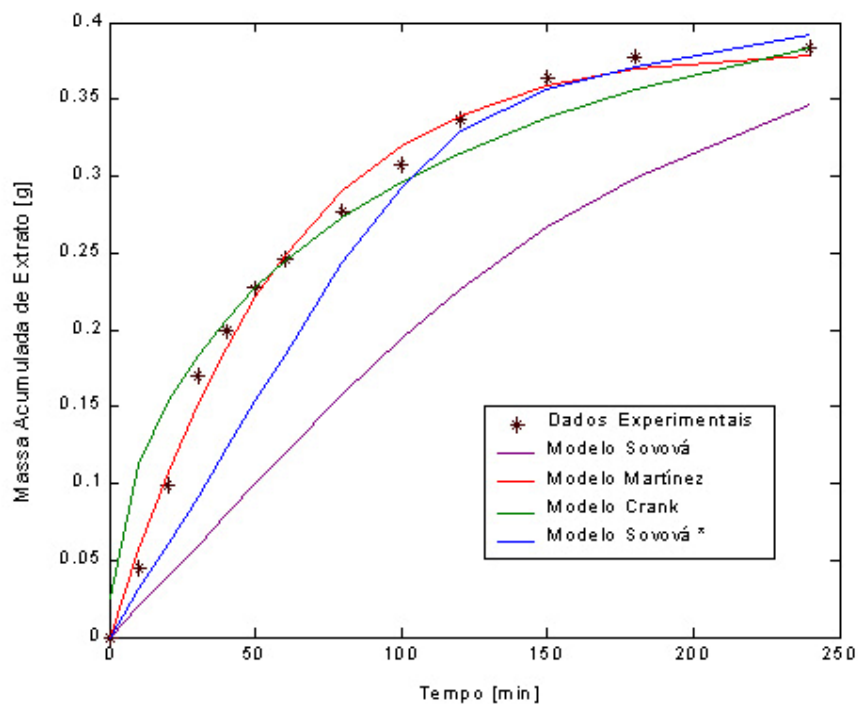


Figura 22 – Modelagem da curva total de ESC 200 bar/ 30 °C.

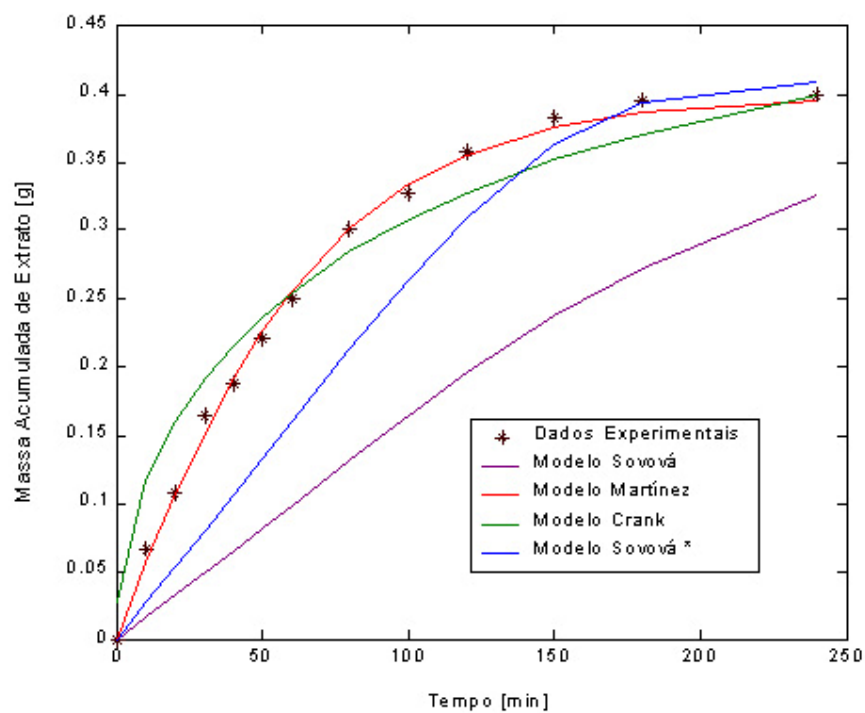


Figura 23 – Modelagem da curva total de ESC 200 bar/ 40 °C.

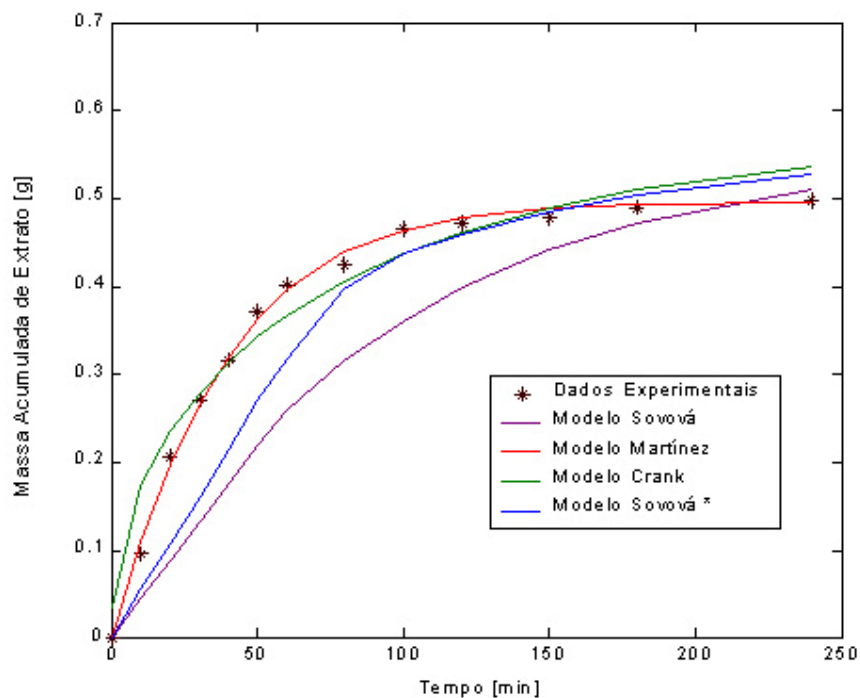


Figura 24 – Modelagem da curva total de ESC 200 bar/ 50 °C.

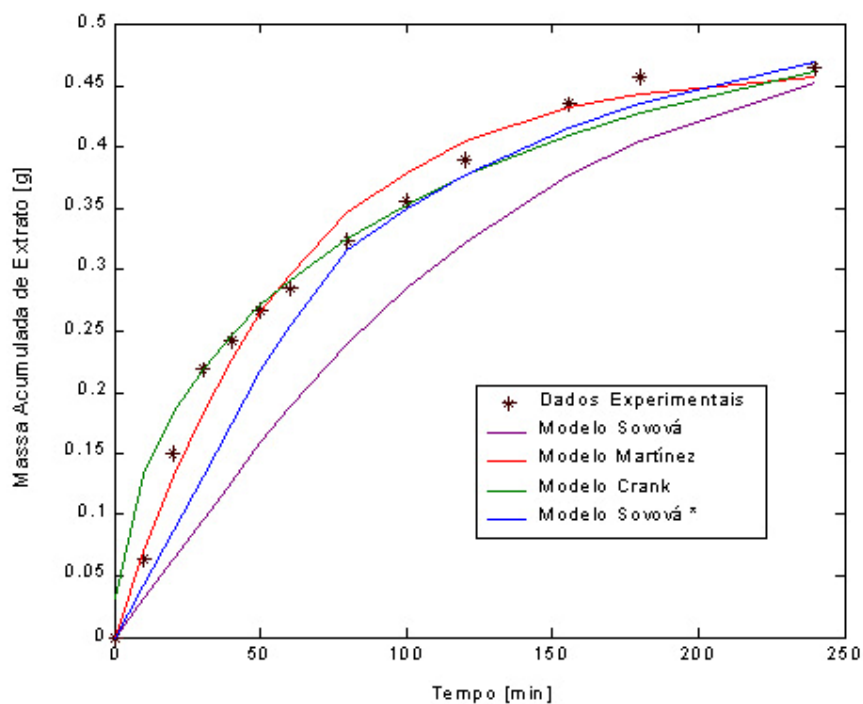


Figura 25 – Modelagem da curva total de ESC 300 bar/ 30 °C.

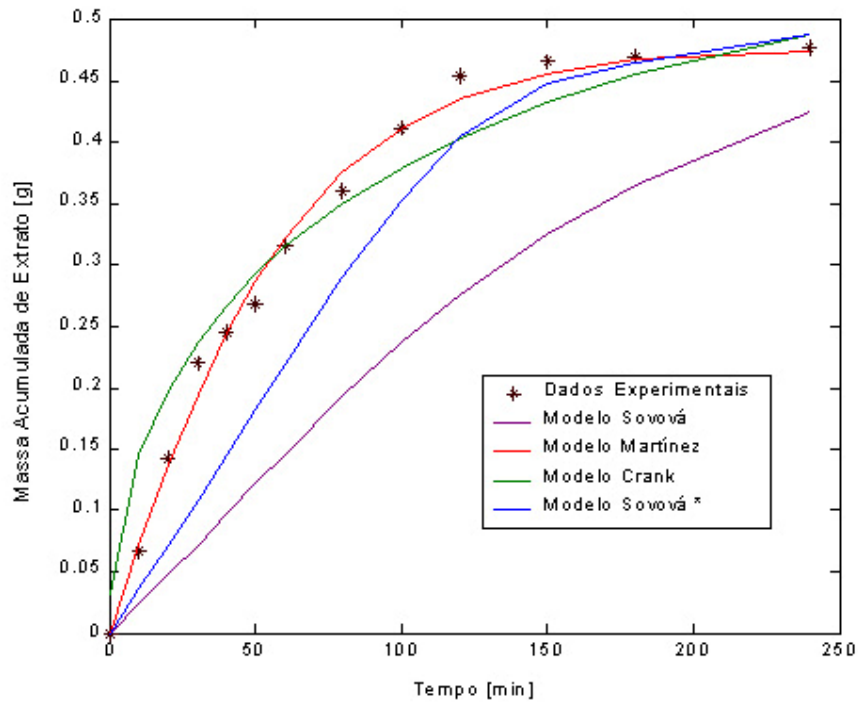


Figura 26 – Modelagem da curva total de ESC 300 bar/ 40 °C.

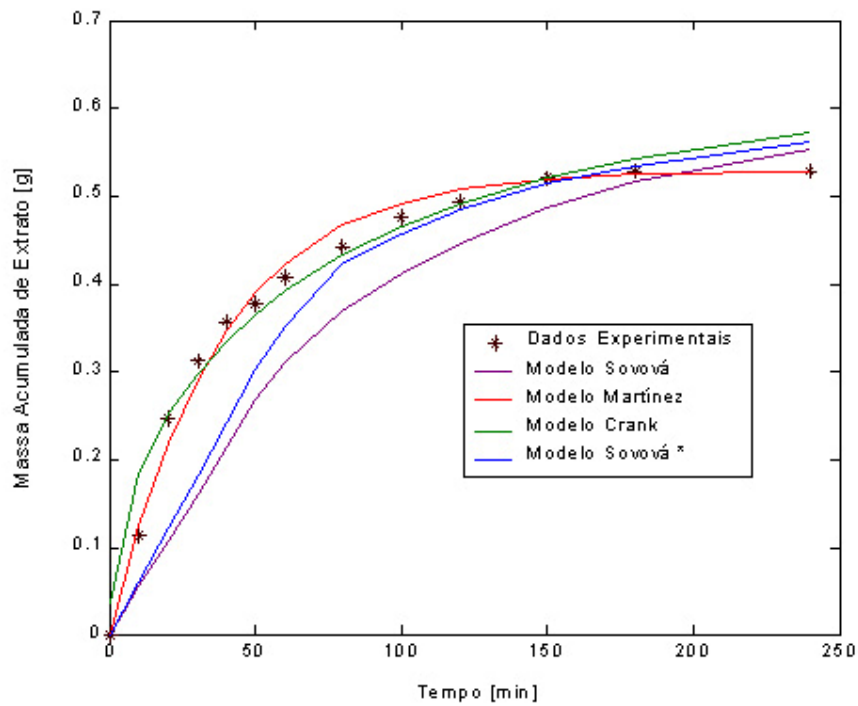


Figura 27 – Modelagem da curva total de ESC 300 bar/ 50 °C.

Os parâmetros ajustados pelo modelo de Sovová podem ser analisados observando as Tabelas 8 e 10. Nota-se que para todos os ensaios realizados os valores do coeficiente de transferência de massa na fase sólida (k_{Xa}) foram inferiores aos valores do coeficiente de transferência de massa na fase fluida (k_{Ya}) indicando uma maior influência do processo convectivo na obtenção do extrato de alecrim. Como pode ser observado nas Figuras 22 a 27, o modelo de Sovová não apresentou um bom ajuste aos dados experimentais. Em todos os casos a inclinação desta reta ficou abaixo do valor de M_{CER} , que é a taxa de extração neste período.

A Tabela 9 apresenta, entre outros, o parâmetro ajustável t_m do modelo de Martínez et al., que foi negativo para todas as condições estudadas. No modelo de Martínez et al., o parâmetro t_m corresponde ao instante em que a taxa de extração é máxima, porém em alguns casos, este valor é negativo, perdendo o seu significado físico. Neste caso, a taxa de extração é decrescente e, portanto o seu valor máximo é atingido no instante inicial, ou seja, no tempo igual a zero (MARTÍNEZ, 2002).

De acordo com a Tabela 11 o menor erro médio quadrático, para todas as condições de extração analisadas, foi obtido com a utilização do modelo de Martínez et al., provavelmente porque este modelo possui dois parâmetros ajustáveis, b e t_m , enquanto o modelo de Crank possui um parâmetro ajustável (D) e o modelo de Sovová não possui nenhum. O modelo de Crank, baseado na analogia de transferência de calor, também apresentou um bom ajuste aos dados experimentais apesar de considerar que o processo de extração é controlado unicamente pela difusão, enquanto o modelo de Sovová considera as três etapas distintas da extração.

De uma maneira geral, analisando a Tabela 11 e as Figuras 22 a 27, pode-se concluir que o modelo de Martínez et al. foi o que melhor se ajustou aos dados experimentais da extração de óleo de alecrim com dióxido de carbono supercrítico para todas as condições estudadas. O modelo de Crank também apresentou um bom ajuste aos dados experimentais. Este modelo considera o mecanismo de transferência de massa através de somente um parâmetro ajustável: D , e, o modelo de Sovová não apresenta nenhum. Este fato é um dos motivos que fez com que esses dois modelos apresentassem maiores erros médios quadráticos em relação o modelo de Martínez et al., que possui dois parâmetros ajustáveis (b e t_m). O modelo de Sovová aplicado com o dado de vazão

de solvente de 5 gCO₂/min não apresentou um bom ajuste aos dados experimentais. Isso pode ser explicado pela dificuldade do controle constante da vazão durante todo o experimento, mostrando que a vazão não se manteve de fato à 5 gCO₂/min. O modelo Sovová * apresentou um melhor ajuste que o modelo de Sovová, porém também não mostrou-se satisfatório.

5.7 RENDIMENTO

O processo de extração supercrítica foi comparado ao processo de extração convencional (ESL e Soxhlet) para avaliar a influência do solvente no rendimento.

A Tabela 12 apresenta os rendimentos obtidos nas diferentes condições de extração estudadas.

Tabela 12 – Rendimentos obtidos nas extrações supercrítica e convencional.

Extração		Extração Convencional			
Supercrítica		Extração Líquido-Líquido		Extração Soxhlet	
Condição (bar / °C)	Rendimento (%)	Solvente	Rendimento (%)	Solvente	Rendimento (%)
100/30	2,41	n-Hexano	11,27	n-Hexano	8,76
100/40	2,27	Diclorometano	0,12	Etanol	30,25
100/50	1,50	Acetato de Etila	0,38	-	-
200/30	2,56	Água	0,95	-	-
200/40	2,66	-	-	-	-
200/50	3,32	-	-	-	-
300/30	3,10	-	-	-	-
300/40	3,18	-	-	-	-
300/50	3,52	-	-	-	-

Pela análise da Tabela 12, apresentada abaixo, conclui-se que o maior rendimento obtido na ESC foi de 3,52% para a condição de 300 bar e 50 °C. Para a ESL, a fração n-hexano foi a que resultou em um maior rendimento (11,27%), indicando que a metodologia de extração líquido-líquido com maceração a frio em etanol promoveu uma boa extração de compostos apolares, que ficaram retidos na fração n-hexano, de polaridade zero, possuindo assim grande afinidade por esses compostos. Para a extração Soxhlet, o etanol apresentou o maior rendimento de extração (30,25%) quando comparado ao n-hexano (8,76%), indicando a presença de uma boa quantidade de compostos polares no alecrim.

CARVALHO-JUNIOR et al. (2003) obtiveram um rendimento de 8,62% para extração Soxhlet de alecrim com n-hexano por 3 horas, que foi ligeiramente inferior ao obtido neste trabalho (8,76%). Essa diferença pode ser explicada pelo tempo de extração, que no experimento de Carvalho-Junior et al. foi de 3 horas, enquanto no presente trabalho foi de 4 horas, e também pelas diferenças de procedência da matéria-prima (alecrim) utilizada em cada experimento.

A ESC quando comparada à ESL apresenta rendimentos superiores à todos os solventes testados, exceto ao n-hexano (apresenta polaridade próxima ao do solvente utilizado como FSC, o CO₂), que mostrou-se mais eficiente na extração de óleo de alecrim, porém com duas desvantagens claras: a temperatura relativamente alta empregada no procedimento de extração convencional, que pode degradar compostos termolábeis e, a presença de solvente residual no extrato. A extração Soxhlet, quando comparada à ESC apresentou para os dois solventes orgânicos empregados, o n-hexano e o etanol, rendimento superior à ESC, porém com as mesmas desvantagens citadas para a ESL.

5.8 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

A atividade antioxidante do extrato de alecrim obtido por extração supercrítica e convencional (Soxhlet) foi avaliado pelo método DPPH e Folin-Denis.

5.8.1 DPPH

Segundo MENSOR et al. (2001) o uso do DPPH promove um caminho fácil e rápido para avaliar antioxidantes como possíveis seqüestradores de radicais livres. DPPH é um radical livre que produz uma solução violeta em etanol. É reduzido na presença de uma molécula antioxidante, dando origem à soluções etanólicas descoloridas.

Os experimentos foram feitos em triplicata. A Tabela 13 apresenta, para as condições de extração supercrítica e convencional (Soxhlet), os dados médios de porcentagem de atividade antioxidante para diferentes concentrações de extrato. Os valores de EC₅₀, que representa a concentração de extrato na qual uma atividade antioxidante (antiradical) de 50% é observada, também estão expostos na Tabela 13.

Tabela 13 – Dados de Atividade Antioxidante (%) obtidos nas extrações supercrítica e convencional.

EXTRATO	CONCENTRAÇÕES DE EXTRATO (µg/mL)						EC ₅₀ (µg/mL)
	5	10	25	50	125	250	
ESC 100 bar/30 °C	20,11	23,64	33,41	91,82	95,34	95,34	27,34
ESC 100 bar/40 °C	20,11	24,66	34,77	95,23	95,68	95,57	14,30
ESC 100 bar/50 °C	26,93	24,66	34,09	92,05	95,80	95,68	26,21
ESC 200 bar/30 °C	22,29	26,92	40,72	95,36	95,36	95,36	24,75
ESC 200 bar/40 °C	38,28	46,21	68,85	95,75	95,98	95,75	12,85
ESC 200 bar/50 °C	25,62	30,06	49,38	92,56	97,73	100,00	22,89
ESC 300 bar/30 °C	30,34	33,56	52,53	95,52	95,63	95,63	23,10
ESC 300 bar/40 °C	43,39	46,07	61,26	90,08	91,43	96,59	12,85
ESC 300 bar/50 °C	21,49	24,43	36,54	95,36	95,02	95,25	25,84
SOXHLET n-Hexano	38,99	51,99	74,00	95,32	95,43	95,43	9,23
SOXHLET Etanol	35,13	41,80	63,00	95,20	95,32	95,20	15,73

O valor de EC_{50} foi calculado na faixa de concentração de 5 a 50 $\mu\text{g/mL}$, a qual pertence a concentração de 50% de atividade antioxidante (AA), por regressão linear, já que a curva de concentração de extrato ($\mu\text{g/mL}$) *versus* AA (%) assemelha-se à uma linha reta nessa faixa, como pode ser visto na Figura 28 para a condição de 300 bar e 40 °C . As Figuras para as outras condições de extração com FSC e Soxhlet estão apresentadas no Anexo V-A (Figuras V.1 a V.10).

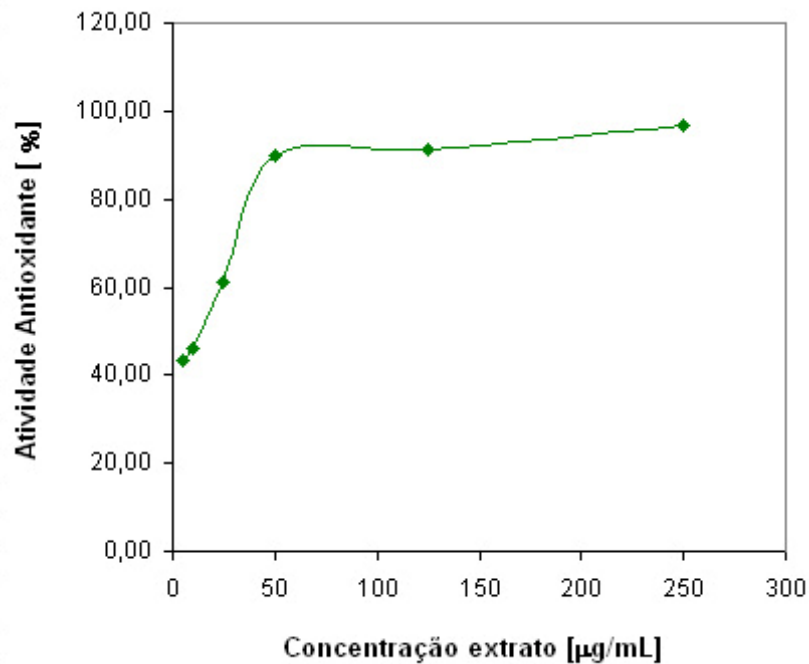


Figura 28 – Gráfico de concentração *versus* AA para ESC 300 bar/40 °C.

Na Figura 29 é apresentada uma foto ilustrando a descoloração da solução etanólica + DPPH na presença de antioxidantes. A concentração de extrato de alecrim na solução aumenta de 5 para 250 $\mu\text{g/mL}$ da direita para a esquerda. Nesse sentido a absorbância decresce com resultado de uma troca de cor de roxo para amarelo quando o radical DPPH é varrido pelos antioxidantes através da doação de um hidrogênio para formar a molécula estável DPPH-H, como apresentado na Seção 4.6.1.1.



Figura 29 – Foto DPPH para condição de 300 bar/40 °C.

Quanto maior o decréscimo da absorbância, mais potente é a atividade antirradical do composto em termos de remoção de radicais livres de DPPH. As diferentes reações cinéticas do antioxidantes com o DPPH[•] dependem da natureza do antioxidante observado.

Pela análise da Tabela 13, para ESC, pode-se observar que, à pressão constante de 100, 200 ou 300 bar, a temperatura de 40 °C foi a que apresentou um menor valor para EC₅₀. Isso significa que, para inibir em 50% a atividade dos radicais livres, a quantidade de extrato obtido à 40 °C necessária é inferior à dos extratos obtidos a 30 e 50 °C. Já o efeito da pressão à temperatura constante não apresenta nenhuma relação com o valor de EC₅₀ obtido.

Com relação aos extratos obtidos por extração Soxhlet, quando utilizou-se o n-hexano como solvente obteve-se o maior valor de AA, com um EC₅₀ de 9,23 µg/mL. Para o solvente etanol, o valor de foi de 15,73 µg/mL. Pode-se concluir que, os antioxidantes ativos nesse teste são preferencialmente menos polares, e portanto, com maior afinidade pelo n-hexano ao etanol. Comparando esses valores com os obtidos por ESC percebe-se que o extrato obtido por extração convencional com n-hexano apresentou o menor valor para EC₅₀, e portanto, é o antioxidante mais potente. Já o extrato obtido quando o etanol foi empregado como solvente apresentou um valor de EC₅₀ superior ao obtido por ESC a 100, 200 e 300 bar e 40 °C e inferior aos extratos obtidos nas outras condições.

O menor valor de EC₅₀ obtido para as ESC's conforme a Tabela 13 foi de 12,85 µg/mL para as condições de 300 bar/40 °C e 200 bar/40 °C. Uma das condições, a de 300 bar/40 °C foi escolhida para averiguar-se a possível existência de diferenças na atividade antioxidante para cada ponto obtido na curva de extração. Os dados estão apresentados na Tabela 14. Para os dois últimos pontos, referentes aos tempos de 150 a 180 minutos e 180 a 240 minutos de extração, os testes não foram executados por falta de amostra.

Tabela 14 – Dados de Atividade Antioxidante (%) obtidos na ESC 300 bar/40 °C.

TEMPO (min)	CONCENTRAÇÕES DE EXTRATO (µg/mL)						EC ₅₀ (µg/mL)
	5	10	25	50	125	250	
0 – 10	10,26	14,53	20,39	63,86	94,26	96,09	41,76
10 – 20	14,77	19,78	29,91	88,89	95,36	95,48	29,54
20 – 30	19,29	23,81	34,92	95,12	95,48	95,48	26,48
30 – 40	20,39	24,42	40,05	95,24	95,48	95,60	25,46
40 – 50	23,44	28,08	42,00	95,48	95,48	95,73	24,21
50 – 60	27,42	36,29	47,33	95,68	95,90	95,92	21,37
60 – 80	34,13	43,34	56,20	95,68	95,68	95,56	18,53
80 – 100	38,00	45,39	65,07	95,68	95,79	95,79	13,71
100 – 120	44,03	54,27	77,02	95,68	95,79	95,79	8,12
120 – 150	49,49	60,52	84,41	95,68	95,68	95,56	4,68

Analisando a Tabela 14, percebe-se que em uma mesma concentração de extrato, especialmente a concentrações mais baixas (de 5 a 50 µg/mL, onde a redução é mais visível) a atividade antioxidante dos extratos aumenta com o tempo, ou seja, os antioxidantes não são totalmente extraídos no início da extração, mas no decorrer desta. Os valores de EC₅₀ apresentados na mesma Tabela para cada ponto da curva de extração nos confirma esse resultado. Com o decorrer da extração, os extratos obtidos

apresentam um menor valor de EC_{50} , ou seja, a quantidade de extrato necessária para fornecer uma atividade antioxidante de 50% contra radicais livres é menor.

Os gráficos de concentração de extrato versus AA para cada ponto da curva estão apresentados no Anexo V-B (Figuras VB.1 a VB.10).

5.8.2 FOLIN-DENIS

Para avaliar a quantidade de fenólicos totais presentes nos extratos obtidos, o método de Folin-Denis foi empregado, segundo a metodologia citada na Seção 4.6.1.2. Este método baseia-se na redução em meio alcalino do reagente Folin-Denis (ácido fosfomolibdico + tungstato de sódio) pelos fenóis a molibdênio promovendo coloração azul, que é medido a 760 nm.

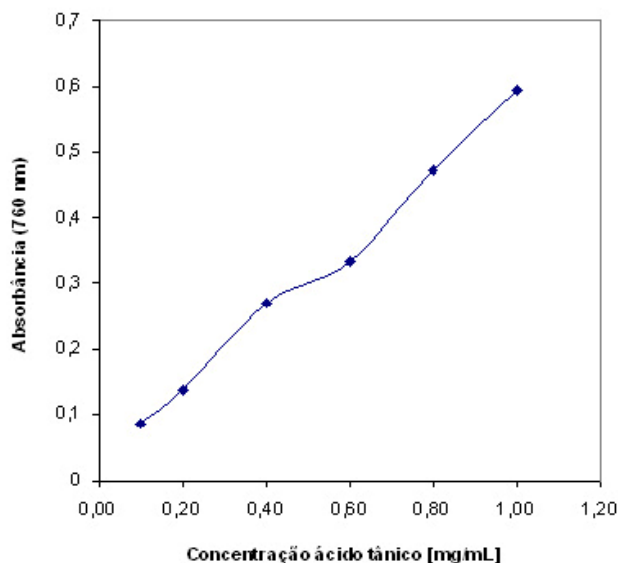


Figura 30 – Curva padrão para o ácido tânico comercial (Folin-Denis).

Ácido tânico *comercial* foi utilizado como padrão. A Figura 30 apresenta a curva padrão obtida e na Tabela 15 estão apresentadas, para as extrações com FSC e Soxhlet, as quantidades de fenólicos totais em miligramas equivalentes de ácido tânico (TAE) por grama de extrato.

Tabela 15 – Fenólicos totais (Folin-Denis) obtidos nas extrações supercrítica e convencional.

EXTRATO	FENÓLICOS TOTAIS *
	(g de TAE/100g de EXTRATO)
ESC 100 bar/30 °C	11,51
ESC 100 bar/40 °C	8,42
ESC 100 bar/50 °C	8,49
ESC 200 bar/30 °C	7,45
ESC 200 bar/40 °C	8,07
ESC 200 bar/50 °C	10,74
ESC 300 bar/30 °C	13,51
ESC 300 bar/40 °C	9,11
ESC 300 bar/50 °C	13,27
SOXHLET n-Hexano	11,13
SOXHLET Etanol	14,20

* Dados expressos como miligramas equivalentes de ácido tânico (TAE) por grama de extrato.

Pode-se concluir, analisando a Tabela 15, que dos extratos estudados, o que apresentou a maior quantidade de fenólicos (em TAE) foi o obtido por extração Soxhlet utilizando o etanol como solvente. Isso justifica-se pelo fato de que o ácido tânico é um composto muito polar, e portanto, tem maior afinidade por solventes mais polares.

Os resultados obtidos não revelam, no caso da ESC, uma relação da temperatura e pressão na quantidade de fenólicos (em TAE) obtida. A condição que apresentou maior quantidade de fenólicos foi 300 bar e 30 °C.

Segundo DORMAN et al. (2003) os resultados dependem da natureza química e estrutura dos compostos fenólicos presentes no extrato. ZHENG et al. (2001) cita que devido a diversidade e complexidade das misturas naturais de compostos fenólicos no extrato herbáceo, é difícil caracterizar e comparar suas atividades antioxidantes.

Como já citado por DORMAN et al. (2003), o uso de diferentes testes para determinação de atividade antioxidante nos diferentes extratos mostra que a ordem de AA encontrada para um determinado grupo de amostras depende do tipo de experimento empregado na determinação.

5.9 COMPOSIÇÃO QUÍMICA DOS EXTRATOS

Para analisar a composição química dos extratos obtidos por ESC e extração Soxhlet (etanol e hexano), esses foram submetidos à análise de cromatografia gasosa acoplada com espectrometria de massas.

A identificação dos constituintes químicos dos extratos foi baseada em (i) na comparação do espectro de massa da substância com um sistema de banco de dados para CG-MS (NIST 98 MS Library), e (ii) no índice de retenção.

A Tabela 16 contém a composição química (%) dos compostos identificados para cada condição de extração, que é uma proporção relativa a área obtida nos fragmentogramas, apresentados no Anexo VI, para cada composto.

Na Tabela 17 são apresentados o número total de compostos encontrados em cada extrato; o número de compostos identificados; a percentagem dos extratos referente aos compostos identificados. Uma análise global mostra que o maior número de compostos foi obtido na condição de extração com FSC a 300 bar/50 °C (58 compostos diferentes), seguido pela ESC a 300 bar/40 °C (57).

A Figura 31 apresenta o perfil CG-MS para o extrato de alecrim obtido por ESC a 300 bar e 50 °C. Os cromatogramas obtidos para os outros extratos estudados estão apresentados no Anexo VI.

Tabela 16 – Composição química (proporção relativa a área) percentual dos compostos identificados nos extratos de alecrim.

Pico	NOME COMPOSTO	100 bar	100 bar	100 bar	200 bar	200 bar	200 bar	300 bar	300 bar	300 bar	SOXHLET	SOXHLET
		30 °C	40 °C	50 °C	30 °C	40 °C	50 °C	30 °C	40 °C	50 °C	ETANOL	HEXANO
1	α -pineno	0,57	0,53	1,61	1,27	-	0,61	-	0,81	0,37	-	1,68
2	α -felandreno	-	-	-	0,58	-	0,54	-	0,44	0,43	-	-
3	Terpinoleno	-	-	-	0,54	-	0,50	-	0,39	0,32	-	-
4	Limoneno	0,55	0,58	1,44	1,45	0,84	1,01	0,87	0,97	0,60	-	2,70
5	β -felandreno	-	-	1,41	0,62	-	0,66	-	0,59	0,51	-	-
6	Cânfora	1,82	1,91	4,71	5,34	7,72	5,51	2,84	4,22	4,46	6,60	6,75
7	Borneol	0,54	0,78	2,13	1,63	2,97	1,93	-	1,87	1,51	1,19	1,21
8	Terpinen-4-ol	-	-	-	0,65	1,13	0,86	-	0,66	0,60	-	-
9	Terpineol	0,67	0,92	2,26	1,62	2,70	1,97	0,93	1,55	1,30	-	0,92
10	Verbenona	2,42	3,09	8,98	7,17	13,02	9,33	4,68	6,69	6,54	5,21	5,32
11	Carvacrol	-	-	-	-	-	-	-	0,30	0,22	-	-
12	Isobornil acetato	0,70	0,84	2,02	1,90	3,53	2,05	0,91	1,93	1,79	1,45	1,82

Resultados e Discussão

Pico	NOME COMPOSTO	100 bar	100 bar	100 bar	200 bar	200 bar	200 bar	300 bar	300 bar	300 bar	SOXHLET	SOXHLET
		30 °C	40 °C	50 °C	30 °C	40 °C	50 °C	30 °C	40 °C	50 °C	ETANOL	HEXANO
13	Timol	-	0,43	-	-	-	-	-	0,33	-	-	-
14	2-Etil-5-N-propilfenol	-	0,47	-	0,52	-	0,64	-	0,42	0,31	-	-
15	Cariofileno	2,11	-	6,97	-	8,95	6,33	2,66	5,43	4,39	2,48	2,37
16	α -Humuleno	-	0,79	1,74	1,21	1,77	1,37	-	1,18	0,95	-	-
17	Metil jasmonato	-	0,96	2,86	0,89	0,96	1,14	-	0,80	0,52	-	-
18	Triciclo[5.2.2.0(1,6)]undecan-3-ol, 2-metileno-6,8,8-trimetil	0,97	1,48	4,92	1,34	1,46	1,77	0,85	1,14	0,93	-	-
19	Aromadendreno oxido	-	0,65	2,11	0,64	-	0,71	-	0,52	0,40	-	-
20	α -Bisabolol	-	0,50	1,58	-	-	0,52	-	0,39	0,29	-	-
21	Benzenesulfonamida, N-butil	2,69	1,67	2,21	0,62	1,72	0,45	2,02	0,48	0,26	-	-
22	7-Isopropil-1,1,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno	-	-	1,35	-	-	-	-	0,22	-	-	-
23	4,4,8-Trimetiltriciclo[6.3.1.0(1,5)]dodecano-2,9-diol	-	-	1,56	-	-	0,55	-	0,24	0,27	-	-

Resultados e Discussão

Pico	NOME COMPOSTO	100 bar	100 bar	100 bar	200 bar	200 bar	200 bar	300 bar	300 bar	300 bar	SOXHLET	SOXHLET
		30 °C	40 °C	50 °C	30 °C	40 °C	50 °C	30 °C	40 °C	50 °C	ETANOL	HEXANO
24	Biformeno	-	0,52	2,63	-	-	0,60	-	0,40	0,32	-	-
25	Biciclo[3.1.1]hept-2-ene,2,2'- (1,2-etanedil)bis[6,6-dimetil]	0,77	0,99	3,59	0,92	1,11	1,10	-	0,73	0,58	-	-
26	7-Isopropil-1,1,4a-trimetil- 1,2,3,4,4a,9,10,10a- octahidrofenantreno	0,54	0,65	2,27	0,54	-	0,76	-	0,47	0,36	-	-
27	Fitol	0,90	1,40	3,65	1,13	-	1,02	-	1,12	0,69	-	-
28	Esclareol	0,55	1,02	2,65	1,08	1,10	1,50	-	0,68	0,78	-	-
29	Ferruginol	2,21	4,21	10,22	3,59	4,14	6,14	1,93	2,44	2,42	1,63	0,83
30	Hinokiona	1,16	0,85	5,36	2,09	-	2,01	2,21	1,12	1,04	0,97	0,76
31	Isocarnosol	65,55	40,44	19,77	44,12	37,19	31,73	68,04	44,06	42,37	69,39	41,65
32	Dihidronormorfinona	5,33	14,34	-	4,18	5,28	3,36	6,67	3,60	4,68	8,62	14,31
33	Crinamidina	-	2,15	-	-	-	2,55	-	2,00	3,66	-	-

Tabela 17 – Quantidade de compostos encontrados, identificados e porcentagem do extrato identificada.

	100 bar	100 bar	100 bar	200 bar	200 bar	200 bar	300 bar	300 bar	300 bar	SOXHLET	SOXHLET
	30 °C	40 °C	50 °C	30 °C	40 °C	50 °C	30 °C	40 °C	50 °C	ETANOL	HEXANO
Nº de picos encontrados	24	43	25	37	21	45	17	57	58	11	28
Nº de picos identificados	18	25	25	25	21	30	12	33	31	09	12
% do extrato identificada	90,05	82,17	100,00	86,64	90,13	89,22	94,61	88,19	83,87	97,54	80,32

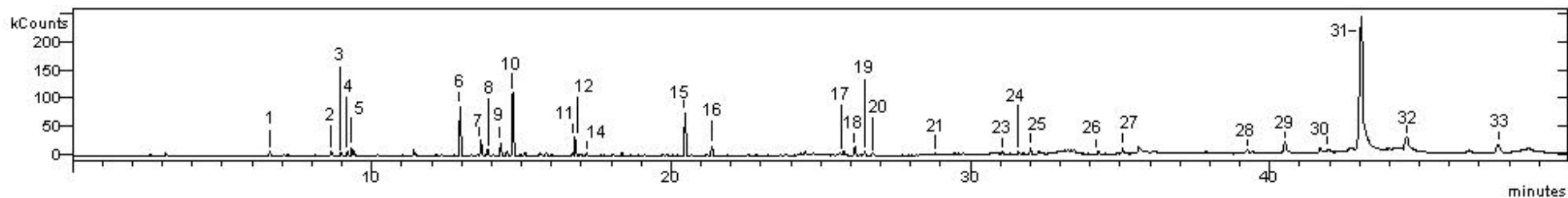


Figura 31 – Perfil CG-MS para extrato de alecrim obtido por ESC 300 bar/50 °C.

Ainda analisando a Tabela 17, observa-se que para os extratos obtidos por ESC, a temperatura e a pressão não apresentaram relação com o número de compostos extraídos. Somente a 300 bar pode-se observar um aumento no número de compostos extraídos com o aumento da temperatura. As pressões de 100 e 200 bar não apresentaram relação entre composição e temperatura. Já com relação a influência da pressão, apenas a 50 °C pode-se notar um aumento do número de compostos com o aumento da pressão. As outras temperaturas estudadas não apresentaram relação alguma.

Comparando-se os extratos obtidos por ESC e extração Soxhlet, observa-se que o extrato obtido por extração Soxhlet com etanol apresentou um menor número de compostos. Quando empregou-se n-hexano a quantidade de compostos obtida foi próxima em termos de magnitude aos extratos obtidos por ESC.

Dentre os compostos identificados (Tabela 16), conforme citado por PORTE et al. (2001), pode ser atribuída atividade antibacteriana aos compostos α -pineno, borneol e cânfora, presentes em quase todos os extratos testados. BURTE (2004) também atribui atividade antibacteriana ao carvacrol, timol e isobornil acetato.

Alguns compostos são responsáveis por certas características específicas ao óleo essencial de alecrim: α -pineno – aroma de pinho; cânfora – aroma de menta; - borneol – gosto de acre (PORTE et al., 2001).

O composto majoritário em todos os extratos de alecrim testados foi o isocarnosol (conforme banco de dados NIST 98 MS Library). É um composto isômero do carnosol, diterpeno fenólico mais importante pela atividade antioxidante do alecrim. Justifica-se assim a alta atividade antioxidante obtida para os extratos, como mostrado na Seção 5.8.1.

A proporção relativa do isocarnosol para os extratos obtidos por ESC decresce com o aumento da temperatura para as três pressões estudadas. Apenas a 50 °C observa-se o efeito da sua proporção relativa com a pressão, aumentando com o aumento da mesma.

O extrato que apresentou a maior proporção relativa desse composto foi o obtido por extração Soxhlet com etanol como solvente. Isso é justificado pelo fato de que o isocarnosol é um composto polar, tendo assim mais afinidade por solventes mais polares, no caso, dentre os empregados, foi o etanol.

Para os extratos que apresentaram os maiores valores de proporção relativa do composto isocarnosol, um outro fato a ser observado é a relação desse composto com os dados obtidos na Seção 5.8.2 para a determinação de fenólicos totais. Essa observação deve ser feita em termos de magnitude, uma vez que os valores de fenólicos são determinados em gramas equivalentes de ácido tânico, e os taninos não são encontrados em grande quantidade no alecrim. O isocarnosol, que é um fenólico diterpênico, foi encontrado em maior quantidade de proporção relativa no extrato obtido por extração Soxhlet com Etanol, seguido pela ESC a 300 bar e 30 °C e 100 bar e 30 °C (69,34; 68,04 e 65,55% respectivamente). A mesma seqüência ocorreu para o teste de fenólicos totais (1,420; 1,351; 1,327 mg_{TAE}/g_{EXTRATO}, respectivamente). Para as outras condições não foi obtida uma relação definida entre a proporção de isocarnosol e a quantidade de fenólicos totais, mas isso pode ser explicado pela presença de vários outros compostos fenólicos nos extratos, que faz com que a quantidade de fenólicos totais varie para cada composto de acordo com a quantidade total de fenólicos presentes.

A diferença na quantidade de isocarnosol encontrada nos extratos obtidos por extração Soxhlet com etanol (69,39 %) e por ESC a 300 bar/30 °C (68,04 %) é muito pequena, sendo que a ESC apresenta a vantagem de gerar extratos isentos de qualquer resíduo do solvente.

6. CONCLUSÕES

Em vista dos resultados obtidos para a extração de alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) diferentes condições, conclui-se que:

- Para ESC, a utilização de tempo estático nas extrações não apresenta grande influência no rendimento dos extratos;
- O efeito de inversão das isotermas para a matéria-prima utilizada ocorre na pressão de 165 bar. O rendimento de extração aumenta isotermicamente com o aumento da pressão e isobaricamente com o decréscimo da temperatura para pressões inferiores a 165 bar, onde predomina o efeito da densidade do solvente, e com o aumento da temperatura para pressões superiores a 165 bar, onde o efeito da pressão de vapor do soluto é dominante;
- Quanto menor o tamanho das partículas maior o rendimento obtido devido à maior área de exposição do soluto ao solvente;
- Em vista da maior diferença no gradiente de concentração entre as fases soluto e solvente quando vazões maiores são utilizadas, um maior rendimento de extrato é obtido;
- Dentre os modelos estudados, o melhor ajuste aos dados experimentais foi obtido com o emprego do modelo de Martínez et al. (dois parâmetros ajustáveis), seguido pelo modelo de Crank (um parâmetro ajustável). O modelo de Sovová (nenhum parâmetro ajustável) não apresentou um ajuste satisfatório;
- Para todas as condições testadas, a ESC apresentou rendimento superior aos obtidos por ESL, exceto para o solvente n-hexano, e inferior aos obtidos por extração Soxhlet, apresentando duas vantagens claras frente aos dois

métodos de extração convencional citados: utiliza temperaturas relativamente brandas, não degradando os compostos termolábeis, e, não deixa resíduo de solvente no extrato;

- As análises antioxidantes dos extratos pelo método do radical livre DPPH mostra que, para as condições de ESC testadas, à pressão constante, a temperatura de 40 °C apresentou melhor atividade. A pressão não apresentou efeito significativo; Quando comparados à extração Soxhlet, os extratos obtidos via ESC apresentaram menor atividade que o obtido pela extração com o solvente n-hexano. O extrato obtido com o solvente etanol apresentou rendimento intermediário aos obtidos via ESC;
- A avaliação da atividade antioxidante (DPPH) com o tempo, para a ESC a 300 bar/40 °C, permite concluir que a maior parte dos antioxidantes não é extraída no início da extração, mas no decorrer desta;
- A maior quantidade de fenólicos totais (em TAE) foi obtida para o extrato resultante da extração Soxhlet com o uso do solvente etanol (1,420 mg_{TAE}/g_{EXTRATO}). Os resultados obtidos não revelam, no caso da ESC, uma relação da temperatura e pressão na quantidade de fenólicos (em TAE) obtida. A condição de ESC que apresentou maior quantidade de fenólicos foi 300 bar e 30 °C (1,351 mg_{TAE}/g_{EXTRATO});
- O uso de diferentes testes para determinação de atividade antioxidante nos diferentes extratos mostra que a ordem de AA encontrada para um determinado grupo de amostras depende do tipo de análise empregada na determinação;
- A análise da composição química dos extratos (CG-MS) mostra que a condição de ESC que promoveu a extração de um maior número de compostos foi a 300 bar/50 °C (58 diferentes compostos), seguido pela ESC a 300 bar/40 °C (57 diferentes compostos). A 300 bar ocorre um aumento no número de compostos extraídos com o aumento da temperatura. A 50 °C pode-se notar um aumento do número de compostos com o aumento da

pressão. As outras pressões e temperaturas estudadas não apresentaram relação com o número de compostos extraídos;

- Comparando-se os extratos obtidos por ESC e extração Soxhlet, conclui-se que o extrato obtido por extração Soxhlet com etanol apresentou um menor número de compostos;
- A alta atividade antioxidante obtida para os extratos de alecrim testados é justificada pela presença majoritária do composto isocarnosol, diterpeno fenólico mais importante pela atividade antioxidante do alecrim. A proporção relativa desse composto para os extratos obtidos por ESC decresce com o aumento da temperatura para as três pressões estudadas. A 50 °C observa-se o efeito da sua proporção relativa com a pressão, aumentando com o aumento da mesma. As outras temperaturas estudadas (30 e 40 °C) não apresentaram efeito significativo. O extrato que apresentou a maior proporção relativa do composto isocarnosol foi o obtido por extração Soxhlet com etanol (69,39 %), seguido pela ESC a 300 bar/30 °C (68,04 %). A diferença apresentada é pequena, e a ESC traz a vantagem de gerar extratos isentos de solvente.

7. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Como sugestões para trabalhos futuros cita-se:

- Utilização, para a modelagem dos dados experimentais, de outros modelos de transferência de massa;
- Realização de análises de CG-MS em diferentes pontos no decorrer da curva de ESC para verificar a influência do tempo de extração na quantidade de compostos antioxidantes extraídos;
- Estudo do uso de co-solventes na extração de compostos antioxidantes do alecrim;
- Aplicação de outros testes para determinação da atividade antioxidantes de diferentes classes de compostos;
- Uso da análise HPLC para a determinação de outros compostos citados na literatura como antioxidantes, como os fenólicos de alto peso molecular;
- Avaliação de custos de processo para extração supercrítica *versus* convencional;
- Realização de testes para avaliar o sinergismo entre extrato de alecrim obtido por diferentes tipos de extração e outros antioxidantes, como BHA, por exemplo.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABUTBUL, S.; GOLAN-GOLDHIRSH, A.; BARAZANI, O.; ZILBERG, D. Use of *Rosmarinus officinalis* as a treatment against *Streptococcus iniae* in tilapia (*Oreochromis* sp.). **Aquaculture**, v. 238, n. 1-4, p. 97–105, 2004.

ALBU, S.; JOYCE, E.; PANIWNYK, L.; LORIMER, J. P.; MASON, T. J. Potential for the use of ultrasound in the extraction of antioxidants from *Rosmarinus officinalis* for the food and pharmaceutical industry. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 11, n. 3-4, p. 261-265, 2004.

ANGIONE, A.; BARRA, A.; CERETI, E.; BARILE, D.; COÏSON, J. D.; ARLORIO, M.; DESSI, S.; CORONEO, V.; CABRAS, P. Chemical composition, plant genetic differences, antimicrobial and antifungal activity investigation of the essential oil of *Rosmarinus officinalis* L. **J. Agric. Food Chem.**, v. 52, n. 11, p. 3530-3535, 2004.

ANGUS, S.; ARMSTRONG, B.; DE REUCK, K. M. **International thermodynamic tables of the fluid state carbon dioxide**. 1976

ARUOMA, O. I.; SPENCER, J. P. E.; ROSSI, R.; AESCHBACH, R.; KHAN, A.; MAHMOOD, N.; MUNOZ, A.; MURCIA, A.; BUTLER, J.; HALLIWELL, B. An evaluation of the antioxidant and antiviral action of extracts of rosemary and provençal herbs. **Food and Chemical Toxicology**, v. 34, n. 5, p. 449-456, 1996.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS – AOAC, 1980. **Official methods of analysis**. 14. ed. Washington, D.C. 1980.

ATOUI, A. K.; MANSOURI, A.; BOSKOU, G.; KEFALAS, P. Tea and herbal infusions: their antioxidant activity and phenolic profile. **Food Chemistry**, v. 89, n. 1, p. 27-36, 2005.

BACKLEH, M.; LEUPOLD, G.; PARLAR, H. Rapid quantitative enrichment of carnosic acid from rosemary (*Rosmarinus officinalis L.*) by isoelectric focused adsorptive bubble chromatography. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, n. 5, p. 1297-1301, 2003.

BANDONIENE, D.; MURKOVIC, M.; PFANNHAUSER, W.; VENSKUTONIS, P. R.; GRUZDIENE, D. Detection and activity evaluation of radical scavenging compounds by using DPPH free radical and on-line HPLC-DPPH methods. **Eur Food Res Technol**, v. 214, n. [s/n], p. 143–147, 2002.

BERNARDO-GIL, M. G.; RIBEIRO, M. A.; ESQUÍVEL, M. M. Produção de extractos para a indústria alimentar: uso de fluidos supercríticos. **Boletim de Biotecnologia**, v. 73, n. [s/n], p. 14-21, 2002.

BRACCO, U.; LÖLIGER, J.; VIRET, J. L. Production and use of natural antioxidants. **J. Am. Oil Chem. Soc.**, v. 58, n. [S/N], p. 689-690, 1981.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **Lebensm-Wiss, u-Technol.**, v. 28, n. [s/n], p. 25-30, 1995.

BRUNNER, G. **Gas extraction - an introduction to fundamentals of supercritical fluids and the application to separation processes**. Nova York: Steinkopff Darmstadt Soringer, 1994.

BURT, S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods - a review. **International Journal of Food Microbiology**, v. 94, n. 3, p. 223-253, 2004.

CAMPOS, L. M. A. S.; MICHIELIN, E. M. Z.; DANIELSKI, L.; FERREIRA, S. R. S. Experimental data and modeling the supercritical fluid extraction of marigold (*Calendula officinalis*) oleoresin. **Journal of Supercritical Fluids**. In Press, 2005.

CARVALHO-JUNIOR, R. S.; MOURA, L. S.; QUISPE-CONDORI, S.; ROSA, P. T. V.; MING, L. C.; MEIRELES, M. A. A. Determination of the global yield isotherms for the system rosemary (*Rosmarinus officinalis*) + CO₂. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON SUPERCRITICAL FLUIDS, 6th, 2003, Versailles. **Proceedings of the 6th International Symposium on SUPERCRITICAL FLUIDS**. Versailles: ISASF, 2003. 129-137 p.

CARVALHO-JUNIOR, R. N.; REHDER, V. L. G.; SARTORATTO, A.; SANTOS, A. S.; MEIRELES, M. A. A. Comparison of the global yield and chemical composition of rosemary (*Rosmarinus officinalis*) extracts obtained by hidrodistillation and SFE. In: ENCONTRO BRASILEIRO DE FLUIDOS SUPERCRÍTICOS, V, 2004, Florianópolis. **Caderno de Resumos do V EBFS**. Florianópolis: EQA/CTC/UFSC, 2004. 81 p.

CORTESI, A.; KIKIC, I.; ALESSI, P.; TURTOI, G.; GARNIER, S. Effect of chemical structure on the solubility of antioxidants in supercritical carbon dioxide: experimental data and correlation. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 14, n. 2, p. 139-144, 1999.

COWAN, M. M. Plant products as antimicrobial agents. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 12, n. 4, p. 564-582, 1999.

CRANK, J. **The mathematics of diffusion**. Clarendon Press: Oxford, 1975. 85 p.

DANIELSKI, L. **Solubilidade das oleoresinas de calêndula (*Calendula officinalis* L.) e cavalinha (*Esquisetum arvense*) em CO₂ supercrítico**. Florianópolis, 2002. 142 p. (Dissertação de Mestrado) - Departamento de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, UFSC.

DEAN, J. R.; KANE, M. Applications of supercritical fluids in industrial analysis. In: J. R. DEAN (ED.). **Instrumentation for supercritical fluid extraction**. Glasgow: Blackie, 1993. p. 47-73.

DEMO, A.; PETRAKIS, C.; KEFALASA, P.; BOSKOU, D. Nutrient antioxidants in some herbs and Mediterranean plant leaves. **Food Research International**, v. 31, n. 5, p. 351-354, 1998.

DORMAN, H. J. D.; PELTOKETO, A.; HILTUNEN, R.; TIKKANEN, M. J. Characterisation of the antioxidant properties of de-odourised aqueous extracts from selected lamiaceae herbs. **Food Chemistry**, v. 83, n. 2, p. 255-262, 2003.

FERREIRA, S. R. S. **Cinética de transferência de massa na extração supercrítica de óleo essencial de pimenta-do-reino**. Tese de Doutorado em Engenharia de Alimentos – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1996.

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, n. 3, p. 235–245, 1999.

FERREIRA, S. R. S.; MEIRELES, M. A. A. Modeling the supercritical fluid extraction of black pepper (*Piper nigrum* L.) essential oil. **Journal of Food Engineering**, v. 54, n. 4, p. 263–269, 2002.

FLAMINI, G.; CIONI, P. L.; MORELLI, I.; MACCHIA, M.; CECCARINI, L. Main agronomic-productive characteristics of two ecotypes of *Rosmarinus officinalis* L. and chemical composition of their essential oils. **J. Agric. Food Chem.**, v. 50, n. 12, p. 3512-3517, 2002.

FUKUMOTO, L. R.; MAZZA, G. Assessing antioxidant and prooxidant activities of phenolic compounds. **J. Agric. Food Chem.**, v. 48, n. 8, p. 3597-3604, 2000.

GASPAR, F.; LU, T.; SANTOS, R.; AL-DURI, B. Modelling the extraction of essential oils with compressed carbon dioxide. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 25, n. 3, p. 247-260, 2003.

GÓMEZ, M. E. D. B. **Modulação da composição de ácidos graxos poliinsaturados ômega 3 de ovos e tecidos de galinhas poedeiras, através da dieta. I. Estabilidade oxidativa.** São Paulo, 2003. 149 p. (Tese para obtenção de grau de DOUTOR) - Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos - Área de Bromatologia, Universidade de São Paulo.

HOPIA, A.; HUANG, S. W.; SCHWARZ, K.; GERMAN, J. B.; FRANKEL, E. N. Effect of different lipid systems on antioxidant activity of rosemary constituents carnosol and carnosic acid with and without α -tocopherol. **J. Agric. Food Chem.**, v. 44, n. 8, p. 2030-2036, 1996.

HRAS, A. R.; HADOLIN, M.; KNEZ, Z.; BAUMAN, D. Comparison of antioxidative and synergistic effects of rosemary extract with α -tocopherol, ascorbyl palmitate and citric acid in sunflower oil. **Food Chemistry**, v. 71, n. 2, p. 229-233, 2000.

HUI-HUI, Z.; PENG-FEI, T.; KAN, Z.; HUI, W.; BAO-HUAI, W.; JING-FEN, L. Antioxidant properties of phenolic diterpenes from *Rosmarinus officinalis*. **Acta Pharmacol Sin**, v. 22, n. 12, p. 1094-1098, 2001.

IBAÑEZ, E.; CIFUENTES, A.; CREGO, A. L.; SEÑORÁNS, F. J.; CAVERO, S.; REGLERO, G. Combined use of supercritical fluid extraction, micellar electrokinetic chromatography, and reverse phase high performance liquid chromatography for the analysis of antioxidants from rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.). **J. Agric. Food Chem.**, v. 48, n. 9, p. 4060-4065, 2000.

INATANI, R.; NAKATANI, N.; FUWA, H. Antioxidative effect of the constituents of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) and their derivatives. **Agric. Biol. Chem.**, v. 47, n. 3, p. 521-528, 1983.

INOUE, S.; TAKIZAWA, T.; YAMAGUCHI, H. Antibacterial activity of essential oils and their major constituents against respiratory tract pathogens by gaseous contact. **A. J. Antimicrob. Chemother.**, v. 47, n. [s/n], p. 565-573, 2001.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz: Métodos químicos e físicos para análise de alimentos**. Instituto Adolfo Lutz. São Paulo, 1985, v. 1, 533 p.

JOCHMANN, A. **Extração Supercrítica de oleoresina de calêndula (*Calendula officinalis*)**. Florianópolis, 2000. (Dissertação de Mestrado em Engenharia Química) - Deptº de Pós-Graduação em Engenharia Química, UFSC.

JOSÉ DEL BAÑO, M.; LORENTE, J.; CASTILLO, J.; BENAVENTE-GARCÍA, O.; ANTONIO DEL RÍO, J.; ORTUÑO, A.; QUIRIN, K. W.; GERARD, D. Phenolic diterpenes, flavones, and rosmarinic acid distribution during the development of leaves, flowers, stems, and roots of *Rosmarinus officinalis*. Antioxidant activity. **J. Agric. Food Chem.**, v. 51, n. 15, p. 4247-4253, 2003.

KÄHKÖNEN, M. P.; HOPIA, A. I.; VUORELA, H. J.; RAUHA, J. P.; PIHLAJA, K.; KUJALA, T. S.; HEINONEN, M. Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. **J. Agric. Food Chem.**, v. 47, n. 10, p. 3954-3962, 1999.

KARAMANOLI, K.; VOKOU, D.; MENKISSOGLU, U.; CONSTANTINIDOU, I. H. Bacterial colonization of phyllosphere of mediterranean aromatic plants. **J. Chem. Ecol.**, v. 26, n. [s/n], p. 2035-2048, 2000.

KAUR, C.; KAPOOR, H. C. Antioxidants in fruits and vegetables - the millennium's health. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 36, n. 7, p. 703-725, 2001.

KIRIAMITI, H. K.; RASCOL, E.; MARTY, A.; CONDORET, J. S. Extraction rates of oil from high oleic sunflower seeds with supercritical carbon dioxide. **Chemical Engineering and Processing**, v. 41, n. 8, p. 711-718, 2001.

KOSAR, M.; ALTINTAS, A.; KIRIMER, N.; BASER, K. H. C. Determination of the free radical scavenging activity of *Lycium* extracts. **Chemistry of Natural Compounds**, v. 39, n. 6, p. 531-535, 2003.

LACROIX, M.; SMORAGIEWICZ, W.; PAZDERNIK, L.; KONÉ, M. I.; KRZYSTYNIAK, K. Prevention of lipid radiolysis by natural antioxidants from rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) and thyme (*Thymus vulgaris* L.). **Food Research International**, v. 30, n. 6, p. 457-462, 1997.

LANÇAS, F. M. Fluidos Supercríticos: Desenvolvimento de instrumentação para fluidos supercríticos - uma experiência brasileira bem sucedida. **Revista Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, v. Ano 3, n. 16, p. 12-15, 2000.

LEAL, P. F.; BRAGA, M. E. M.; SATO, D. N.; CARVALHO, J. E.; MARQUES, M. O. M.; MEIRELES, M. A. A. Functional properties of spice extracts obtained via supercritical fluid extraction. **J. Agric. Food Chem.**, v. 51, n. 9, p. 2520-2525, 2003.

LI, Q.; ZHANG, Z.; SHONG, C.; LIU, W.; ZHOU, Q. Solubility of solid solutes in supercritical carbon dioxide with and without cosolvents. **Fluid Phase Equilibria**, v. 207, n. 1 - 2, p. 183-192, 2003.

LOEWENFELD, C.; BACK, P. **Guía de las hierbas y especias**. Barcelona: Omega, 1978. 256-276 p.

LOULI, V.; RAGOSSIS, N.; MAGOULAS, K. Recovery of phenolic antioxidants from wine industry by-products. **Bioresource Technology**, v. 92, n. 2, p. 201-208, 2004.

LUXENBURGER, A. The synthesis of carnosol derivatives. **Tetrahedron**, v. 59, n. [s/n], p. 3297-3305, 2003.

MADSEN, H. L.; SORENSEN, B.; SKIBSTED, L. H.; BERTELSEN, G. The antioxidative activity of summer savory (*Satureja hortensis* L.) and rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) in dressing stored exposed to light or in darkness. **Food Chemistry**, v. 63, n. 2, p. 173-180, 1998.

MADSEN, H. L.; BERTELSEN, G. Spices as antioxidants. **Trends in Food Science & Technology**, v. 6, n. 8, p. 271-277, 1995.

MARTÍNEZ, J. **Estudo de modelos de transferência de massa na interface sólido-fluido durante processos de extração supercrítica**. Campinas, 2002. Tese de mestrado em Engenharia de Alimentos – Departamento de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP, 2002.

MARTÍNEZ, J.; MONTEIRO, A. R.; ROSA, P. T. V.; MARQUES, M. O. M.; MEIRELES, M. A. A. Multicomponent model to describe extraction of ginger oleoresin with supercritical carbon dioxide. **Ind. Eng. Chem. Res.**, v. 42, n. 5, p. 1057-1063, 2003.

MATTEA, F.; CARDARELLI, D. A.; DAGHERO, J. D.; MATTEA, M. A. Natural antioxidants obtained with supercritical CO₂. In: ENCONTRO BRASILEIRO DE FLUIDOS SUPERCRÍTICOS, V, 2004, Florianópolis. **Caderno de Resumos do V EBFS**. Florianópolis: EQA/CTC - UFSC, 2004. 70 p.

MAUL, A. A. Fluidos supercríticos: situação atual e futuro da extração supercrítica. **Revista Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, v. Ano 2, n. 11, p. 42-46, 1999.

MENSOR, L. L.; MENEZES, F. S.; LEITÃO, G. G.; REIS, A. S.; SANTOS, T. C.; COUBE, C. S.; LEITÃO, S. G. Screening of brazilian plant extracts for antioxidant activity by the use of DPPH free radical method. **Phytotherapy Research**, v. 15, n. [s/n], p. 127-130, 2001.

MICHIELIN, E. M. Z. **Avaliação do processo de extração com fluido supercrítico da oleoresina de cavalinha (*Equisetum arvense*)**. Florianópolis, 2002. 92 p. (Dissertação de Mestrado) - Departamento de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, UFSC.

MICHIELIN, E. M. Z.; BRESCIANI, L. F. V.; DANIELSKI, L.; YUNES, R. A.; FERREIRA, S. R. S. Composition profile of horsetail (*Equisetum giganteum* L.)

oleoresin: comparing SFE and organic solvents extraction. **Journal of Supercritical Fluids**, v.33, n.2, p.131-138, 2005.

NASSU, R. T.; GONÇALVES, L. A. G.; PEREIRA DA SILVA, M. A. A.; BESERRA, F. J. Oxidative stability of fermented goat meat sausage with different levels of natural antioxidant. **Meat Science**, v. 63, n. 1, p. 43-49, 2003.

PANDIT, V. A.; SHELEF, L. A. Sensitivity of *Listeria monocytogenes* to rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.). **Food Microbiology**, v. 11, n. 1, p. 57-63, 1994.

PANIZZI, L.; FLAMINI, G.; CIONI, P. L.; MORELLI, I. Composition and antimicrobial properties of essential oils of four mediterranean lamiaceae. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 39, n. 3, p. 167-170, 1993.

PORTE, A.; GODOY, R. L. D. O. Alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.): Propriedades Antimicrobiana e Química do Óleo Essencial. **Boletim do CEPPA**, v. 19, n. 2, p. 193-210, 2001.

REVERCHON, E. Supercritical fluid extraction and fractionation of essential oils and related products. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 10, n. 1, p. 1-37, 1997.

REVERCHON, E.; DONSI, G.; OSSEO, L. S. Modeling of supercritical fluid extraction from herbaceous matrices. **Ind. Eng. Chem. Res.**, v. 32, n. 11, p. 2721-2726, 1993.

REVERCHON, E.; DONSI, G.; POTA, F. Extraction of essential oils using supercritical CO₂: effect of some process and preprocess parameters. **Ital. J. Food Sci.**, v. 3, n. [s/n], p. 187-194., 1992.

REVERCHON, E.; KAZIUNAS, A.; MARRONE, C. Supercritical CO₂ extraction of hiprose seed oil: experiments and mathematical modelling. **Chemical Engineering Science**, v. 55, n. [s/n], p. 2195-2201, 2000.

RIBEIRO, M. A.; BERNARDO-GIL, M. G.; ESQUÍVEL, M. M. *Melissa officinalis*, L.: study of antioxidant activity in supercritical residues. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 21, n. 1, p. 51–60, 2001.

RICE-EVANS, C. A.; MILLER, N. J.; PAGANGA, G. Antioxidant properties of phenolic compounds. **Trends in Plant Science**, v. 2, n. 4, p. 152-159, 1997.

RODRIGUES, V. M.; ROSA, P. T. V.; MARQUES, M. O. M.; PETENATE, A. J.; MEIRELES, M. A. A. Supercritical extraction of essential oil from aniseed (*Pimpinella anisum* L) using CO₂: solubility, kinetics, and composition data. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, n. 6, p. 1518-1523, 2003.

SAENZ-LOPEZ, R.; FERNANDEZ-ZURBANO, P.; TENA, M. T. Capillary electrophoretic separation of phenolic diterpenes from rosemary. **Journal of Chromatography A**, v. 953, n. 1-2, p. 251–256, 2002.

SEÑORÁNS, F. J.; IBAÑEZ, E.; CAVERO, S.; TABERA, J.; REGLERO, G. Liquid chromatographic–mass spectrometric analysis of supercritical-fluid extracts of rosemary plants. **Journal of Chromatography A**, v. 870, n. 1-2, p. 491-499, 2000.

SHELEF, L. A.; NAGLIK, O. A.; BOGEN, D. W. Sensitivity of some common food-borne bacteria to the spices sage, rosemary and allspice. **Journal of Food Science**, v. 45, n. 4, p. 1042-1044, 1980.

SIMÕES, M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 2ed. rev. – Porto Alegre. Editora da UFSC – Florianópolis, 2000. 821p.

SOARES, S. E. Ácidos fenólicos como antioxidantes. **Revista de Nutrição**, v. 15, n. 1, p. 71-81, 2002.

SOLIMAN, F. M.; EL-KASHORY, E. A.; FATHY, M. M.; GONAIID, M. H. Analysis and biological activity of the essential oil of *Rosmarinus officinalis* from Egypt. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 9, n. 1, p. 29-33, 1994.

SOVOVÁ, H. Mathematical model for supercritical fluid extraction of natural products and extraction curve evaluation. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 33, n. 1, p. 35-52, 2005.

SOVOVÁ, H. Rate of the vegetable oil extraction with supercritical CO₂ - modeling of extraction curves. **Chemical Engineering Science**, v. 49, n. 3, p. 409-414, 1994.

STARMANS, D. A. J.; NIJHUIS, H. H. Extraction of secondary metabolites from plant material: A review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 7, n. 6, p. 191-197, 1996.

SVOBODA, K. P.; DEANS, S. G. A study of the variability of rosemary and sage and their volatile oils on the British market: their antioxidative properties. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 7, n. 2, p. 81-87, 1992.

THORSEN, M. A.; HILDEBRANDT, K. S. Quantitative determination of phenolic diterpenes in rosemary extracts - Aspects of accurate quantification. **Journal of Chromatography A**, v. 995, n. 1-2, p. 119-125, 2003.

TORRE, J.; LORENZO, M. P.; MARTÍNEZ-ALCÁZAR, M. P.; BARBAS, C. Simple high-performance liquid chromatography method for α -tocopherol measurement in *Rosmarinus officinalis* leaves - New data on α -tocopherol content. **Journal of Chromatography A**, v. 919, n. 2, p. 305-311, 2001.

VELIOGLU, Y. S.; MAZZA, G.; GAO, L.; OOMAH, B. D. Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables, and grain products. **J. Agric. Food Chem.**, v. 46, n. 10, p. 4113-4117, 1998.

WEINHOLD, T. S. **Efeito das condições de processo na composição da oleoresina de avenca-da-praia (*Polygala cyparissias*)**. Florianópolis, 2003. 90 p. (Dissertação de Mestrado) - Departamento de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, UFSC.

YEPEZ, B.; ESPINOSA, M.; LÓPEZ, S.; BOLAÑOS, G. Producing antioxidant fractions from herbaceous matrices by supercritical fluid extraction. **Fluid Phase Equilibria**, v. 194–197, n. [s/n], p. 879–884, 2002.

YODA, S. K. **Estudo da cinética da extração dos glicosídeos da *Stevia rebaudiana bertonii* com mistura CO₂ + água**. Campinas, 2001. (Dissertação de Mestrado em Engenharia de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, UNICAMP.

ZANCAN, K. C.; MARQUES, M. O. M.; PETENATE, A. J.; MEIRELES, M. A. A. Extraction of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) oleoresin with CO₂ and co-solvents: a study of the antioxidant action of the extracts. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 24, n. 1, p. 57-76, 2002.

ZHENG, W.; WANG, S. Y. Antioxidant activity and phenolic compounds in selected herbs. **J. Agric. Food Chem.**, v. 49, n. 11, p. 5165-5170, 2001.

ANEXO I – EQUAÇÕES DOS MODELOS

ANEXO I-A – MODELO DE CRANK

Apresentado por REVERCHON (1997), o Modelo de CRANK (1975) é baseado na analogia da transferência de calor, ou seja, nesse caso a ESC é tratada como um fenômeno de transferência de calor. Cada partícula vegetal única é considerada como uma esfera quente que está sendo refrigerada em um meio uniforme. Assumindo que os componentes a serem extraídos estão uniformemente distribuídos no interior da partícula, e aplicando a segunda lei de Fick para a difusão, da analogia da transferência de calor e transformadas de Fourier, o balanço de material através da superfície interna da partícula pode ser resolvido analiticamente dando:

$$\frac{X}{X_0} = \left(\frac{6}{\pi^2} \right) \sum_{n=1}^{\infty} \frac{1}{n^2} \exp\left(-\frac{n^2 \pi^2 D t}{r^2} \right) \quad (\text{IA.1})$$

onde n é um inteiro, r é o raio da esfera (m), D é o coeficiente de difusão do soluto na esfera (m^2s^{-1}), t é o tempo de extração (s), X é a concentração do soluto remanescente na esfera (kg/m^3), e X_0 é a concentração inicial de material extraível. A extensão dos resultados ao leito inteiro de partículas é imediato, desde que todas as partículas estejam supostamente assumidas como estando na mesma condição de extração.

ANEXO I-B – MODELO DE SOVOVÁ

SOVOVÁ (1994) descreve um modelo baseado em balanços de massa considerando que o solvente escoia axialmente com velocidade superficial u através de um leito fixo de seção transversal cilíndrica. Considera-se que na entrada do extrator o solvente está livre de soluto e a temperatura e pressão de operação são constantes. O tamanho das partículas e a distribuição do soluto no interior do sólido são consideradas homogêneas e o soluto encontra-se nas células do sólido, protegido pela parede celular. Devido a moagem, algumas células apresentam sua parede celular rompida tornando parte do soluto exposto ao solvente.

Para aplicação do modelo as condições de balanço de massa para a fase sólida e fluida são respectivamente:

$$\text{Fase sólida:} \quad -\rho_s(1-\varepsilon)\frac{\partial X}{\partial t} = J(X, Y) \quad (\text{IB.1})$$

$$\text{Fase fluida:} \quad \rho_f u \frac{\partial Y}{\partial h} = J(X, Y) \quad (\text{IB.2})$$

onde X e Y são as razões mássicas de soluto nas fases sólida e fluida respectivamente; ρ_s e ρ_f são as densidades da fase sólida e fluida respectivamente ($\text{kg}_{\text{solvente}}/\text{m}^3$); ε é a porosidade do leito; t é o tempo (s); h é a coordenada axial (m), u é a velocidade superficial do solvente (m/s) e $J(X, Y)$ é a taxa de transferência de massa ($\text{kg}/\text{m}^3 \cdot \text{s}$).

As condições iniciais e de contorno para a resolução das equações de balanço de massa são:

$$x(h, t = 0) = x_0 \quad y(h = 0, t) = 0 \quad y(h, t = 0) = 0$$

onde x é a concentração na fase sólida; y é a concentração na fase solvente; h é a posição do leito de sólidos (m); t é o tempo de extração (s) e x_0 é a razão mássica inicial de soluto na fase sólida.

A força motriz para transferência de massa varia de acordo com os domínios dos diferentes mecanismos de transferência (convecção natural, forçada e difusão), presentes no processo de extração. Estes domínios são definidos através da determinação dos teores de óleo de fácil acesso e de difícil acesso na matriz sólida (X_p e X_k respectivamente). Isto possibilita a obtenção de curvas de extração que descrevem a diferentes etapas do processo.

Com base nas equações intermediárias para a aplicação do modelo, este permite a descrição das curvas de extração para as três etapas do processo, apresentadas a seguir:

→ Período de taxa constante de extração (CER): $t < t_{CER}$

$$m_{extr} = Y^* [1 - \exp(-Z)] Q_{CO_2} \cdot t \quad (IB.3)$$

→ Período de taxa decrescente de extração (FER): $t_{CER} \leq t < t_{FER}$

$$m_{extr} = Y^* [1 - t_{CER} \cdot \exp(z_W - Z)] Q_{CO_2} \quad (IB.4)$$

→ Período controlado pela difusão: $t \geq t_{FER}$

$$m_{extr} = N \left\langle X_o - \frac{Y^*}{W} \ln \left\{ 1 + \left[\exp \left(\frac{W X_o}{Y^*} \right) - 1 \right] \exp \left[\left(\frac{W Q_{CO_2}}{N} \right) (t_{CER} - t) \right] \frac{X_k}{X_o} \right\} \right\rangle \quad (IB.5)$$

onde m_{extr} é a massa de extrato (kg); t_{CER} é a duração da etapa constante de extração (s), N é a massa de matéria-prima livre de soluto (kg); Y^* é a solubilidade (kg/kg); Q_{CO_2} é a vazão média do solvente (kg/s); t_{FER} é o período de taxa decrescente de extração (s); x_o é a razão mássica inicial de soluto na fase sólida; X_k é a razão mássica de soluto no interior de células intactas.

Com base nas Equações IB.1 E IB.2 descritas acima referente às equações de balanço de massa na fase sólida e fluida e às considerações das condições iniciais e de contorno, a aplicação do modelo de transferência de massa descrito implica no conhecimento prévio do teor de soluto extraível pelo solvente.

Assim, o teor de óleo disponível é definido como o teor inicial de óleo no sólido (O) igual a soma do óleo de fácil acesso (P), que se encontra na superfície do sólido e o óleo de difícil acesso (K), no interior da partícula, conforme equação IB.6.

$$O = P + K \quad (\text{IB.6})$$

A concentração de soluto na fase sólida é descrita através do teor de sólidos totais livre de soluto, ou sólido inerte (N), através das relações:

$$X_o = \frac{O}{N}; \quad X_K = \frac{K}{N}; \quad X_P = \frac{P}{N} \quad (\text{IB.7})$$

SOVOVÁ (1994) resolveu as Equações IB.1 e IB.2 utilizando as condições de contorno e as Equações IB.6 e IB.7 descrevendo as Equações IB.3 a IB.5 com as seguintes restrições:

Nas três equações do modelo, a quantidade Z é diretamente proporcional ao coeficiente de transferência de massa da fase fluida, indicando um parâmetro para a etapa CER:

$$Z = \frac{N \cdot k_{ya} \cdot \rho_{CO_2}}{Q_{CO_2} \cdot (1 - \varepsilon) \rho_s} \quad (\text{IB.8})$$

Para a solução do modelo, é necessário o conhecimento dos seguintes parâmetros (YODA, 2001):

→ M_{CER} = taxa de extração na etapa CER (kg/s);

→ Y_{CER} = razão mássica do soluto na fase supercrítica na saída da coluna na etapa CER (kg_{extrato}/kg_{CO2});

→ t_{CER} = duração da etapa CER (s).

Esses parâmetros são descritos pelo ajuste de duas retas sob a curva de extração (massa de oleoresina acumulada *versus* tempo de extração) com o auxílio do pacote estatístico SAS. O parâmetro M_{CER} é o valor da tangente no período CER e, a partir do

mesmo obtêm-se o valor de Y_{CER} (concentração de soluto na fase solvente na etapa CER) através da equação:

$$Y_{CER} = \frac{M_{CER}}{Q_{CO_2}} \quad (IB.9)$$

onde Q_{CO_2} é a vazão do solvente (kg/s).

As demais restrições e definições são descritas:

$$t_{CER} = \frac{X_0 - X_k}{Y^* \cdot Z} \frac{N}{Q_{CO_2}} \quad (IB.10)$$

$$X_p = X_0 - X_k \quad (IB.11)$$

$$X_k = X_0 - X_p \quad (IB.12)$$

$$\frac{z_w}{Z} = \frac{Y^*}{WX_0} \ln \left\{ \frac{X_0 \cdot \exp\left[\left(\frac{W \cdot Q_{CO_2}}{N}\right)(t - t_{CER})\right] - X_k}{X_0 - X_k} \right\} \quad (IB.13)$$

$$W = \frac{N \cdot k_{Xa}}{Q_{CO_2} \cdot (1 - \varepsilon)} = k \frac{ZY^*}{X_k} \quad (IB.14)$$

$$t_{FER} = t_{CER} + \frac{N}{Q_{CO_2} \cdot W} \ln \left[\frac{X_k + (X_0 - X_k) \cdot \exp(WX_0/Y^*)}{X_0} \right] \quad (IB.15)$$

onde m_{extr} é a massa de extrato (kg); t_{CER} é a duração da etapa constante de extração (s); N é a massa de matéria-prima livre de soluto (kg); Y^* é a solubilidade (kg/kg); Q_{CO_2} é a vazão média do solvente (kg/s); t_{FER} é o período de taxa decrescente de extração (s); X_0 é a razão mássica inicial de soluto na fase sólida; X_k é a razão mássica de soluto no interior de células intactas.

ANEXO I-C – MODELO DE MARTÍNEZ et al.

Conforme MARTÍNEZ et al. (2003), a maioria dos modelos matemáticos apresentados na literatura para descrever as curvas totais de extração com fluido supercrítico (ESC) são baseados no balanço de massa para a extração em leito e a descrição do fenômeno de transporte que ocorre dentro dele. O leito de extração pode ser dividido em duas fases: (a) a fase sólida, compostas de material vegetal cru de onde o extrato é obtido, e (b) uma fase fluida, composta de solvente supercrítico com o extrato dissolvido nele.

A ESC é tratada como um leito cilíndrico de partículas sólidas, e o solvente supercrítico flui axialmente através dele, removendo os compostos solúveis da fase sólida. Ambas as fases envolvidas no processo são consideradas como ocupantes de todo o volume do leito de extração. Com essas considerações, o balanço de massa em ambas as fases fluida e sólida pode ser expresso pelas Equações IC.1 e IC.2, respectivamente:

$$\frac{\partial Y}{\partial t} + u \frac{\partial Y}{\partial h} = \frac{\partial}{\partial h} \left(D_{ay} \frac{\partial Y}{\partial h} \right) + \frac{J(X, Y)}{\varepsilon} \quad (\text{IC.1})$$

$$\frac{\partial X}{\partial t} = \frac{\partial}{\partial h} \left(D_{ax} \frac{\partial X}{\partial h} \right) - \frac{J(X, Y)}{(1 - \varepsilon)} \frac{\rho}{\rho_s} \quad (\text{IC.2})$$

Nas Equações IC.1 e IC.2, X e Y são as taxas de massa do soluto nas fases sólida e fluida, respectivamente; u é a velocidade intersticial do solvente h é a coordenada axial no leito de extração; D_{ay} é o coeficiente de dispersão axial; D_{ax} é o coeficiente de difusão na fase sólida; ρ é a densidade do solvente; ρ_s é a densidade do sólido; ε é a porosidade do leito; e $J(X, Y)$ é o fluxo de transferência de massa interfacial.

Como pode ser observado, as Equações IC.1 e IC.2 englobam todos os fenômenos de transporte que podem ocorrer durante o processo ESC: acúmulo em ambas as fases, convecção e dispersão na fase fluida, difusão na fase sólida, e transferência de massa interfacial. A diferença entre os vários modelos da literatura

reside na interpretação dada para cada fenômeno e na possibilidade de negligenciar algum deles.

O modelo apresentado negligencia o acúmulo e a dispersão na fase fluida porque esse fenômeno não tem influência significativa no processo quando comparado com o efeito da convecção. Assim, a equação do balanço de massa para a fase fluida pode ser simplificado:

$$u \frac{\partial Y}{\partial h} = \frac{J(X, Y)}{\varepsilon} \quad (\text{IC.3})$$

com a seguinte condição de contorno:

$$Y(h = 0, t) = 0 \quad (\text{IC.4})$$

O termo de transferência de massa interfacial, representado como $J(X, Y)$, pode ser interpretado de diferentes formas. Aqui foi definido como uma função S que depende da composição do extrato ao longo do processo. A equação logística, frequentemente aplicada para modelos de crescimento de população, foi escolhida para descrever a variação da composição do extrato, e uma de suas soluções foi incorporada dentro do termo de transferência de massa interfacial, representado na Equação IC.5:

$$J(X, Y) = S = \sum_{i=1}^n S_i \quad (\text{IC.5})$$

onde:

$$S = \frac{A_i b_i \exp[b_i(t_{mi} - t)]}{\{1 - \exp[b_i(t_{mi} - t)]\}} \quad (\text{IC.6})$$

Após a integração da Equação IC.3 em h com a condição de contorno da Equação IC.4, a equação para a taxa de massa do extrato na fase fluida foi obtida:

$$Y(h = H, t) = \frac{H}{u\varepsilon} \sum_{i=1}^n S_i \quad (\text{IC.7})$$

Na Equação IC.7, H é o comprimento total do leito de extração.

Finalmente, a equação para a curva total de extração foi obtida pela integração da Equação IC.7 no tempo com a condição inicial da Equação IC.8:

$$m(h = H, t = 0) = 0 \quad (\text{IC.8})$$

$$m(h = H, t) = \int_0^t Y Q_{CO_2} dt = \frac{Q_{CO_2} H}{u \varepsilon} \sum_{i=1}^n \int_0^t S_i dt \quad (\text{IC.9})$$

Para um grupo único de compostos, a curva de extração pode ser representada pela Equação IC.10 que mostra o resultado da integração da função S .

$$m_i(h = H, t) = \frac{Q_{CO_2} H A_i}{u \varepsilon} \left\{ \frac{1}{1 + \exp[b_i(t_{mi} - t)]} - \frac{1}{1 + \exp[b_i t_{mi}]} \right\} \quad (\text{IC.10})$$

Em ambas as Equações IC.9 e IC.10, Q_{CO_2} representa a taxa de fluxo de massa do solvente dentro do leito de extração.

Na análise da Equação IC.10, pode ser observado que quando o tempo tende ao infinito, a massa de compostos extraídos i tende para um valor fixo, assintoticamente. Esse valor pode ser considerado como a massa total extraível desse composto, a uma dada condição de processo. Levando em conta essa observação, junto com o rearranjo da Equação IC.10, uma nova equação para um grupo único de compostos foi definida:

$$m_i(h = H, t) = \frac{m_{ti}}{\exp(b_i t_{mi})} \left\{ \frac{1 + \exp(b_i t_{mi})}{1 + \exp[b_i(t_{mi} - t)]} - 1 \right\} \quad (\text{IC.11})$$

Como pode ser visto na Equação IC.11, o parâmetro A_i foi eliminado, e a massa total do grupo único de compostos, m_{ti} , aparece na equação. A vantagem desse rearranjo é que o novo parâmetro tem um significado físico claro e pode ser determinado experimentalmente se a massa total extraível e a composição total do extrato são conhecidas. Nesse caso, o modelo pode ser reduzido a dois parâmetros ajustáveis por grupo de compostos: b_i e t_{mi} . Caso contrário, se esses dados não forem determinados experimentalmente, o parâmetro m_{ti} também deve ser ajustado para cada grupo de compostos.

ANEXO II – DADOS EXPERIMENTAIS DAS CURVAS DE ESC

ANEXO II-A – DADOS EXPERIMENTAIS: UNIDADE ESC-A

Tabela II-A.1 – Dados experimentais ESC 100 bar / 30 °C – 1,205 gCO₂/min.

Tempo [min]	Massa acumulada extrato [g]
0	0,0000
10	0,0046
20	0,0149
30	0,0283
40	0,0478
50	0,0573
60	0,0671
80	0,0722
100	0,0859
120	0,1067
150	0,1308
180	0,1534
210	0,1677
240	0,1916
300	0,2289
360	0,2745
420	0,3317
480	0,3639
540	0,3716
600	0,3765

Tabela II-A.2 – Dados experimentais ESC 100 bar / 40 °C – 1,425 gCO₂/min.

Tempo [min]	Massa acumulada extrato [g]
0	0,0000
20	0,0031
40	0,0121
60	0,0176
90	0,0285
120	0,0435
150	0,0572
180	0,0728
240	0,1132
300	0,1531
360	0,1929
420	0,2267
480	0,2393
540	0,2416
600	0,2449
630	0,2465

Tabela II-A.3 – Dados experimentais ESC 100 bar / 50 °C – 1,478 gCO₂/min.

Tempo [min]	Massa acumulada extrato [g]
0	0,0000
10	0,0039
20	0,0078
30	0,0101
40	0,0117
50	0,0139
60	0,0152
80	0,0226
100	0,0283
120	0,0302
150	0,0371
180	0,0424
210	0,0527
240	0,0664
300	0,0841
360	0,1038
420	0,1130
480	0,1145
540	0,1165
600	0,1178

Tabela II-A.4 – Dados experimentais ESC 200 bar / 30 °C – 1,135 gCO₂/min.

Tempo [min]	Massa acumulada extrato [g]
0	0,0000
10	0,0103
20	0,0186
30	0,0381
40	0,0536
50	0,0799
60	0,1096
80	0,1469
100	0,2224
120	0,2661
150	0,3168
180	0,3533
210	0,3589
240	0,3862
300	0,4098
360	0,4391
420	0,4408
480	0,4422

Tabela II-A.5 – Dados experimentais ESC 200 bar / 40 °C – 1,084 gCO₂/min.

Tempo [min]	Massa acumulada extrato [g]
0	0,0000
10	0,0067
20	0,0261
30	0,0609
40	0,0811
50	0,0982
60	0,1336
80	0,1821
100	0,2309
120	0,2786
150	0,3401
180	0,3953
210	0,4029
240	0,4113
300	0,4153

Tabela II-A.6 – Dados experimentais ESC 200 bar / 40 °C – 0,910 gCO₂/min.

Tempo [min]	Massa acumulada extrato [g]
0	0,0000
10	0,0035
20	0,0042
30	0,0126
40	0,0186
50	0,0288
60	0,0463
80	0,0944
100	0,1342
120	0,1984
150	0,2738
180	0,3441
210	0,3947
240	0,4515
300	0,5770
360	0,6104
434	0,6108
480	0,6119

ANEXO II-B – DADOS EXPERIMENTAIS: UNIDADE ESC-B

Tabela II-B.1 – Dados experimentais ESC 100 bar / 30 °C - 5 gCO₂/min.

Tempo [min]	Massa acumulada extrato [g]
0	0,0000
10	0,0407
20	0,0828
30	0,1271
40	0,1657
50	0,2076
60	0,2276
80	0,2631
100	0,2943
120	0,3113
156	0,3236
180	0,3520
240	0,3622

Tabela II-B.2 – Dados experimentais ESC 100 bar / 40 °C - 5 gCO₂/min.

Tempo [min]	Massa acumulada extrato [g]
0	0,0000
10	0,0284
20	0,0650
30	0,1036
40	0,1339
50	0,1638
60	0,1923
80	0,2353
100	0,2713
120	0,3013
150	0,3256
180	0,3372
240	0,3407

Tabela II-B.3 – Dados experimentais ESC 100 bar / 50 °C - 5 gCO₂/min.

Tempo [min]	Massa acumulada extrato [g]
0	0,0000
10	0,0121
20	0,0219
30	0,0406
40	0,0635
50	0,0854
60	0,1062
80	0,1220
100	0,1516
120	0,1629
150	0,1855
180	0,2104
240	0,2236

Tabela II-B.4 – Dados experimentais ESC 200 bar / 30 °C - 5 gCO₂/min.

Tempo [min]	Massa acumulada extrato [g]
0	0,0000
10	0,0455
20	0,0992
30	0,1702
40	0,1991
50	0,2271
60	0,2461
80	0,2781
100	0,3077
120	0,3370
150	0,3646
180	0,3783
240	0,3842

Tabela II-B.5 – Dados experimentais ESC 200 bar / 40 °C - 5 gCO₂/min.

Tempo [min]	Massa acumulada extrato [g]
0	0,0000
10	0,0658
20	0,1077
30	0,1637
40	0,1877
50	0,2203
60	0,2491
80	0,3001
100	0,3276
120	0,3575
150	0,3823
180	0,3953
240	0,3998

Tabela II-B.6 – Dados experimentais ESC 200 bar / 40 °C – 8,33 gCO₂/min.

Tempo [min]	Massa acumulada extrato [g]
0	0,0000
10	0,1190
20	0,1822
30	0,2427
40	0,2897
50	0,3230
60	0,3415
80	0,3862
110	0,4407
150	0,4599
180	0,4710
240	0,4751

Tabela II-B.7 – Dados experimentais ESC 200 bar / 40 °C – 11,67 gCO₂/min.

Tempo [min]	Massa acumulada extrato [g]
0	0,0000
10	0,1985
20	0,2843
30	0,3403
40	0,3768
50	0,4163
60	0,4402
80	0,4804
100	0,4956
120	0,5059
150	0,5195
180	0,5311
240	0,5372

Tabela II-B.8 – Dados experimentais ESC 200 bar / 50 °C - 5 gCO₂/min.

Tempo [min]	Massa acumulada extrato [g]
0	0,0000
10	0,0957
20	0,2066
30	0,2710
40	0,3154
50	0,3724
60	0,4026
80	0,4254
100	0,4661
120	0,4721
150	0,4783
180	0,4909
240	0,4980

Tabela II-B.9 – Dados experimentais ESC 300 bar / 30 °C - 5 gCO₂/min.

Tempo [min]	Massa acumulada extrato [g]
0	0,0000
10	0,0640
20	0,1496
30	0,2189
40	0,2426
50	0,2662
60	0,2849
80	0,3238
100	0,3564
120	0,3895
156	0,4345
180	0,4565
240	0,4645

Tabela II-B.10 – Dados experimentais ESC 300 bar / 40 °C - 5 gCO₂/min.

Tempo [min]	Massa acumulada extrato [g]
0	0,0000
10	0,0662
20	0,1431
30	0,2198
40	0,2456
50	0,2687
60	0,3153
80	0,3604
100	0,4109
120	0,4537
150	0,4663
180	0,4694
240	0,4774

Tabela II-B.11 – Dados experimentais ESC 300 bar / 50 °C - 5 gCO₂/min.

Tempo [min]	Massa acumulada extrato [g]
0	0,0000
10	0,1132
20	0,2473
30	0,3120
40	0,3573
50	0,3786
60	0,4077
80	0,4438
100	0,4760
120	0,4951
150	0,5214
180	0,5287
240	0,5287

**ANEXO III – DADOS DAS CURVAS AJUSTADAS PELO SAS
(DADOS DE SOLUBILIDADE PRELIMINAR)**

ANEXO III-A – ENSAIO ESC 100 bar / 30 °C – 1,205 gCO₂/min

The NLIN Procedure

1

Parameter	Estimate	Approx Std Error	Approximate 95% Confidence Limits	
b0	0.00981	0.00283	0.00381	0.0158
b1	0.000629	0.000013	0.000603	0.000656
b2	-0.00054	0.000077	-0.00071	-0.00038
knot1	561.1	17.9085	523.2	599.1

Approximate Correlation Matrix				
	b0	b1	b2	knot1
b0	1.0000000	-0.7467577	0.1221047	0.2516018
b1	-0.7467577	1.0000000	-0.1635132	-0.5096332
b2	0.1221047	-0.1635132	1.0000000	-0.6069599
knot1	0.2516018	-0.5096332	-0.6069599	1.0000000

2

Obs	mCO2	mext	AL1	MEXTHAT	MRES
1	0.000	0.0000	0.000	0.00981	-0.009812
2	12.048	0.0046	0.000	0.01739	-0.012793
3	24.097	0.0149	0.000	0.02497	-0.010073
4	36.145	0.0283	0.000	0.03255	-0.004254
5	48.193	0.0478	0.000	0.04013	0.007666
6	60.241	0.0573	0.000	0.04771	0.009585
7	72.290	0.0671	0.000	0.05530	0.011804
8	96.386	0.0722	0.000	0.07046	0.001743
9	120.483	0.0859	0.000	0.08562	0.000282
10	144.579	0.1067	0.000	0.10078	0.005921
11	180.724	0.1308	0.000	0.12352	0.007279
12	216.869	0.1534	0.000	0.14626	0.007138
13	253.014	0.1677	0.000	0.16900	-0.001304
14	289.158	0.1916	0.000	0.19175	-0.000146
15	361.448	0.2289	0.000	0.23723	-0.008329
16	433.738	0.2745	0.000	0.28271	-0.008212
17	506.027	0.3317	0.000	0.32820	0.003504
18	578.317	0.3639	0.000	0.36437	-0.000467
19	650.606	0.3716	70.606	0.37067	0.000933
20	722.896	0.3765	142.896	0.37697	-0.000467

Ensaio 18 ago 04: 30oC, 100bar, Alecrim

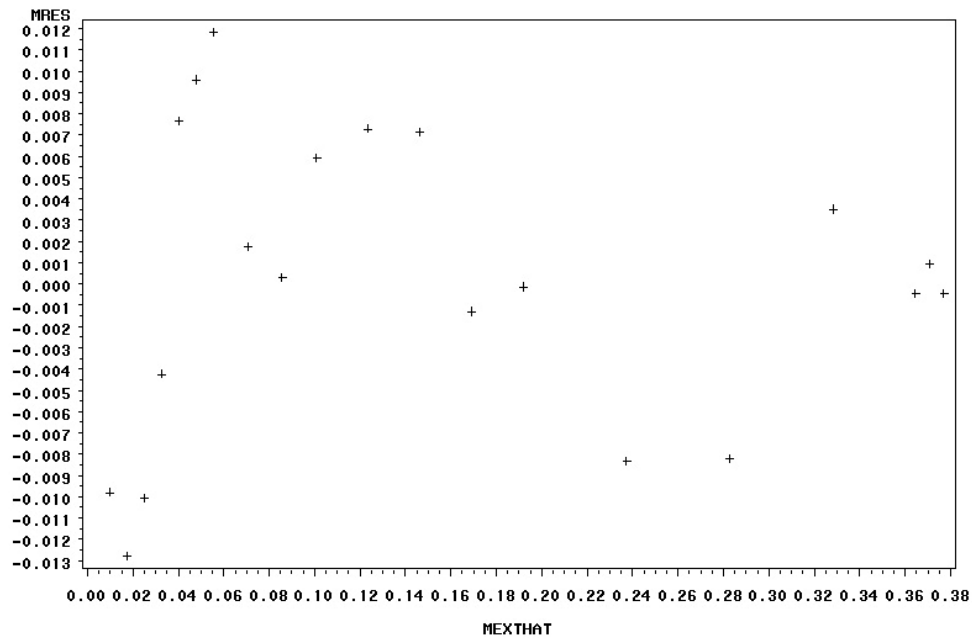


Figura IIIA.1 – Gráfico SAS da dispersão para ESC 100 bar/30 °C.

Ensaio 18 ago 04: 30oC, 100bar, Alecrim

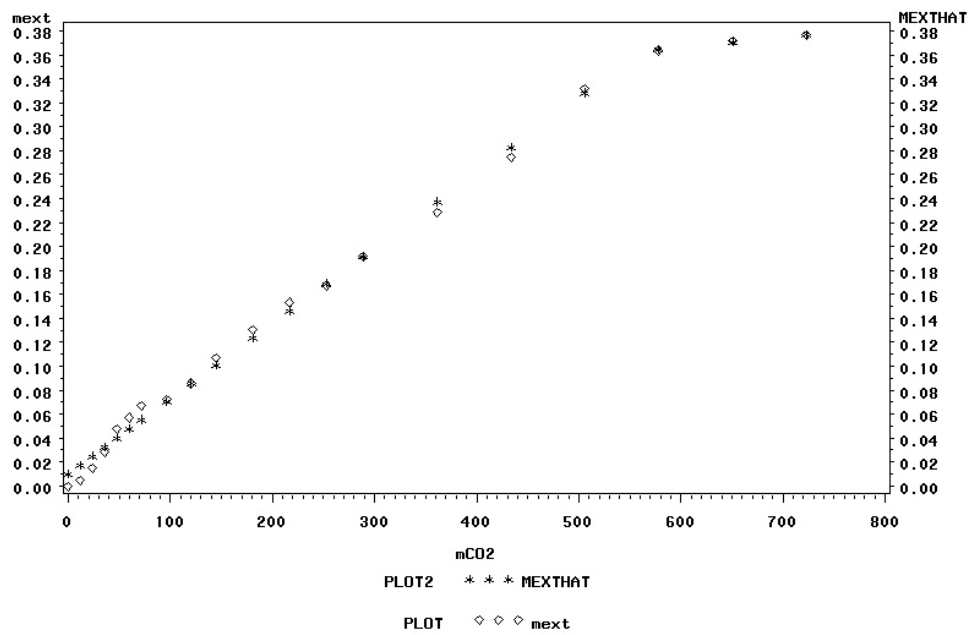


Figura IIIA.2 – Gráfico SAS de ajuste para ESC 100 bar/30 °C.

ANEXO III-B – ENSAIO ESC 100 bar / 40 °C – 1,425 gCO₂/min

The NLIN Procedure

1

Parameter	Estimate	Approx Std Error	Approximate 95% Confidence Limits	
b0	-0.0152	0.00386	-0.0236	-0.00676
b1	0.000391	0.000013	0.000363	0.000419
b2	-0.00036	0.000053	-0.00047	-0.00024
knot1	647.1	29.8008	582.2	712.1

Approximate Correlation Matrix

	b0	b1	b2	knot1
b0	1.0000000	-0.7802778	0.1903022	0.2455423
b1	-0.7802778	1.0000000	-0.2438903	-0.4967647
b2	0.1903022	-0.2438903	1.0000000	-0.5959879
knot1	0.2455423	-0.4967647	-0.5959879	1.0000000

2

Obs	mCO2	mext	AL1	MEXTHAT	MRES
1	0.000	0.0000	0.000	-0.01518	0.015178
2	28.494	0.0031	0.000	-0.00404	0.007138
3	56.989	0.0121	0.000	0.00710	0.004998
4	85.483	0.0176	0.000	0.01824	-0.000641
5	128.224	0.0285	0.000	0.03495	-0.006451
6	170.966	0.0435	0.000	0.05166	-0.008161
7	213.707	0.0572	0.000	0.06837	-0.011170
8	256.448	0.0728	0.000	0.08508	-0.012280
9	341.931	0.1132	0.000	0.11850	-0.005299
10	427.414	0.1531	0.000	0.15192	0.001182
11	512.896	0.1929	0.000	0.18534	0.007563
12	598.379	0.2267	0.000	0.21876	0.007943
13	683.862	0.2393	13.862	0.23907	0.000229
14	769.345	0.2416	99.345	0.24198	-0.000383
15	854.827	0.2449	184.827	0.24489	0.000005
16	897.569	0.2465	227.569	0.24635	0.000149

Ensaio 30 jul 04: 40oC, 100bar, Alecrim

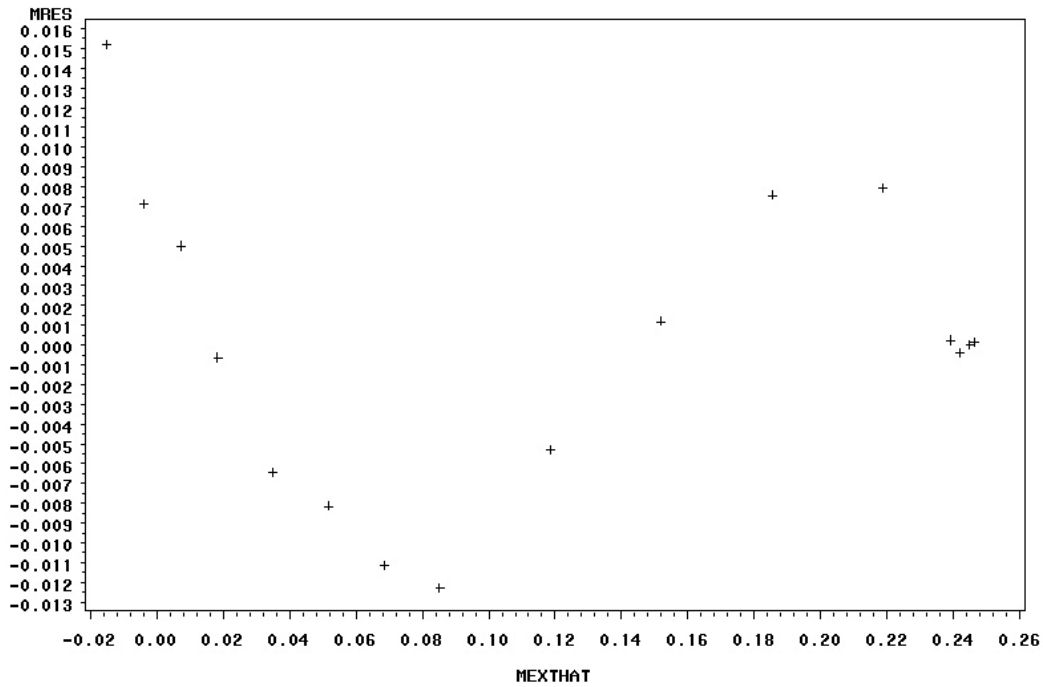


Figura IIB.1 – Gráfico SAS da dispersão para ESC 100 bar/40 °C.

Ensaio 30 jul 04: 40oC, 100bar, Alecrim

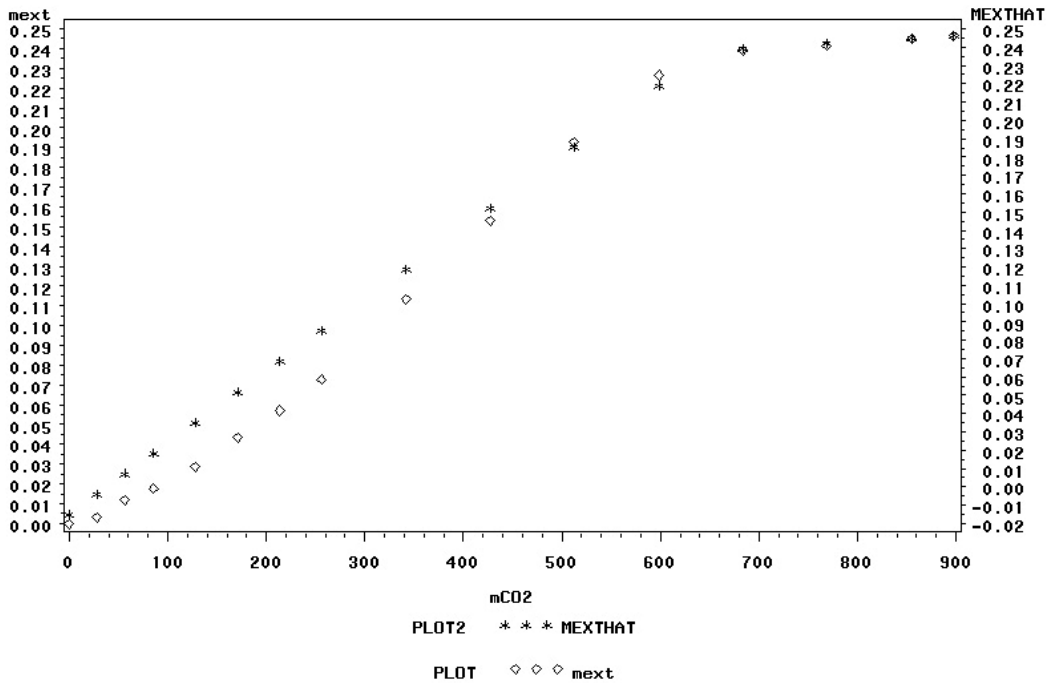


Figura IIB.2 – Gráfico SAS de ajuste para ESC 100 bar/40 °C.

ANEXO III-C – ENSAIO ESC 100 bar / 50 °C – 1,478 gCO₂/min

1

The NLIN Procedure

Parameter	Estimate	Approx Std Error	Approximate 95% Confidence Limits	
b0	-0.00034	0.00112	-0.00271	0.00204
b1	0.000186	4.7E-6	0.000176	0.000196
b2	-0.00017	0.000017	-0.00020	-0.00013
knot1	606.8	21.3394	561.6	652.1

Approximate Correlation Matrix

	b0	b1	b2	knot1
b0	1.0000000	-0.7557452	0.2144533	0.2921980
b1	-0.7557452	1.0000000	-0.2837641	-0.5660689
b2	0.2144533	-0.2837641	1.0000000	-0.4933662
knot1	0.2921980	-0.5660689	-0.4933662	1.0000000

2

Obs	mCO2	mext	AL1	MEXTHAT	MRES
1	0.000	0.0000	0.000	-0.00034	0.000339019
2	14.780	0.0039	0.000	0.00241	0.001492219
3	29.560	0.0078	0.000	0.00515	0.002645437
4	44.340	0.0101	0.000	0.00790	0.002198637
5	59.117	0.0117	0.000	0.01065	0.001052394
6	73.900	0.0139	0.000	0.01339	0.000505055
7	88.680	0.0152	0.000	0.01614	-.000941745
8	118.240	0.0226	0.000	0.02164	0.000964673
9	147.800	0.0283	0.000	0.02713	0.001171072
10	177.360	0.0302	0.000	0.03262	-.002422510
11	221.700	0.0371	0.000	0.04086	-.003762892
12	266.039	0.0424	0.000	0.04910	-.006703274
13	310.379	0.0527	0.000	0.05734	-.004643656
14	354.719	0.0664	0.000	0.06558	0.000815962
15	443.399	0.0841	0.000	0.08206	0.002035197
16	532.079	0.1038	0.000	0.09855	0.005254414
17	641.451	0.1130	41.451	0.11312	-.000121520
18	709.439	0.1145	109.439	0.11447	0.000031183
19	798.118	0.1165	198.118	0.11623	0.000273840
20	886.798	0.1178	286.798	0.11798	-.000183503

Ensaio 13 ago 04: 50oC, 100bar, Alecrim

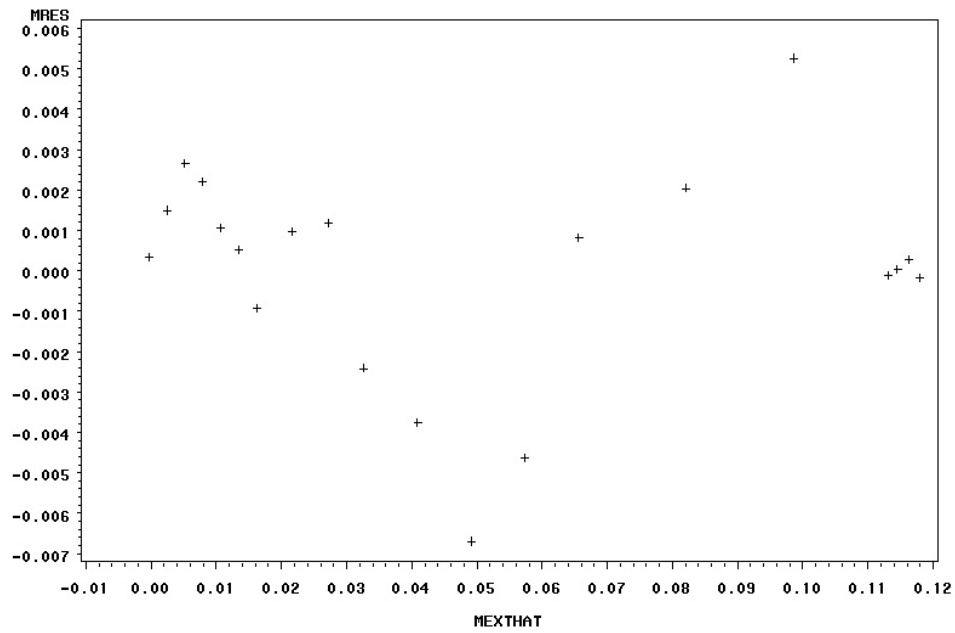


Figura IIC.1 – Gráfico SAS da dispersão para ESC 100 bar/50 °C.

Ensaio 13 ago 04: 50oC, 100bar, Alecrim

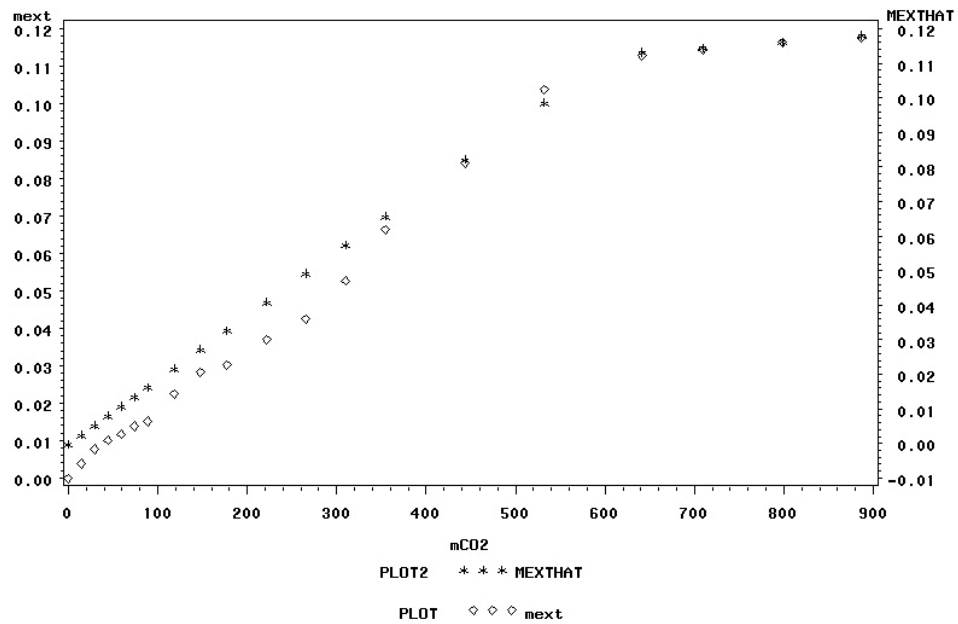


Figura IIC.2 – Gráfico SAS de ajuste para ESC 100 bar/50 °C.

ANEXO III-D – ENSAIO ESC 200 bar / 30 °C – 1,135 gCO₂/min

1

The NLIN Procedure

Parameter	Estimate	Approx Std Error	Approximate 95% Confidence Limits	
b0	-0.0222	0.00698	-0.0372	-0.00723
b1	0.00202	0.000082	0.00184	0.00219
b2	-0.00173	0.000093	-0.00193	-0.00153
knot1	187.6	8.1357	170.2	205.1

Approximate Correlation Matrix

	b0	b1	b2	knot1
b0	1.0000000	-0.7966276	0.6979865	0.3739958
b1	-0.7966276	1.0000000	-0.8761767	-0.6968875
b2	0.6979865	-0.8761767	1.0000000	0.3540209
knot1	0.3739958	-0.6968875	0.3540209	1.0000000

2

Obs	mCO2	mext	AL1	MEXTHAT	MRES
1	0.000	0.0000	0.000	-0.02219	0.022190
2	11.313	0.0103	0.000	0.00063	0.009666
3	22.626	0.0186	0.000	0.02346	-0.004858
4	33.939	0.0381	0.000	0.04628	-0.008182
5	45.252	0.0536	0.000	0.06911	-0.015506
6	56.565	0.0799	0.000	0.09193	-0.012030
7	67.878	0.1096	0.000	0.11475	-0.005155
8	90.505	0.1469	0.000	0.16040	-0.013503
9	113.131	0.2224	0.000	0.20605	0.016349
10	135.757	0.2661	0.000	0.25170	0.014401
11	169.696	0.3168	0.000	0.32017	-0.003372
12	203.635	0.3533	0.000	0.36099	-0.007686
13	237.574	0.3589	0.000	0.37077	-0.011873
14	271.514	0.3862	0.000	0.38056	0.005640
15	339.392	0.4098	0.000	0.40013	0.009666
16	407.270	0.4391	0.000	0.41971	0.019392
17	475.149	0.4408	65.149	0.43928	0.001518
18	543.027	0.4422	133.027	0.45886	-0.016656

Ensaio 19 ago 04: 30oC, 200bar, Alecrim

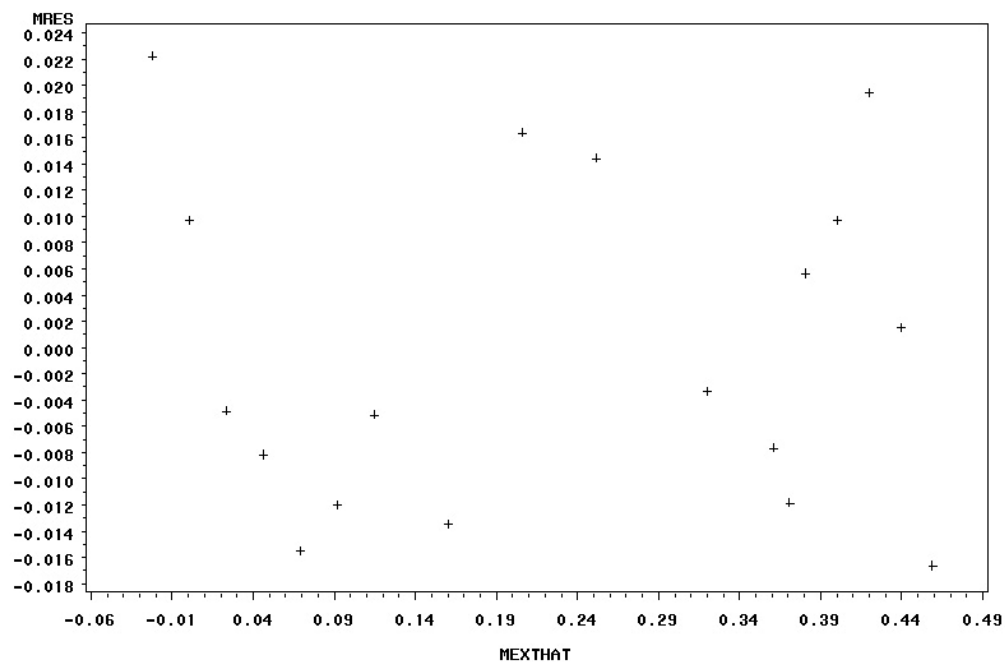


Figura IID.1 – Gráfico SAS da dispersão para ESC 200 bar/30 °C.

Ensaio 19 ago 04: 30oC, 200bar, Alecrim

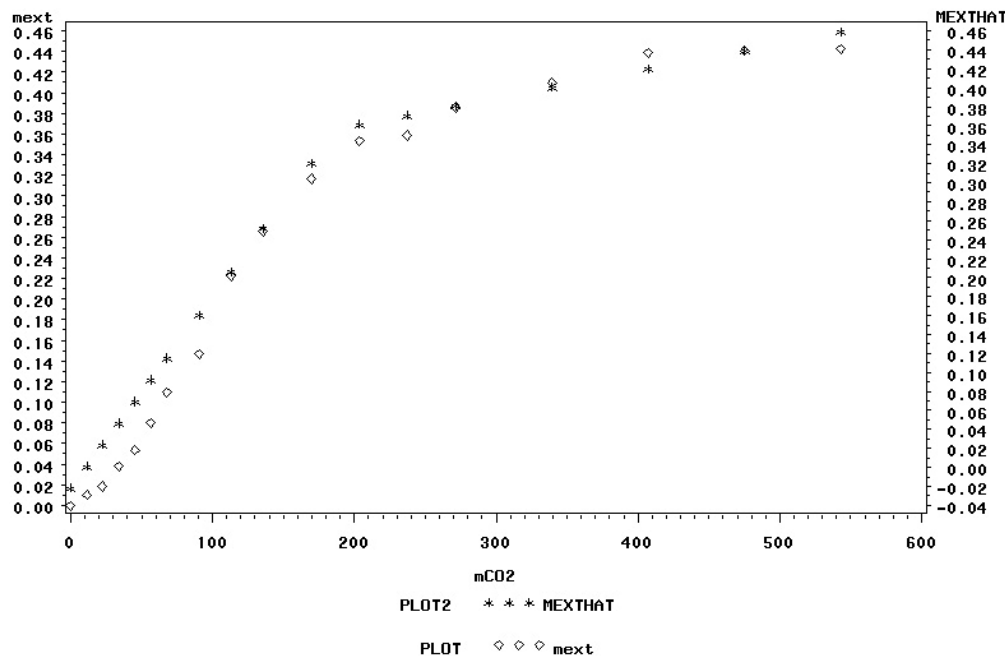


Figura IID.2 – Gráfico SAS de ajuste para ESC 200 bar/30 °C.

ANEXO III-E – ENSAIO ESC 200 bar / 40 °C – 1,084 gCO₂/min

1

The NLIN Procedure

Parameter	Estimate	Approx Std Error	Approximate 95% Confidence Limits	
b0	-0.0124	0.00323	-0.0195	-0.00527
b1	0.00220	0.000040	0.00211	0.00229
b2	-0.00205	0.000078	-0.00222	-0.00188
knot1	185.6	3.6908	177.5	193.7

Approximate Correlation Matrix

	b0	b1	b2	knot1
b0	1.0000000	-0.7966274	0.4036342	0.3468437
b1	-0.7966274	1.0000000	-0.5066788	-0.6315487
b2	0.4036342	-0.5066788	1.0000000	-0.1904408
knot1	0.3468437	-0.6315487	-0.1904408	1.0000000

2

Obs	mCO2	mext	AL1	MEXTHAT	MRES
1	0.000	0.0000	0.000	-0.01238	0.012385
2	10.839	0.0067	0.000	0.01147	-0.004772
3	21.678	0.0261	0.000	0.03533	-0.009228
4	32.517	0.0609	0.000	0.05918	0.001715
5	43.355	0.0811	0.000	0.08304	-0.001941
6	54.194	0.0982	0.000	0.10690	-0.008698
7	65.033	0.1336	0.000	0.13075	0.002845
8	86.711	0.1821	0.000	0.17847	0.003632
9	108.389	0.2309	0.000	0.22618	0.004719
10	130.066	0.2786	0.000	0.27389	0.004706
11	162.583	0.3401	0.000	0.34546	-0.005364
12	195.099	0.3953	0.000	0.39754	-0.002240
13	227.616	0.4029	27.616	0.40249	0.000411
14	260.132	0.4113	60.132	0.40744	0.003863
15	325.165	0.4153	125.165	0.41733	-0.002034

Ensaio 20 ago 04: 40oC, 200bar, Alecrim

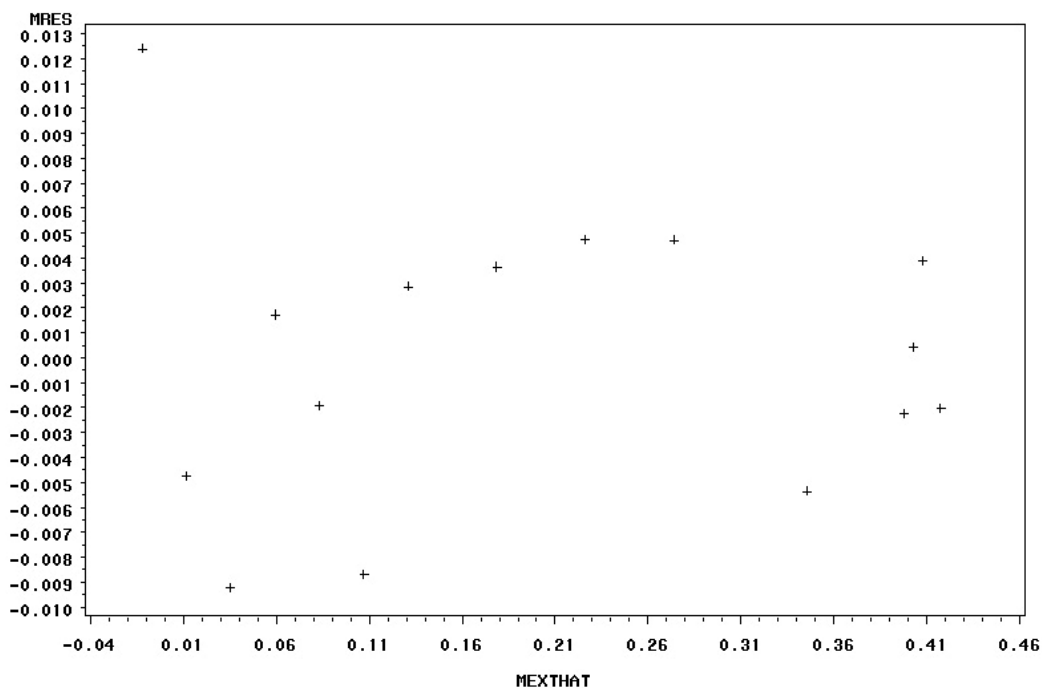


Figura III.E.1 – Gráfico SAS da dispersão para ESC 200 bar/40 °C.

Ensaio 20 ago 04: 40oC, 200bar, Alecrim

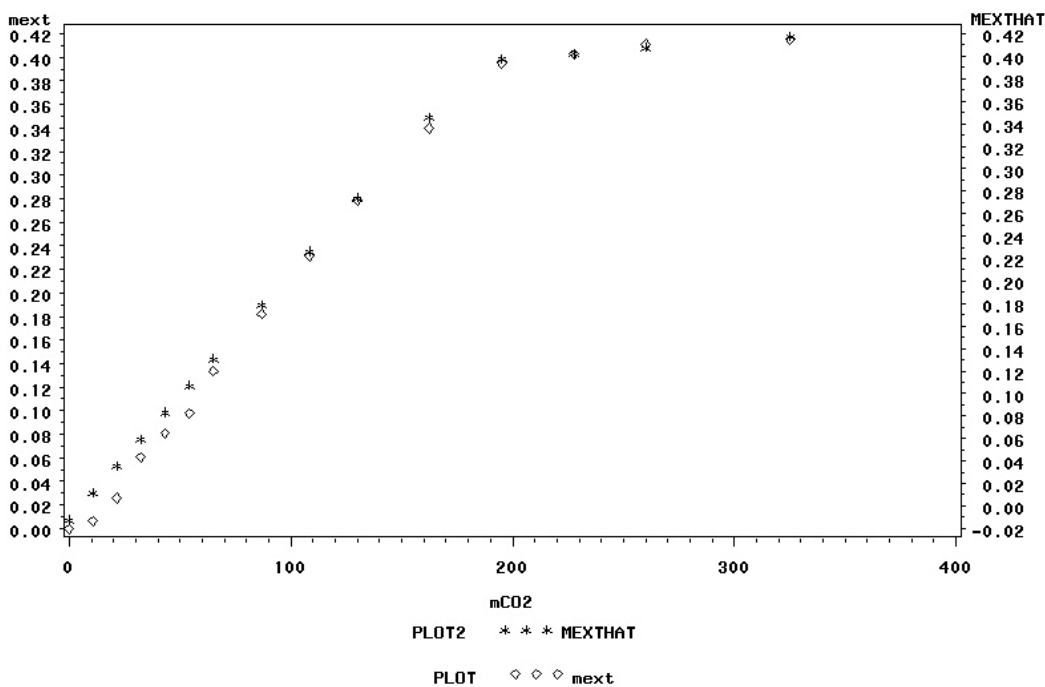


Figura III.E.2 – Gráfico SAS de ajuste para ESC 200 bar/40 °C.

ANEXO III-F – ENSAIO ESC 200 bar / 50 °C – 0,910 gCO₂/min

The NLIN Procedure

1

Parameter	Estimate	Approx Std Error	Approximate 95% Confidence Limits	
b0	-0.0470	0.00899	-0.0663	-0.0277
b1	0.00227	0.000071	0.00212	0.00243
b2	-0.00226	0.000295	-0.00289	-0.00163
knot1	289.1	15.1310	256.6	321.5

Approximate Correlation Matrix

	b0	b1	b2	knot1
b0	1.0000000	-0.7669891	0.1855246	0.2006188
b1	-0.7669891	1.0000000	-0.2418869	-0.4027236
b2	0.1855246	-0.2418869	1.0000000	-0.6950345
knot1	0.2006188	-0.4027236	-0.6950345	1.0000000

2

Obs	mCO2	mext	AL1	MEXTHAT	MRES
1	0.000	0.0000	0.000	-0.04702	0.047023
2	9.100	0.0035	0.000	-0.02635	0.029847
3	18.200	0.0042	0.000	-0.00567	0.009872
4	27.300	0.0126	0.000	0.01500	-0.002404
5	36.400	0.0186	0.000	0.03568	-0.017080
6	45.501	0.0288	0.000	0.05636	-0.027556
7	54.601	0.0463	0.000	0.07703	-0.030731
8	72.801	0.0944	0.000	0.11838	-0.023983
9	91.001	0.1342	0.000	0.15973	-0.025535
10	109.201	0.1984	0.000	0.20109	-0.002686
11	136.502	0.2738	0.000	0.26311	0.010687
12	163.802	0.3441	0.000	0.32514	0.018959
13	191.102	0.3947	0.000	0.38717	0.007532
14	218.402	0.4515	0.000	0.44920	0.002305
15	273.003	0.5770	0.000	0.57325	0.003750
16	327.604	0.6104	27.604	0.61027	0.000132
17	394.944	0.6108	94.944	0.61114	-0.000344
18	436.805	0.6119	136.805	0.61169	0.000212

Ensaio 24 ago 04: 50oC, 200bar, Alecrim

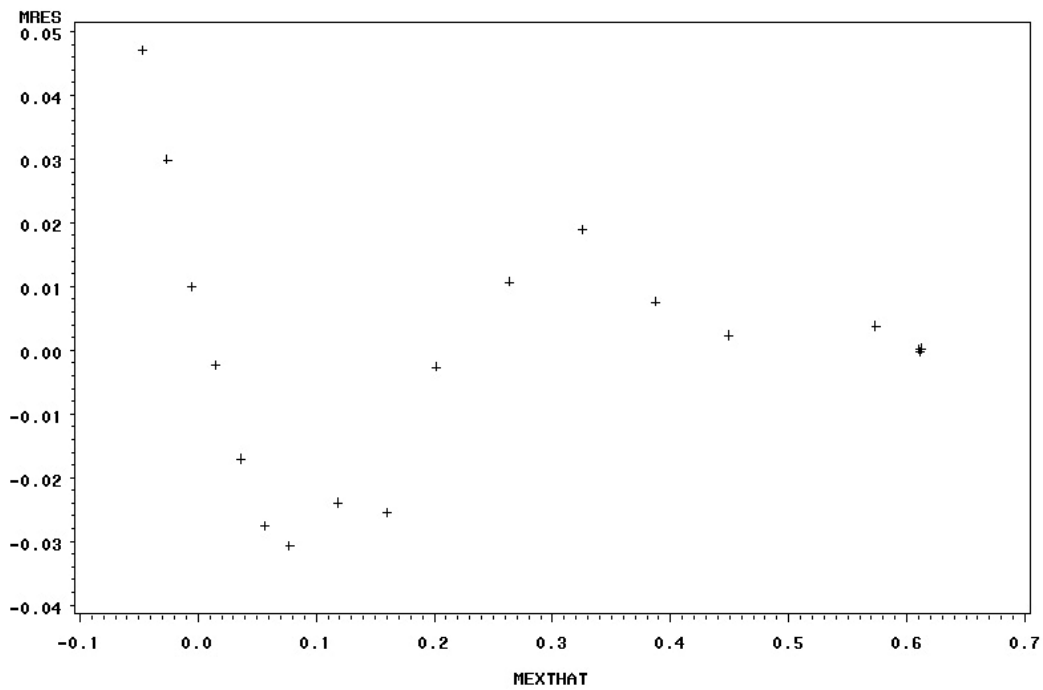


Figura III.F.1 – Gráfico SAS da dispersão para ESC 200 bar/50 °C.

Ensaio 24 ago 04: 50oC, 200bar, Alecrim

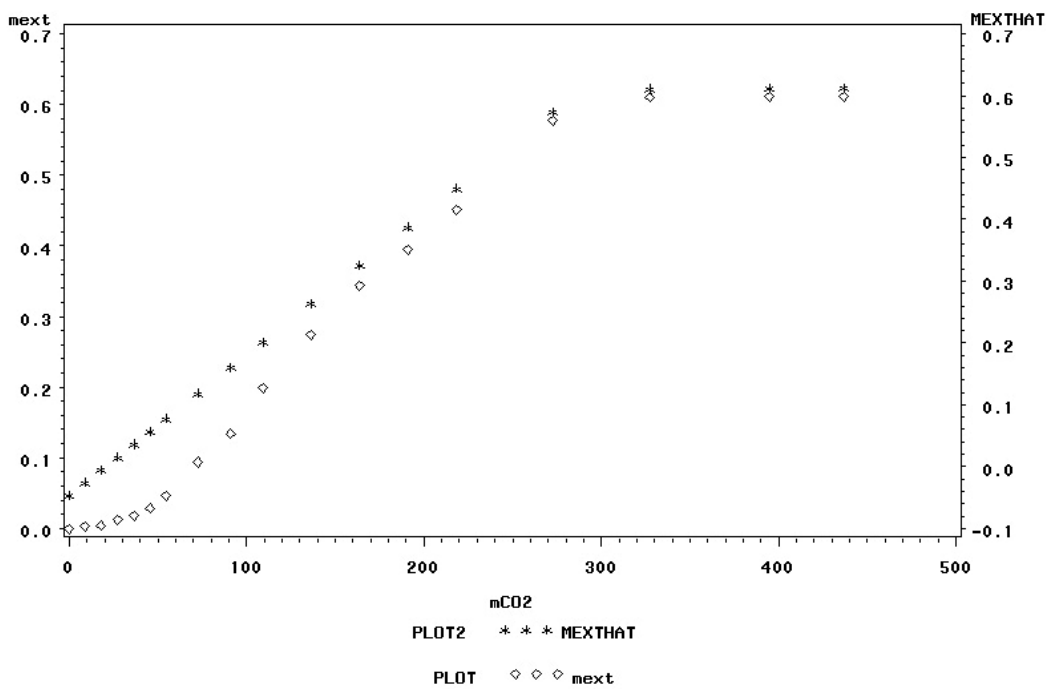


Figura III.F.2 – Gráfico SAS de ajuste para ESC 200 bar/50 °C.

**ANEXO IV – DADOS DAS CURVAS AJUSTADAS PELO SAS
(DADOS PARA MODELAGEM)**

ANEXO IV-A – ENSAIO ESC 200 bar / 30 °C – 5 gCO₂/min

The NLIN Procedure				
Parameter	Estimate	Approx Std Error	Approximate 95% Confidence Limits	
b0	0.0123	0.0131	-0.0172	0.0418
b1	0.00429	0.000362	0.00347	0.00511
b2	-0.00363	0.000390	-0.00452	-0.00275
knot1	64.2042	5.5723	51.5986	76.8098

Approximate Correlation Matrix				
	b0	b1	b2	knot1
b0	1.0000000	-0.8320503	0.7717371	0.3107339
b1	-0.8320503	1.0000000	-0.9275125	-0.6120372
b2	0.7717371	-0.9275125	1.0000000	0.3471919
knot1	0.3107339	-0.6120372	0.3471919	1.0000000

Obs	tempo	mext	AL1	MEXTHAT	MRES
1	0	0.0000	0	0.01231	-0.012307
2	10	0.0455	0	0.05521	-0.009714
3	20	0.0992	0	0.09812	0.001079
4	30	0.1702	0	0.14103	0.029171
5	40	0.1991	5	0.18394	0.015164
6	50	0.2271	15	0.22684	0.000257
7	60	0.2461	25	0.26975	-0.023650
8	80	0.2781	45	0.29819	-0.020090
9	100	0.3077	65	0.31136	-0.003660
10	120	0.3370	85	0.32453	0.012470
11	150	0.3646	121	0.34823	0.016365
12	180	0.3783	145	0.36404	0.014262
13	240	0.3842	205	0.40355	-0.019347

Ensaio 20 set 04: 30oC, 200bar, Alecrim

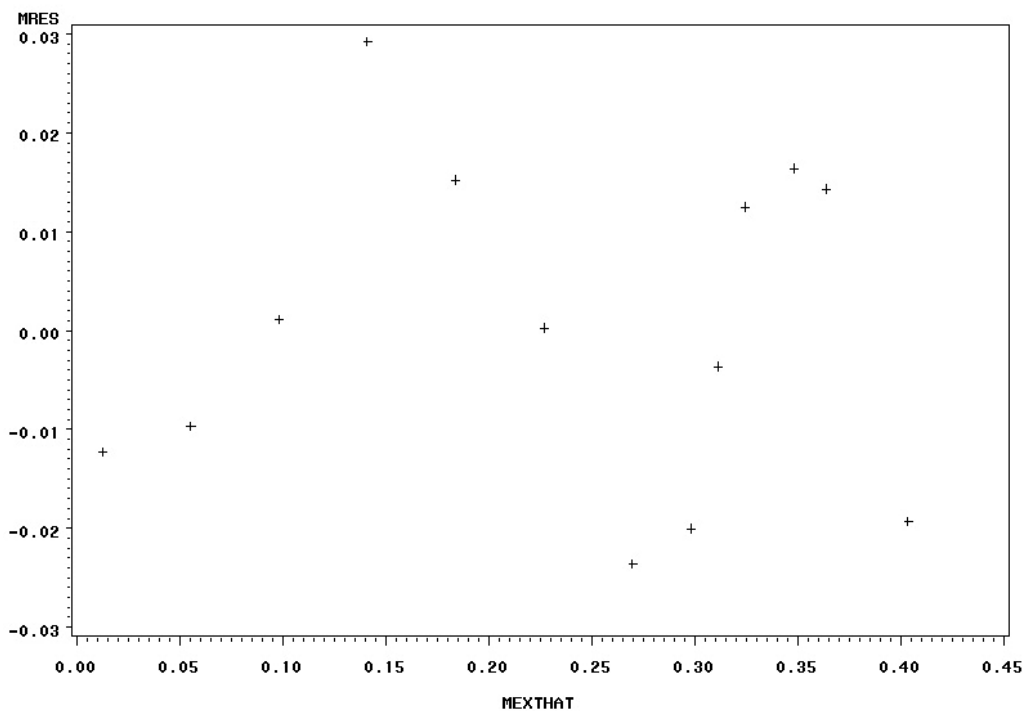


Figura IVA.1 – Gráfico SAS da dispersão para ESC 200 bar/30 °C.

Ensaio 20 set 04: 30oC, 200bar, Alecrim

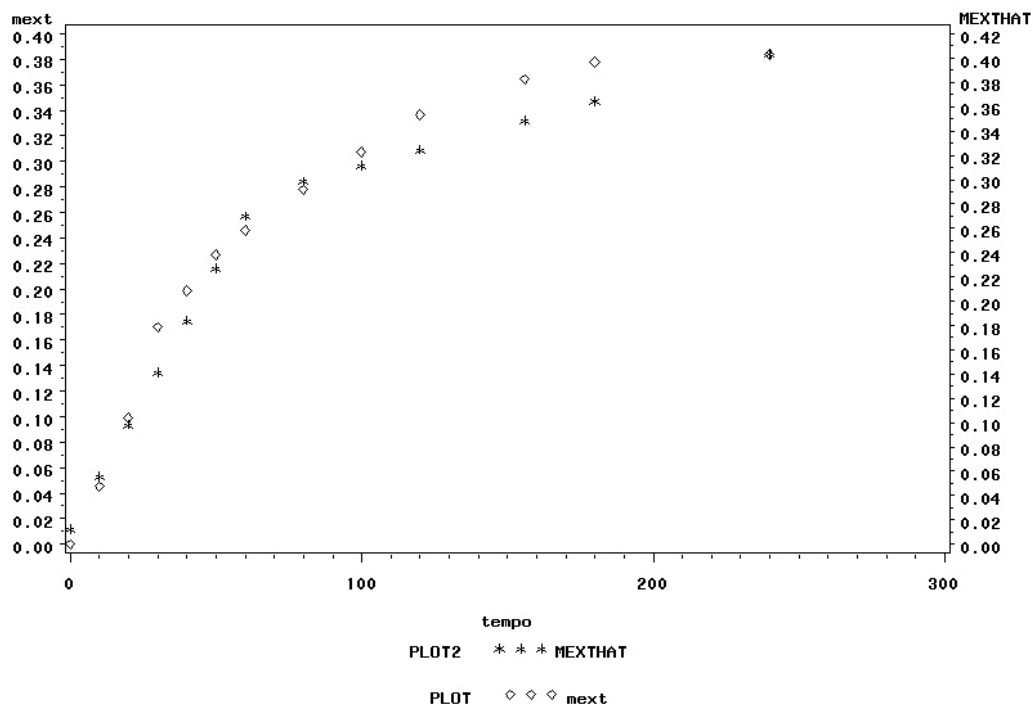


Figura IVA.2 – Gráfico SAS de ajuste para ESC 200 bar/30 °C.

ANEXO IV-B – ENSAIO ESC 200 bar / 40 °C – 5 gCO₂/min

1

The NLIN Procedure

Parameter	Estimate	Approx Std Error	Approximate 95% Confidence Limits	
b0	0.0290	0.0113	0.00336	0.0545
b1	0.00366	0.000257	0.00308	0.00425
b2	-0.00318	0.000305	-0.00387	-0.00249
knot1	83.9866	6.3408	69.6425	98.3307

Approximate Correlation Matrix

	b0	b1	b2	knot1
b0	1.0000000	-0.8235447	0.6928443	0.3203991
b1	-0.8235447	1.0000000	-0.8412954	-0.6081498
b2	0.6928443	-0.8412954	1.0000000	0.1841163
knot1	0.3203991	-0.6081498	0.1841163	1.0000000

2

Obs	tempo	mext	AL1	MEXTHAT	MRES
1	0	0.0000	0	0.02895	-0.028952
2	10	0.0658	0	0.06560	0.000200
3	20	0.1077	0	0.10225	0.005452
4	30	0.1637	0	0.13890	0.024805
5	40	0.1877	5	0.17554	0.012157
6	50	0.2203	15	0.21219	0.008110
7	60	0.2491	25	0.24884	0.000262
8	80	0.3001	45	0.32213	-0.022033
9	100	0.3276	65	0.34448	-0.016879
10	120	0.3575	85	0.35414	0.003358
11	150	0.3823	115	0.36864	0.013665
12	180	0.3953	145	0.38313	0.012172
13	240	0.3998	205	0.41212	-0.012315

Ensaio 18 set 04: 40oC, 200bar, Alecrim

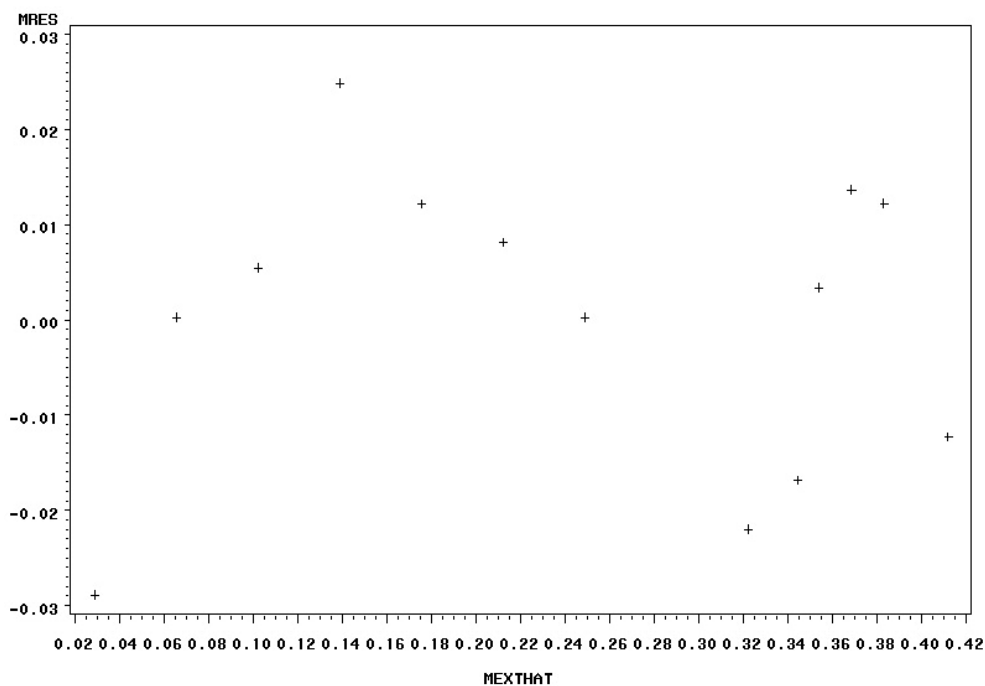


Figura IVB.1 – Gráfico SAS da dispersão para ESC 200 bar/40 °C.

Ensaio 18 set 04: 40oC, 200bar, Alecrim

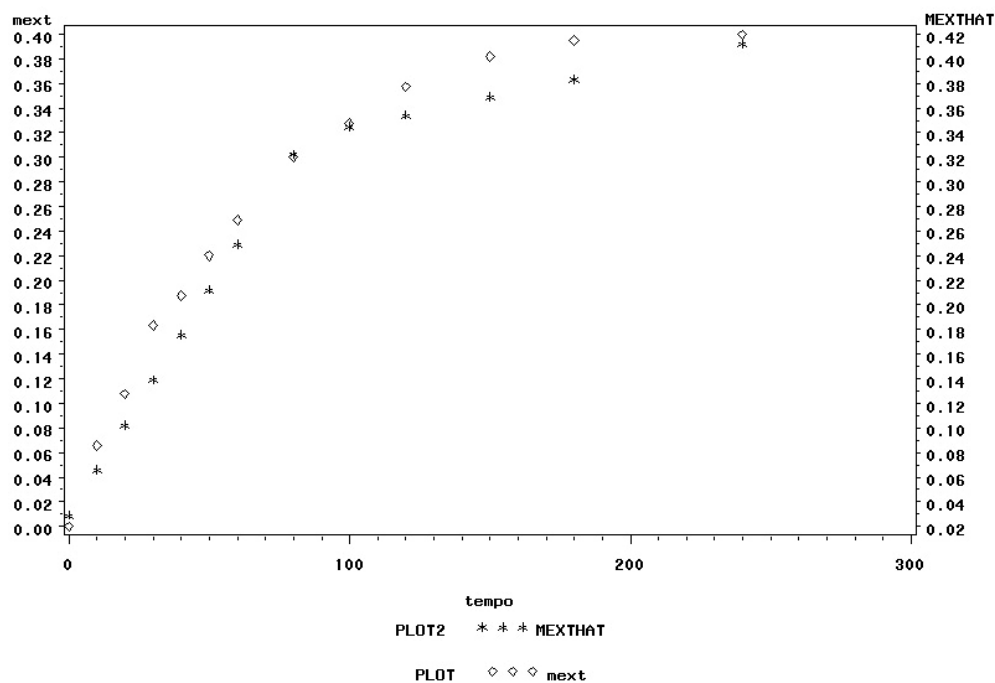


Figura IVB.2 – Gráfico SAS de ajuste para ESC 200 bar/40 °C.

ANEXO IV-C – ENSAIO ESC 200 bar / 50 °C – 5 gCO₂/min

1

The NLIN Procedure

Parameter	Estimate	Approx Std Error	Approximate 95% Confidence Limits	
b0	0.0165	0.0186	-0.0256	0.0586
b1	0.00806	0.000760	0.00634	0.00978
b2	-0.00745	0.000773	-0.00920	-0.00570
knot1	48.2177	3.6909	39.8681	56.5672

Approximate Correlation Matrix

	b0	b1	b2	knot1
b0	1.0000000	-0.8164966	0.8029326	0.4110909
b1	-0.8164966	1.0000000	-0.9833875	-0.7798512
b2	0.8029326	-0.9833875	1.0000000	0.6981111
knot1	0.4110909	-0.7798512	0.6981111	1.0000000

2

Obs	tempo	mext	AL1	MEXTHAT	MRES
1	0	0.0000	0	0.01652	-0.016520
2	10	0.0957	0	0.09713	-0.001430
3	20	0.2066	0	0.17774	0.028860
4	30	0.2710	0	0.25835	0.012650
5	40	0.3154	0	0.33896	-0.023560
6	50	0.3724	0	0.40629	-0.033895
7	60	0.4026	0	0.41242	-0.009823
8	80	0.4254	10	0.42468	0.000720
9	100	0.4661	30	0.43694	0.029164
10	120	0.4721	50	0.44919	0.022907
11	150	0.4783	80	0.46758	0.010722
12	180	0.4909	110	0.48596	0.004937
13	240	0.4980	170	0.52273	-0.024732

Ensaio 06 out 04: 50oC, 200bar, Alecrim

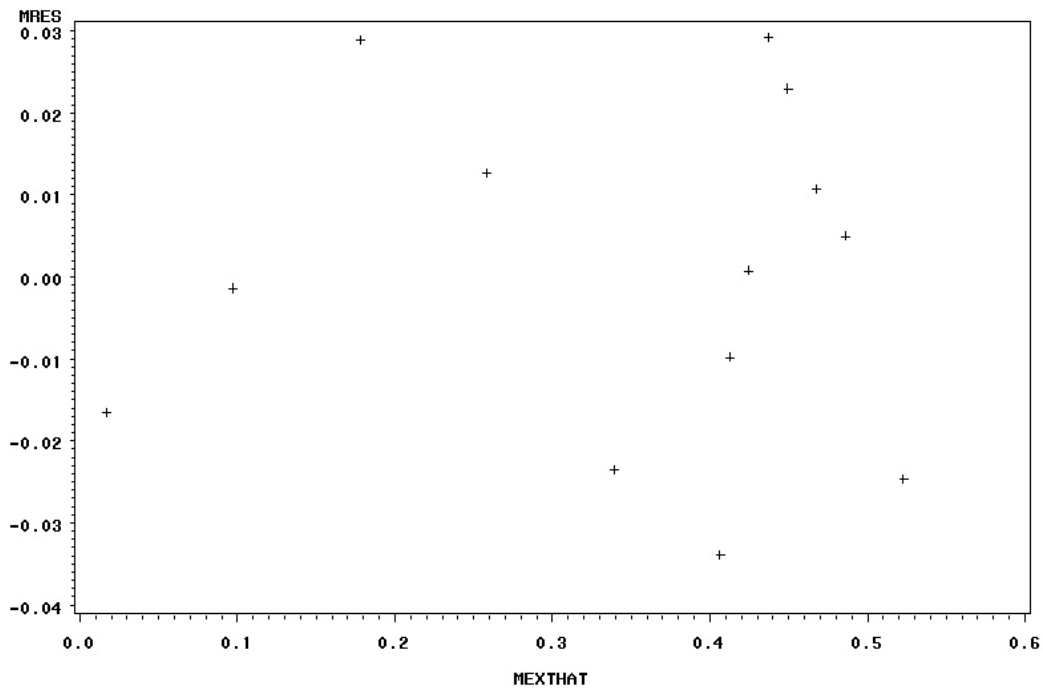


Figura IVC.1 – Gráfico SAS da dispersão para ESC 200 bar/50 °C.

Ensaio 06 out 04: 50oC, 200bar, Alecrim

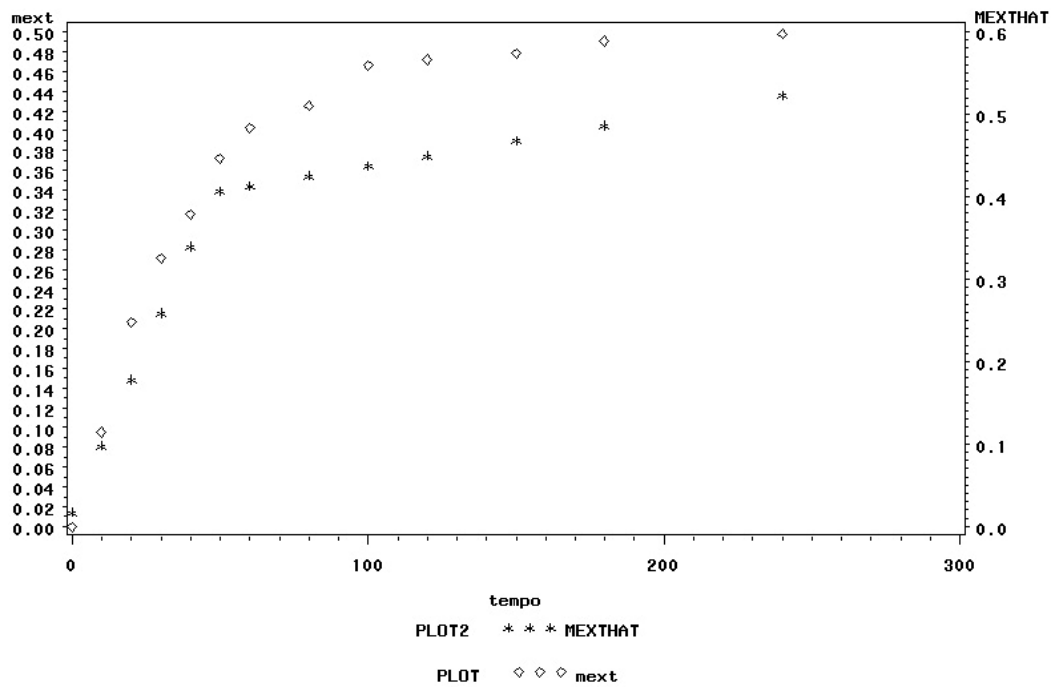


Figura IVC.2 – Gráfico SAS de ajuste para ESC 200 bar/50 °C.

ANEXO IV-D – ENSAIO ESC 300 bar / 30 °C – 5 gCO₂/min

1

The NLIN Procedure

Parameter	Estimate	Approx Std Error	Approximate 95% Confidence Limits	
b0	0.00700	0.0184	-0.0346	0.0486
b1	0.00640	0.000751	0.00470	0.00810
b2	-0.00528	0.000764	-0.00701	-0.00355
knot1	42.9766	4.6523	32.4523	53.5008

Approximate Correlation Matrix

	b0	b1	b2	knot1
b0	1.0000000	-0.8164966	0.8030936	0.3239385
b1	-0.8164966	1.0000000	-0.9835847	-0.7024791
b2	0.8030936	-0.9835847	1.0000000	0.6097008
knot1	0.3239385	-0.7024791	0.6097008	1.0000000

2

Obs	tempo	mext	AL1	MEXTHAT	MRES
1	0	0.0000	0	0.00700	-0.007000
2	10	0.0640	0	0.07101	-0.007010
3	20	0.1496	0	0.13502	0.014580
4	30	0.2189	0	0.19903	0.019870
5	40	0.2426	5	0.26304	-0.020440
6	50	0.2662	15	0.28996	-0.023763
7	60	0.2849	25	0.30117	-0.016267
8	80	0.3238	45	0.32358	0.000223
9	100	0.3564	65	0.34599	0.010414
10	120	0.3895	85	0.36840	0.021104
11	156	0.4345	121	0.40873	0.025767
12	180	0.4565	145	0.43562	0.020875
13	240	0.4645	205	0.50285	-0.038353

Ensaio 21 set 04: 30oC, 300bar, Alecrim

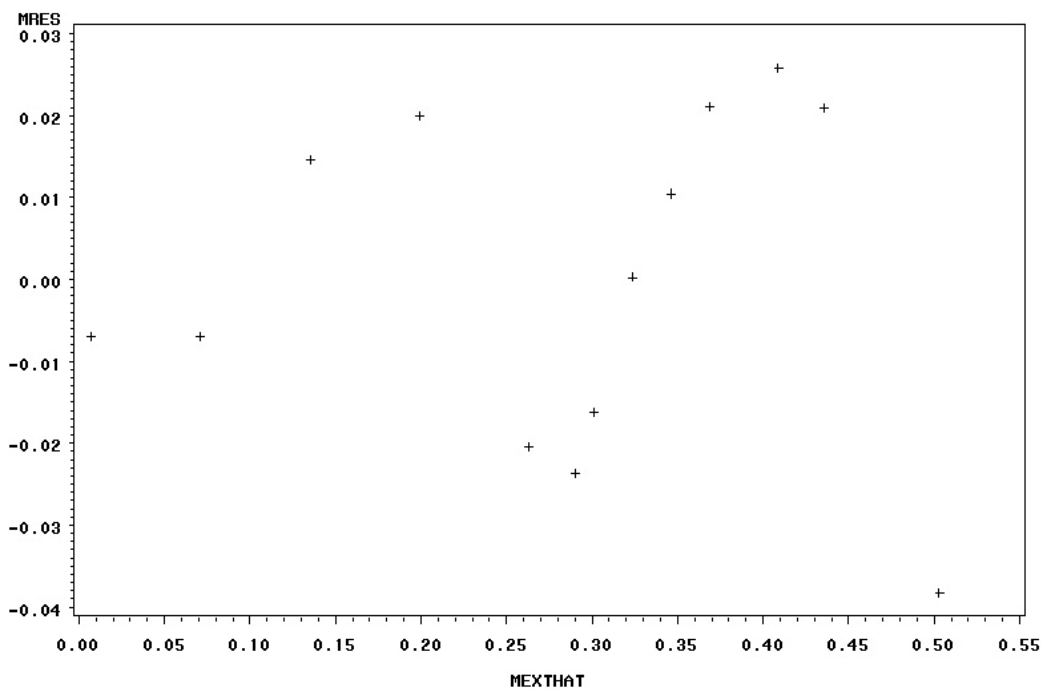


Figura IVD.1 – Gráfico SAS da dispersão para ESC 300 bar/30 °C.

Ensaio 21 set 04: 30oC, 300bar, Alecrim

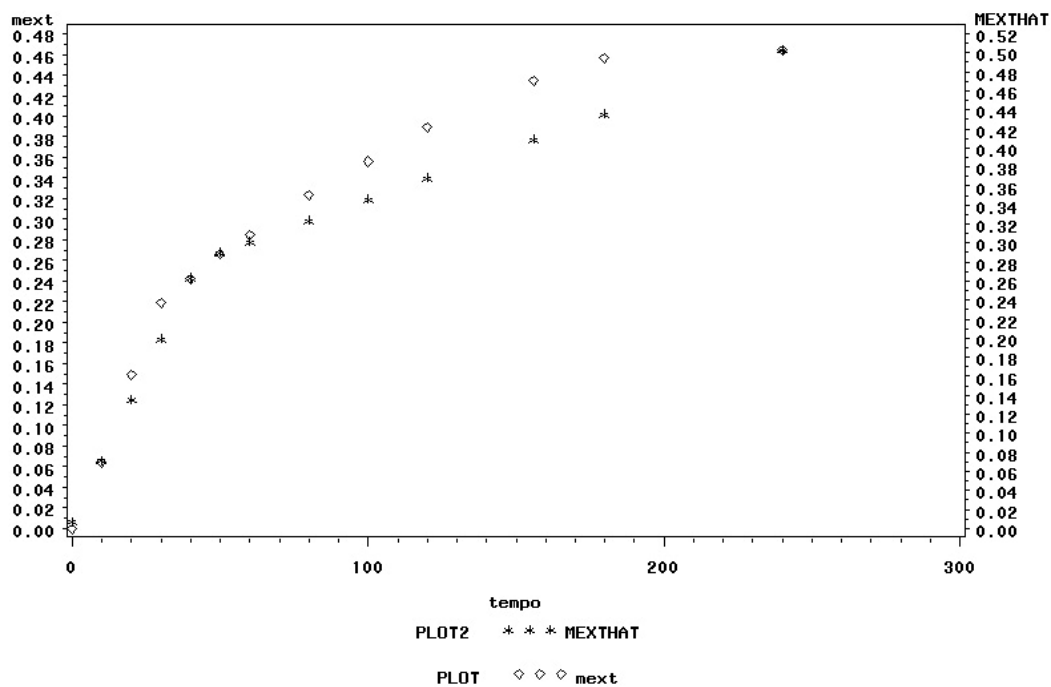


Figura IVD.2 – Gráfico SAS de ajuste para ESC 300 bar/30 °C.

ANEXO IV-E – ENSAIO ESC 300 bar / 40 °C – 5 gCO₂/min

1

The NLIN Procedure

Parameter	Estimate	Approx Std Error	Approximate 95% Confidence Limits	
b0	0.0241	0.0187	-0.0182	0.0664
b1	0.00519	0.000519	0.00402	0.00636
b2	-0.00456	0.000560	-0.00582	-0.00329
knot1	71.0470	6.6821	55.9309	86.1630

Approximate Correlation Matrix

	b0	b1	b2	knot1
b0	1.0000000	-0.8320503	0.7714543	0.3929022
b1	-0.8320503	1.0000000	-0.9271726	-0.6993950
b2	0.7714543	-0.9271726	1.0000000	0.4577154
knot1	0.3929022	-0.6993950	0.4577154	1.0000000

2

Obs	tempo	mext	AL1	MEXTHAT	MRES
1	0	0.0000	0	0.02409	-0.024093
2	10	0.0662	0	0.07600	-0.009800
3	20	0.1431	0	0.12791	0.015193
4	30	0.2198	0	0.17981	0.039986
5	40	0.2456	5	0.23172	0.013879
6	50	0.2687	15	0.28363	-0.014929
7	60	0.3153	25	0.33554	-0.020236
8	80	0.3604	45	0.39854	-0.038144
9	100	0.4109	65	0.41120	-0.000302
10	120	0.4537	85	0.42386	0.029840
11	150	0.4663	115	0.44285	0.023452
12	180	0.4694	145	0.46184	0.007565
13	240	0.4774	205	0.49981	-0.022410

Ensaio 17 set 04: 40oC, 300bar, Alecrim

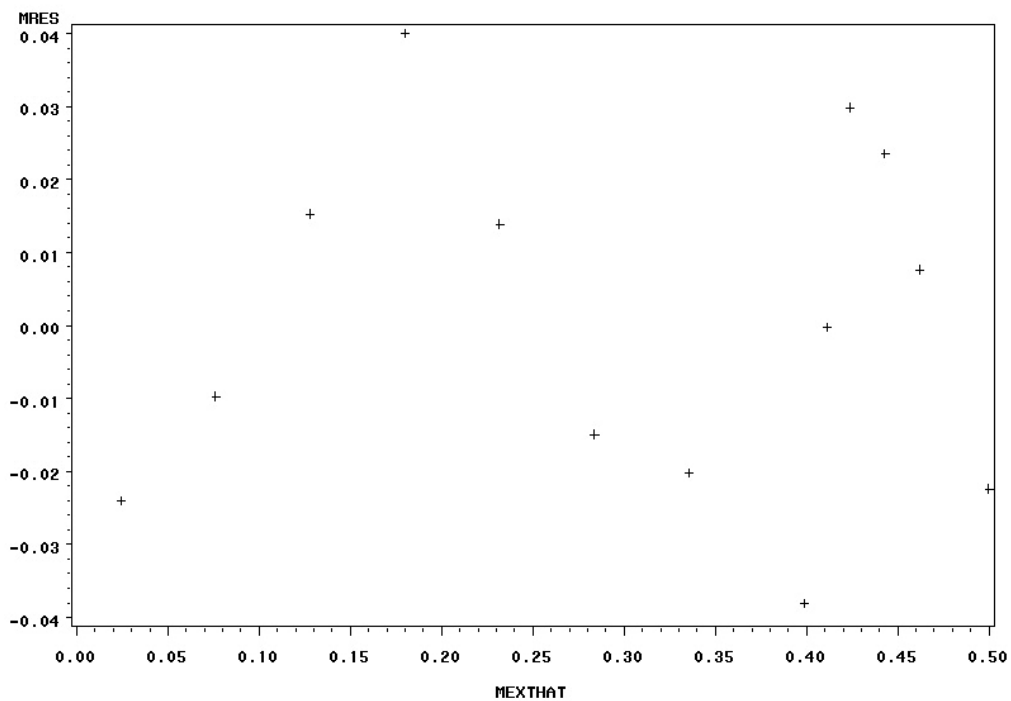


Figura IVE.1 – Gráfico SAS da dispersão para ESC 300 bar/40 °C.

Ensaio 17 set 04: 40oC, 300bar, Alecrim

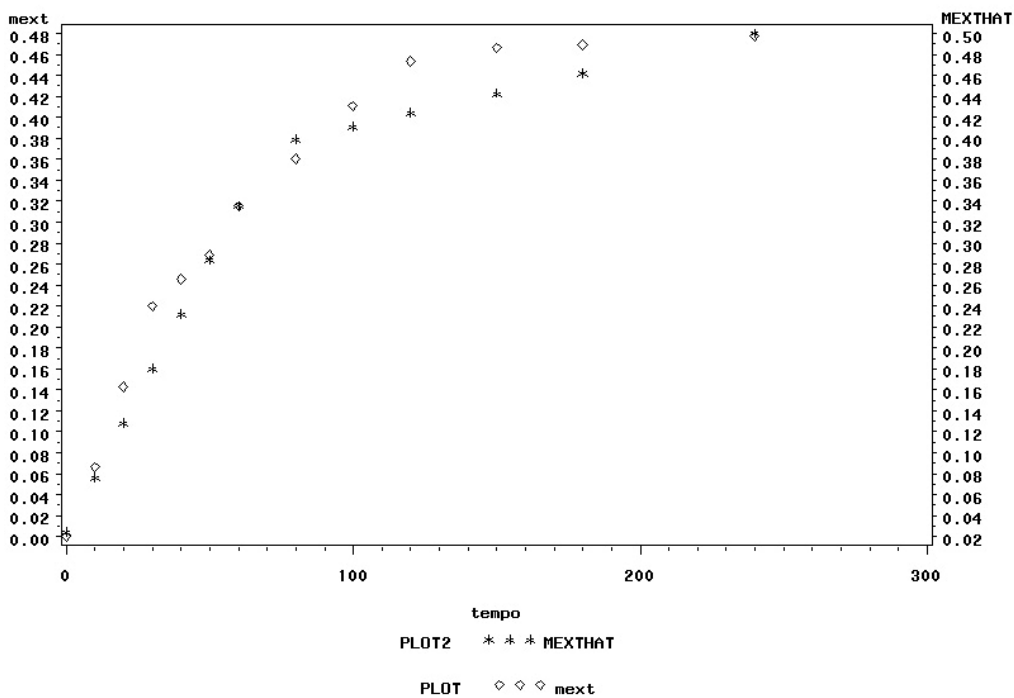


Figura IVE.2 – Gráfico SAS de ajuste para ESC 300 bar/40 °C.

ANEXO IV-F – ENSAIO ESC 300 bar / 50 °C – 5 gCO₂/min

1

The NLIN Procedure

Parameter	Estimate	Approx Std Error	Approximate 95% Confidence Limits	
b0	0.0233	0.0235	-0.0300	0.0765
b1	0.00913	0.000961	0.00696	0.0113
b2	-0.00835	0.000977	-0.0106	-0.00614
knot1	42.2605	3.7119	33.8634	50.6575

Approximate Correlation Matrix

	b0	b1	b2	knot1
b0	1.0000000	-0.8164966	0.8029326	0.3104322
b1	-0.8164966	1.0000000	-0.9833875	-0.6903029
b2	0.8029326	-0.9833875	1.0000000	0.5954652
knot1	0.3104322	-0.6903029	0.5954652	1.0000000

2

Obs	tempo	mext	AL1	MEXTHAT	MRES
1	0	0.0000	0	0.02328	-0.023280
2	10	0.1132	0	0.11462	-0.001420
3	20	0.2473	0	0.20596	0.041340
4	30	0.3120	0	0.29730	0.014700
5	40	0.3573	0	0.38864	-0.031340
6	50	0.3786	0	0.41538	-0.036784
7	60	0.4077	10	0.42326	-0.015562
8	80	0.4438	30	0.43902	0.004782
9	100	0.4760	50	0.45477	0.021226
10	120	0.4951	70	0.47053	0.024570
11	150	0.5214	100	0.49416	0.027235
12	180	0.5287	130	0.51780	0.010901
13	240	0.5287	190	0.56507	-0.036367

Ensaio 01 out 04: 50oC, 300bar, Alecrim

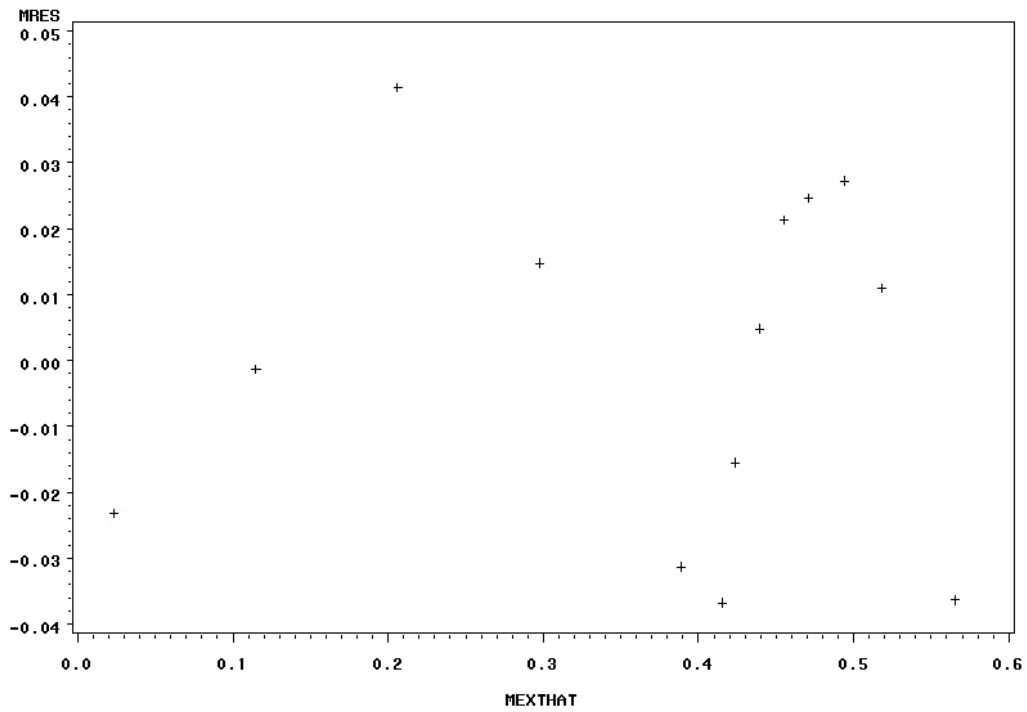


Figura IVF.1 – Gráfico SAS da dispersão para ESC 300 bar/50 °C.

Ensaio 01 out 04: 50oC, 300bar, Alecrim

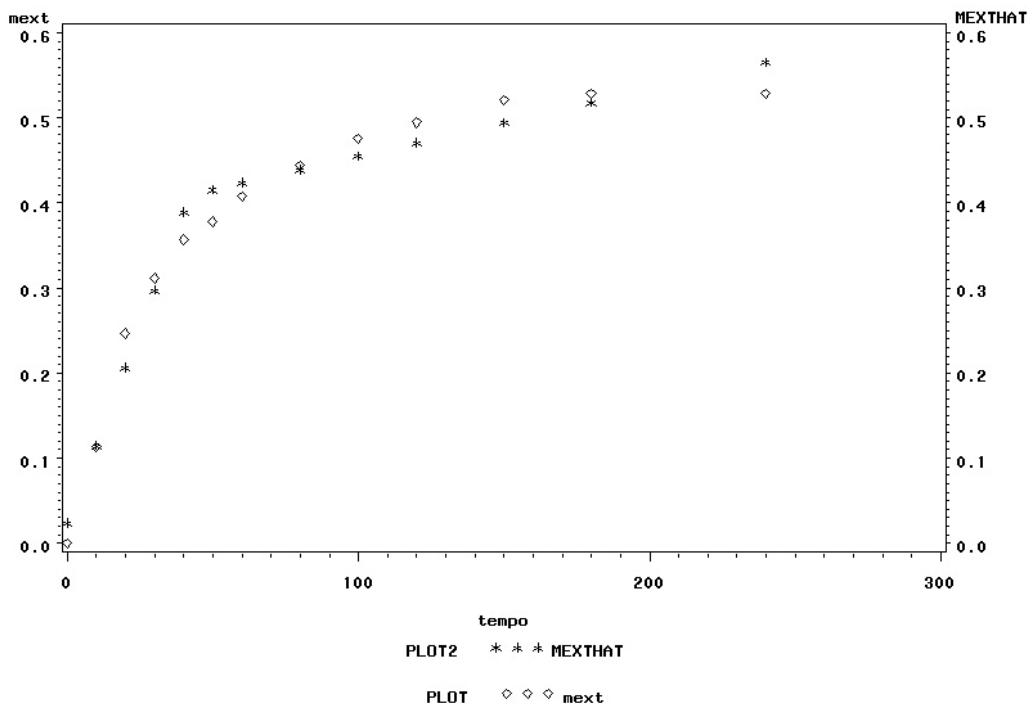
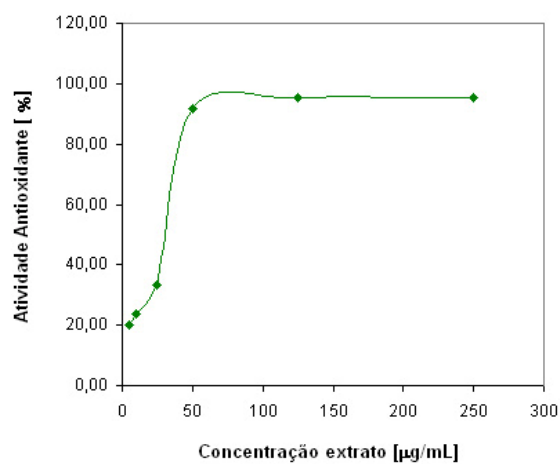
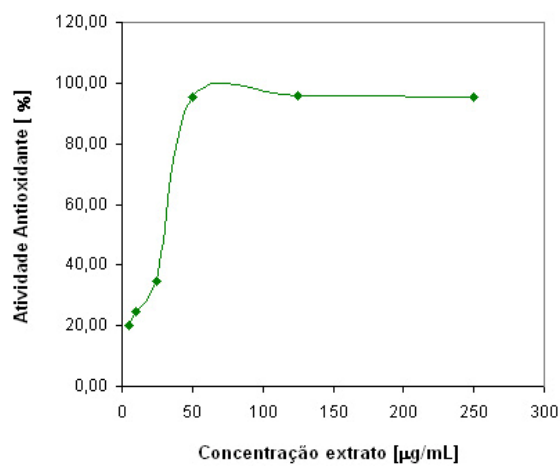
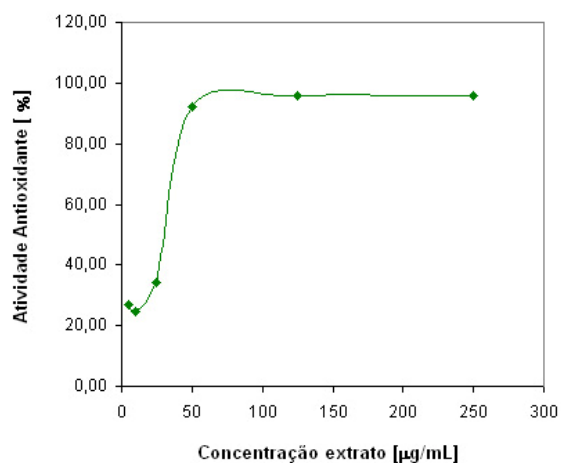
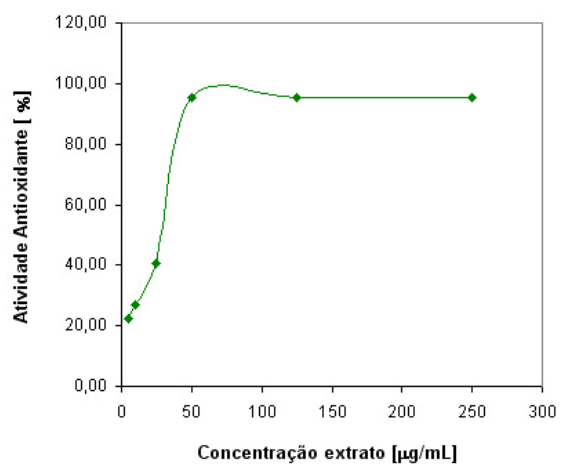
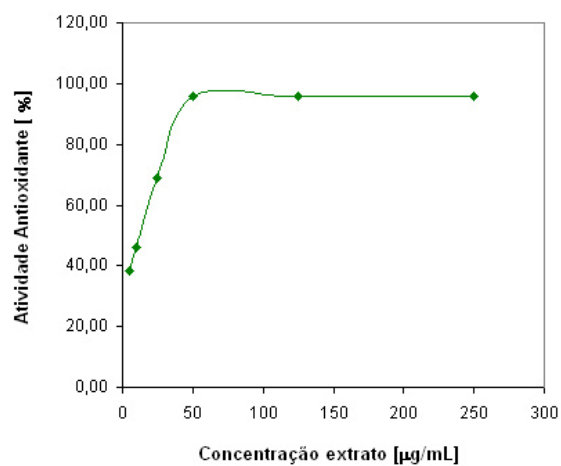


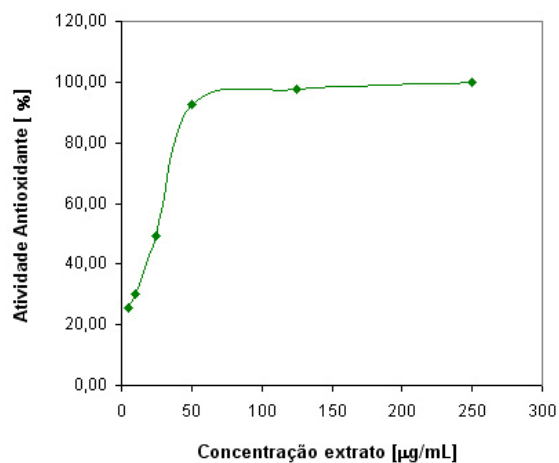
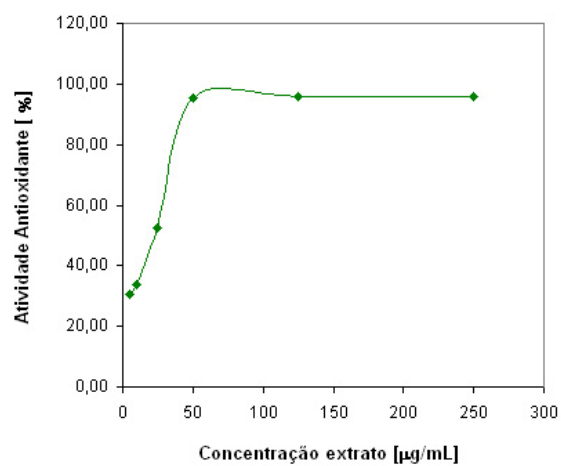
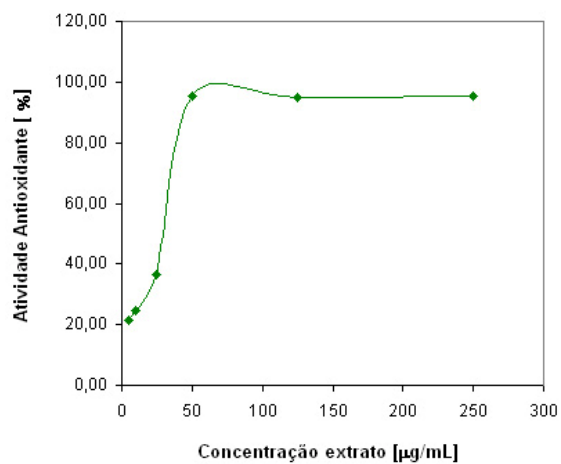
Figura IVF.2 – Gráfico SAS de ajuste para ESC 300 bar/50 °C.

ANEXO V – GRÁFICOS OBTIDOS PARA ANÁLISE DPPH

ANEXO V-A – GRÁFICOS DPPH PARA EXTRAÇÃO FSC E SOXHLET

Figura VA.1 – Gráfico de concentração *versus* AA para ESC 100 bar/30 °C.Figura VA.2 – Gráfico de concentração *versus* AA para ESC 100 bar/40 °C.

Figura VA.3 – Gráfico de concentração *versus* AA para ESC 100 bar/50 °C.Figura VA.4 – Gráfico de concentração *versus* AA para ESC 200 bar/30 °C.Figura VA.5 – Gráfico de concentração *versus* AA para ESC 200 bar/40 °C.

Figura VA.6 – Gráfico de concentração *versus* AA para ESC 200 bar/50 °C.Figura VA.7 – Gráfico de concentração *versus* AA para ESC 300 bar/30 °C.Figura VA.8 – Gráfico de concentração *versus* AA para ESC 300 bar/50 °C.

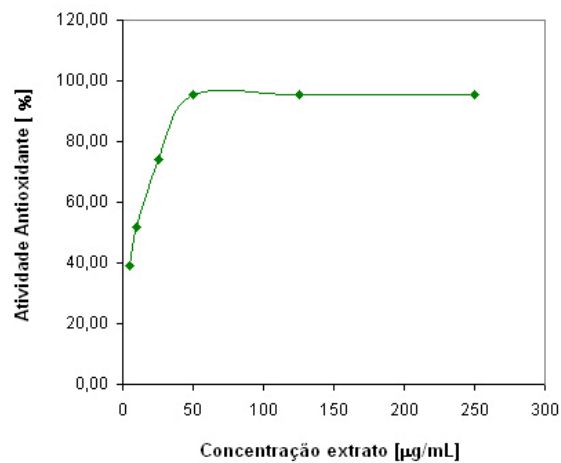


Figura VA.9 – Gráfico de concentração *versus* AA para a extração Soxhlet Hexano.

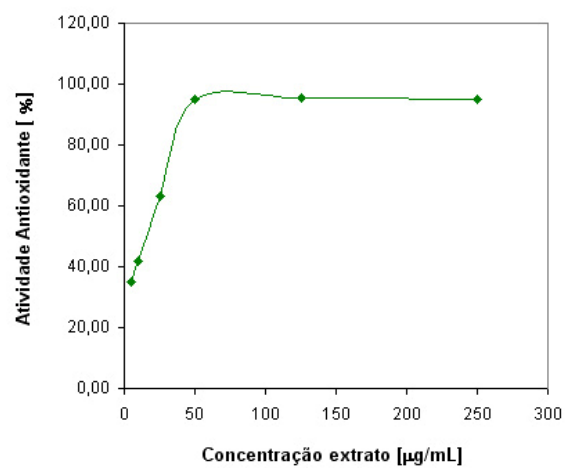
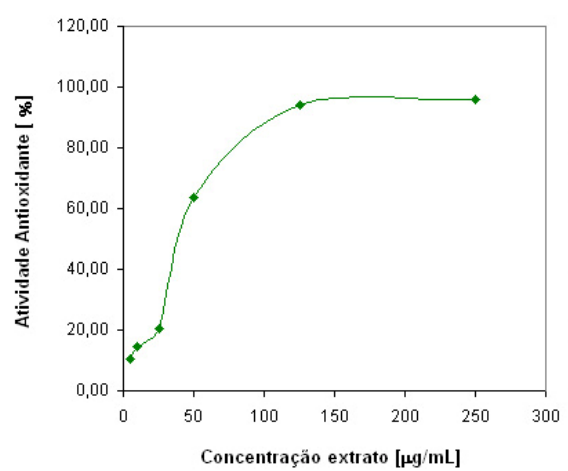
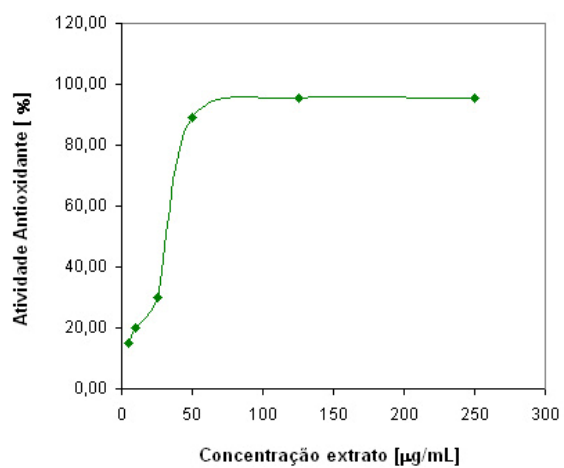
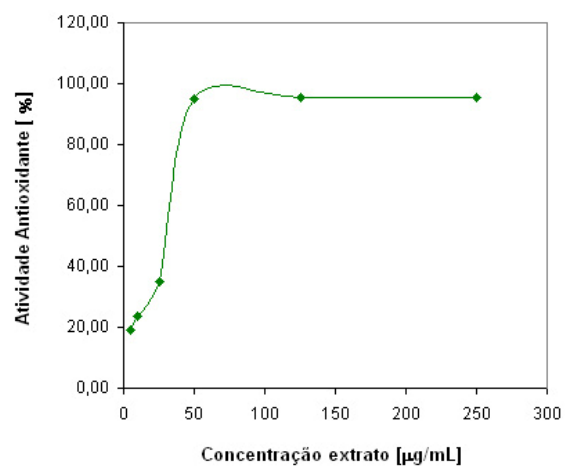
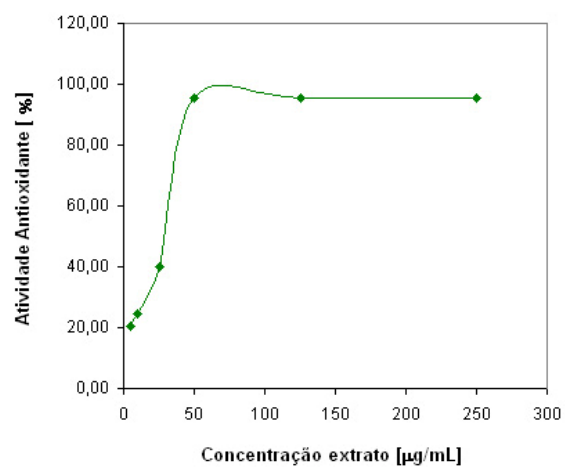
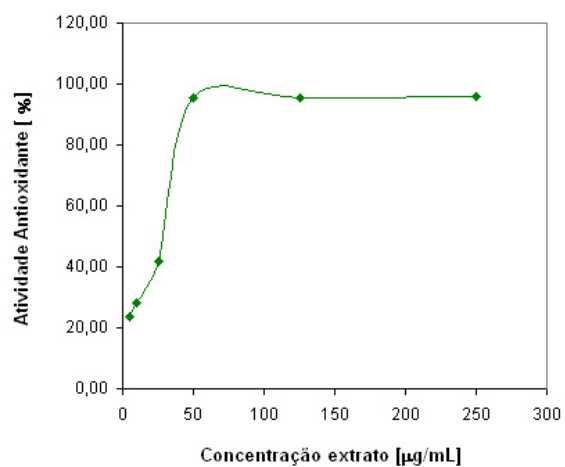
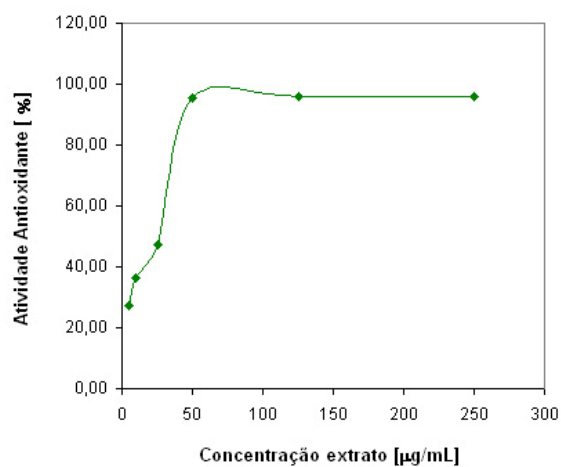
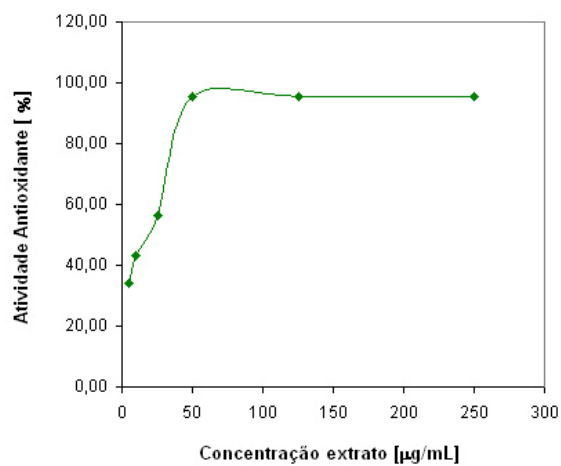
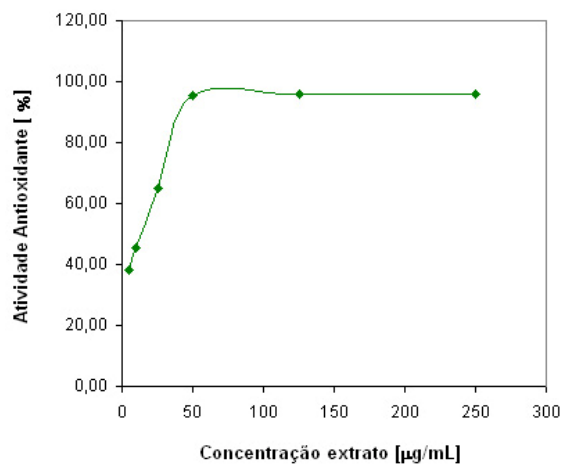


Figura VA.10 – Gráfico de concentração *versus* AA para a extração Soxhlet Etanol.

ANEXO V-B – GRÁFICOS DPPH PARA ESC 300 bar e 40 °C

Figura VB.1 – Gráfico de concentração *versus* AA para tempo de 0-10 min de ESC.Figura VB.2 – Gráfico de concentração *versus* AA para tempo de 10-20 min de ESC.

Figura VB.3 – Gráfico de concentração *versus* AA para tempo de 20-30 min de ESC.Figura VB.4 – Gráfico de concentração *versus* AA para tempo de 30-40 min de ESC.Figura VB.5 – Gráfico de concentração *versus* AA para tempo de 40-50 min de ESC.

Figura VB.6 – Gráfico de concentração *versus* AA para tempo de 50-60 min de ESC.Figura VB.7 – Gráfico de concentração *versus* AA para tempo de 60-80 min de ESC.Figura VB.8 – Gráfico de concentração *versus* AA para tempo de 80-100 min de ESC.

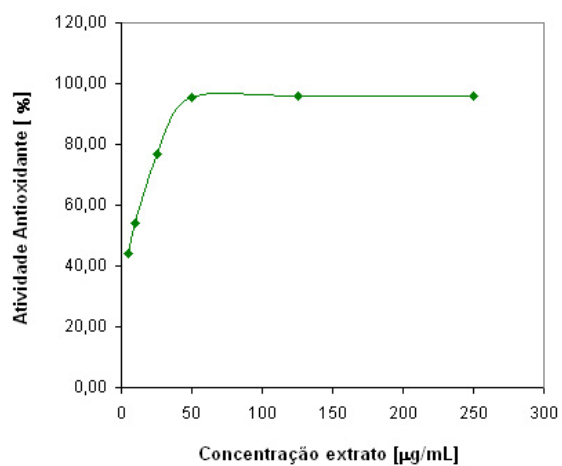


Figura VB.9 – Gráfico de concentração *versus* AA para tempo de 100-120 min de ESC.

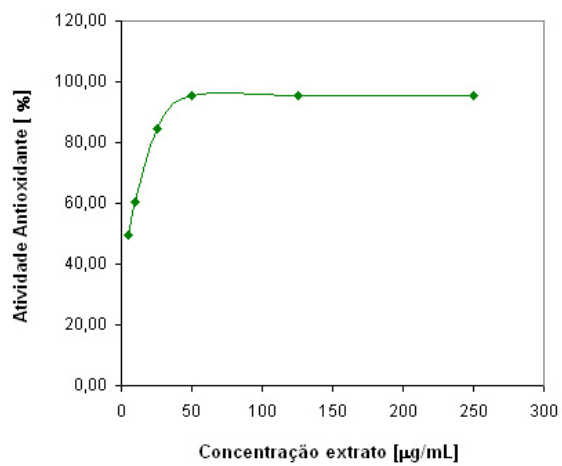


Figura VB.10 – Gráfico de concentração *versus* AA para tempo de 120-150 min de ESC.

ANEXO VI – CROMATOGRAMAS DOS EXTRATOS DE ALECRIM

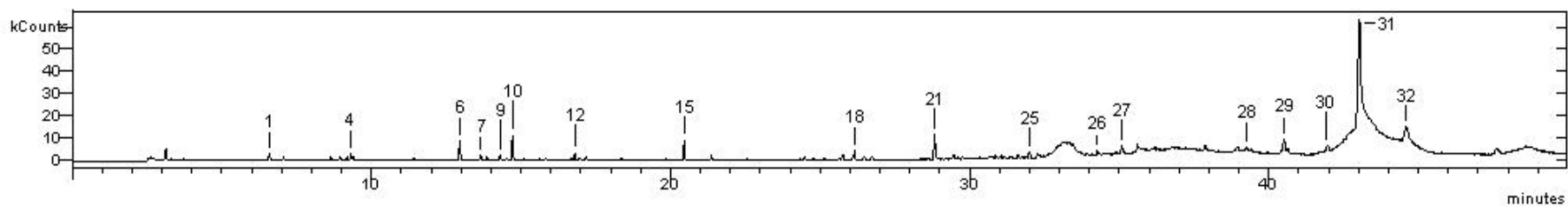


Figura VI.1 – Perfil CG-MS para extrato de alecrim obtido por ESC 100 bar/30 °C.

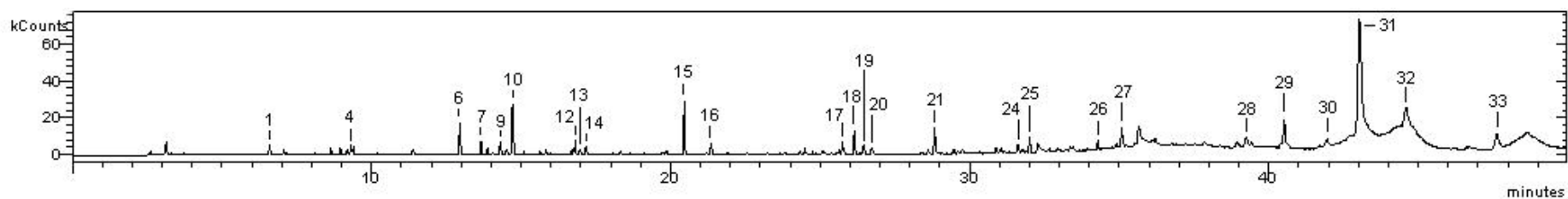


Figura VI.2 – Perfil CG-MS para extrato de alecrim obtido por ESC 100 bar/40 °C.

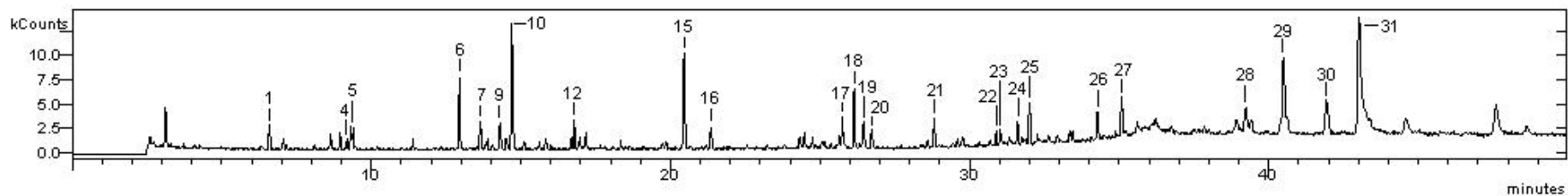


Figura VI.3 – Perfil CG-MS para extrato de alecrim obtido por ESC 100 bar/50 °C.

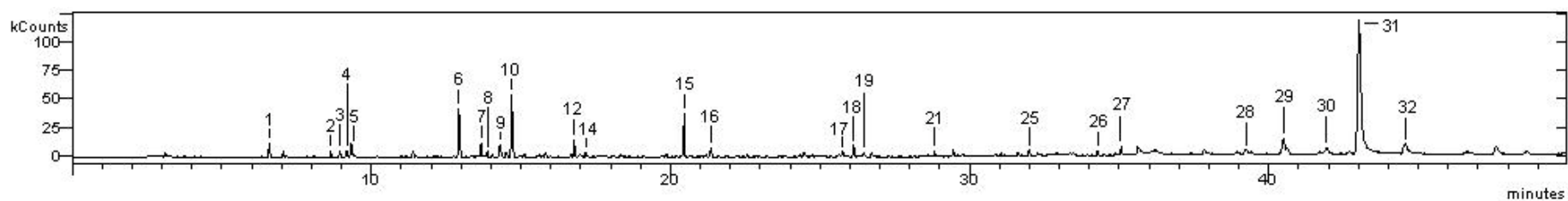


Figura VI.4 – Perfil CG-MS para extrato de alecrim obtido por ESC 200 bar/30 °C.

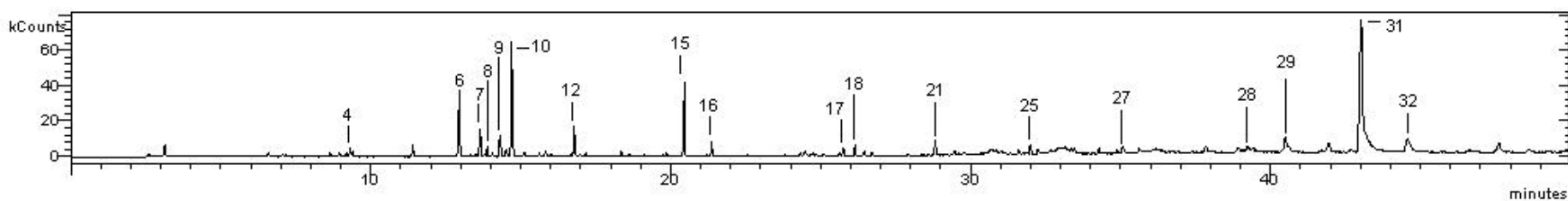


Figura VI.5 – Perfil CG-MS para extrato de alecrim obtido por ESC 200 bar/40 °C.

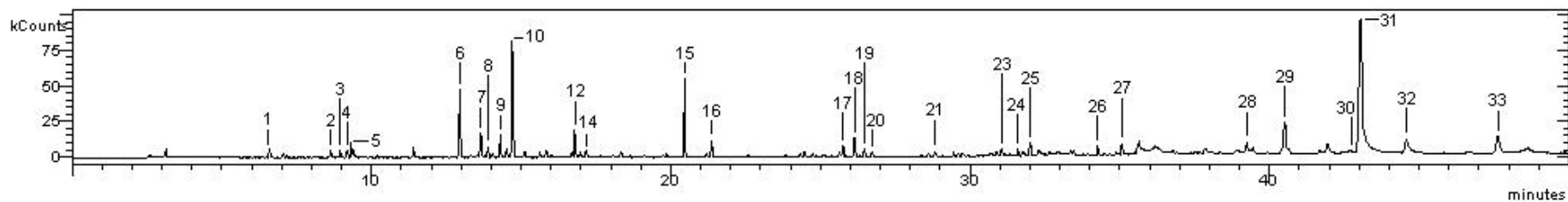


Figura VI.6 – Perfil CG-MS para extrato de alecrim obtido por ESC 200 bar/50 °C.

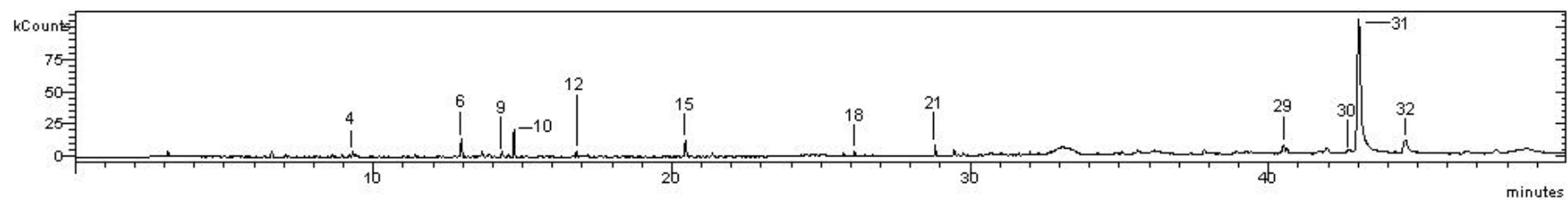


Figura VI.7 – Perfil CG-MS para extrato de alecrim obtido por ESC 300 bar/30 °C.

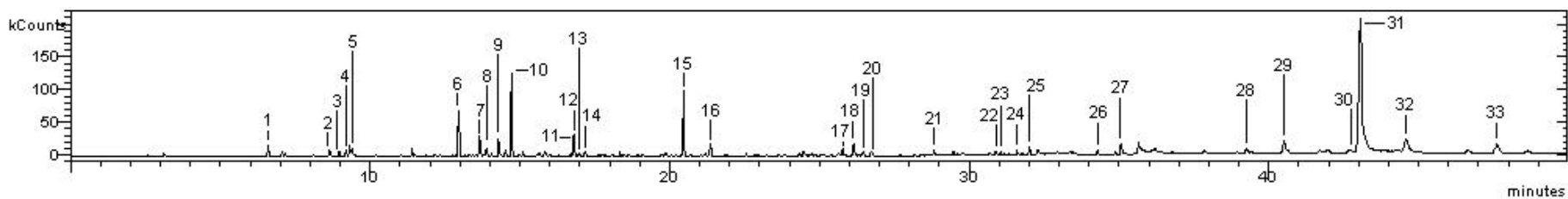


Figura VI.8 – Perfil CG-MS para extrato de alecrim obtido por ESC 300 bar/40 °C.

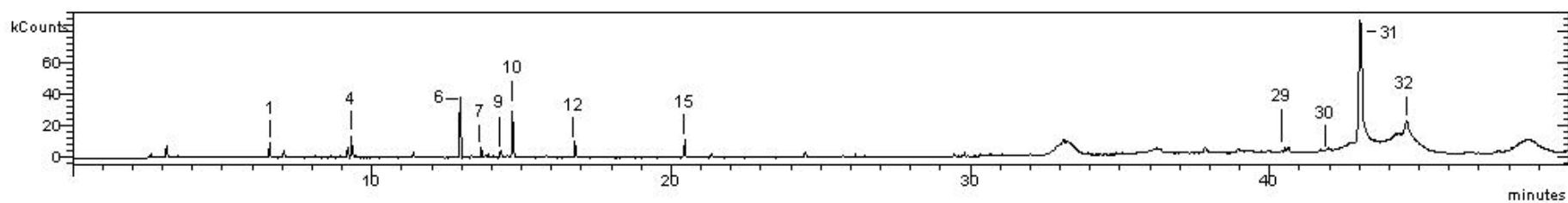


Figura VI.9 – Perfil CG-MS para extrato de alecrim obtido por extração Soxhlet n-Hexano.

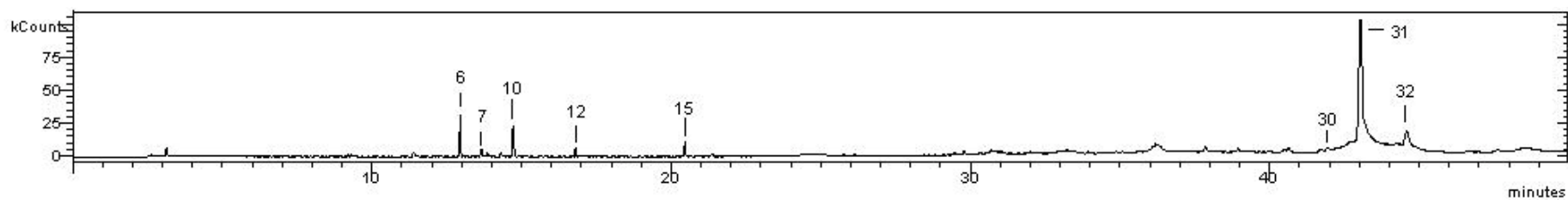

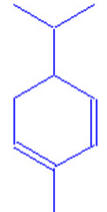
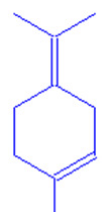
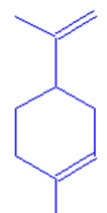
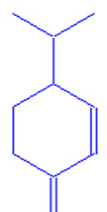

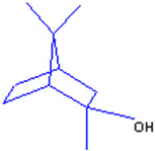
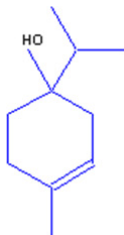
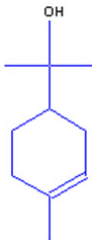
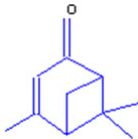
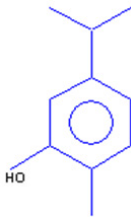
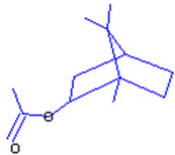


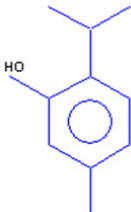
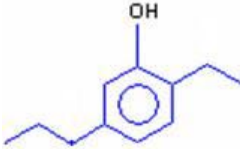
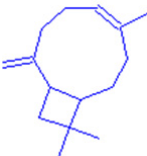
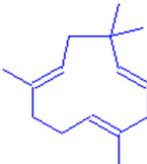
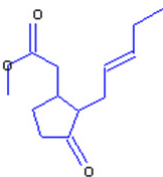
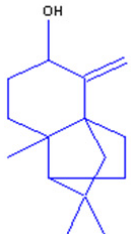
Figura VI.10 – Perfil CG-MS para extrato de alecrim obtido por extração Soxhlet Etanol.

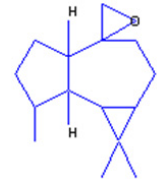
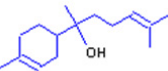
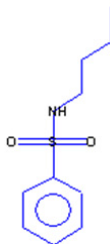
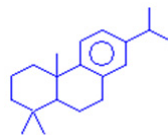
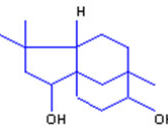
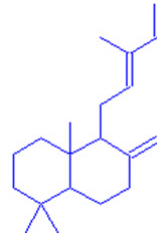

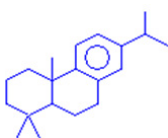
**ANEXO VII – ESTRUTURA QUÍMICA DOS COMPOSTOS
IDENTIFICADOS NOS EXTRATOS DE ALECRIM**

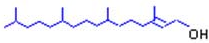
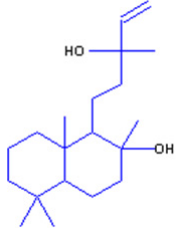
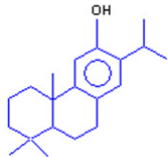
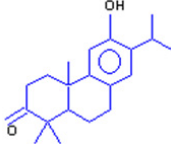
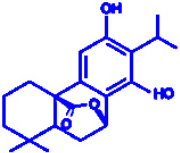
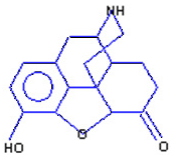
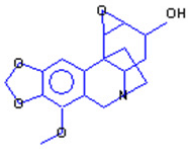
Tabela VII.1 – Dados dos compostos químicos identificados nos extratos de alecrim.

NOME COMPOSTO	I.R. *	FÓRMULA	P.M. ** [g/gmol]	ESTRUTURA MOLECULAR
α -Pinoeno	941	C ₁₀ H ₁₆	136	
α -Felandreno	1010	C ₁₀ H ₁₆	136	
Terpinoleno	1020	C ₁₀ H ₁₆	136	
Limoneno	1032	C ₁₀ H ₁₆	136	
β -Felandreno	1034	C ₁₀ H ₁₆	136	
Cânfora	1154	C ₁₀ H ₁₆ O	152	

NOME COMPOSTO	I.R. *	FÓRMULA	P.M.** [g/gmol]	ESTRUTURA MOLECULAR
Borneol	1178	C ₁₀ H ₁₈ O	154	
Terpinen-4-ol	1186	C ₁₀ H ₁₈ O	154	
Terpineol	1200	C ₁₀ H ₁₈ O	154	
Verbenona	1215	C ₁₀ H ₁₄ O	150	
Carvacrol	1285	C ₁₀ H ₁₄ O	150	
Isobornil acetato	1289	C ₁₂ H ₂₀ O ₂	196	

NOME COMPOSTO	I.R. *	FÓRMULA	P.M.** [g/gmol]	ESTRUTURA MOLECULAR
Timol	1295	C ₁₀ H ₁₄ O	150	
2-Etil-5-N-propilfenol	1302	C ₁₁ H ₁₆ O	164	
Cariofileno	1427	C ₁₅ H ₂₄	204	
α-Humuleno	1464	C ₁₅ H ₂₄	204	
Metil jasmonato	1649	C ₁₃ H ₂₀ O ₃	224	
Triciclo[5.2.2.0(1,6)]undecan-3-ol, 2-metileno-6,8,8-trimetil	1666	C ₁₅ H ₂₄ O	220	

NOME COMPOSTO	I.R. *	FÓRMULA	P.M.** [g/gmol]	ESTRUTURA MOLECULAR
Aromadendreno oxido	1680	C ₁₅ H ₂₄ O	220	
α-Bisabolol	1692	C ₁₅ H ₂₆ O	222	
Benzenesulfonamida, N-butil	1790	C ₁₀ H ₁₅ NO ₂ S	213	
7-Isopropil-1,1,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno	1891	C ₂₀ H ₃₀	270	
4,4,8-Trimetiltriciclo[6.3.1.0(1,5)]dodecane-2,9-diol	1898	C ₁₅ H ₂₆ O ₂	238	
Biformeno	1927	C ₂₀ H ₃₂	272	
Biciclo[3.1.1]hept-2-ene,2,2'-(1,2-etanedi)bis[6,6-dimetil]	1948	C ₂₀ H ₃₀	270	
7-Isopropil-1,1,4a-trimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno	2068	C ₂₀ H ₃₀	270	

NOME COMPOSTO	I.R. *	FÓRMULA	P.M.** [g/gmol]	ESTRUTURA MOLECULAR
Fitol	2110	C ₂₀ H ₄₀ O	296	
Esclareol	2289	C ₂₀ H ₃₆ O ₂	308	
Ferruginol	2329	C ₂₀ H ₃₀ O	286	
Hinokiona	2371	C ₂₀ H ₂₈ O ₂	300	
Isocarnosol	2401	C ₂₀ H ₂₆ O ₄	330	
Dihidronormorfinona	2435	C ₁₆ H ₁₇ NO ₃	271	
Crinamidina	2501	C ₁₇ H ₁₉ NO ₅	317	

* I.R. = índice de retenção.

** P.M. = peso molecular.