

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

**EXTRAÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL DE HORTELÃ (*Mentha spicata* L.) COM  
MISTURAS DE SOLVENTES A ALTA PRESSÃO**

**PRISCILLA PRATES DE ALMEIDA**  
**Engenheira de Alimentos**

**Florianópolis – SC**  
**2006**

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

**EXTRAÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL DE HORTELÃ (*Mentha spicata* L.) COM  
MISTURAS DE SOLVENTES A ALTA PRESSÃO**

**PRISCILLA PRATES DE ALMEIDA**  
**Engenheira de Alimentos**

**Orientadora: Prof<sup>ª</sup>. Dra. Sandra R. S. Ferreira**

**Florianópolis – SC**  
**2006**

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

**EXTRAÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL DE HORTELÃ (*Mentha spicata* L.) COM  
MISTURAS DE SOLVENTES A ALTA PRESSÃO**

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.

Orientadora: Prof<sup>a</sup>.Dra.Sandra R.S. Ferreira

**PRISCILLA PRATES DE ALMEIDA**

**Engenheira de Alimentos**

**Florianópolis – SC**

**2006**

Dedico esse título aos meus pais, por todo amor,  
pelo incentivo, pela oportunidade, e pela confiança  
em todos os momentos dessa caminhada.

## ***AGRADECIMENTOS***

Agradeço a Deus pela coragem e determinação para a realização e conclusão deste trabalho.

Aos meus pais José Maria de Almeida e Leida Prates de Almeida, e ao meu irmão Bruno Henrique Prates de Almeida, pelo apoio constante mesmo a distância.

A minha orientadora Prof<sup>a</sup>. Dra. Sandra Regina Salvador Ferreira pela orientação, confiança e contribuições para a realização deste trabalho.

Ao Prof. Dr-Ing Haiko Hense pelas orientações técnicas para a realização dos experimentos.

Aos meus amigos do mestrado e do LATESC, pela amizade, apoio, incentivo, companheirismo, e momentos compartilhados.

Aos membros da banca examinadora, pelas sugestões e comentários.

Ao Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos e ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos da Universidade Federal de Santa Catarina.

“Embora ninguém possa voltar atrás e fazer um novo começo,  
qualquer um pode começar agora e fazer um novo fim”.

(Chico Xavier)

## SUMÁRIO

|   |      |
|---|------|
| LISTA DE FIGURAS.....   | i    |
| LISTA DE TABELAS.....   | iv   |
| NOMENCLATURA.....   | v    |
| RESUMO.....   | vii  |
| ABSTRACT.....   | viii |
| 1. INTRODUÇÃO.....  | 1    |
| 2. OBJETIVOS.....   | 3    |
| 2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....                                    | 3    |
| 3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....                                     | 4    |
| 3.1 PLANTAS MEDICINAIS.....                                       | 4    |
| 3.2 ÓLEOS ESSENCIAIS.....   | 5    |
| 3.3 HORTELÃ ( <i>Mentha spicata</i> L).....                       | 7    |
| 3.4 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE.....                                   | 8    |
| 3.5 EXTRAÇÃO SUPERCÍTRICA.....                                    | 10   |
| 3.5.1 Fluido Supercrítico.....                                    | 12   |
| 3.6 MISTURA DE SOLVENTES – O EMPREGO DO CO-SOLVENTE.....          | 13   |
| 3.7 SOLUBILIDADE E SELETIVIDADE.....                              | 16   |
| 3.8 CURVAS DE EXTRAÇÃO.....                                       | 18   |
| 3.9 MODELAGEM MATEMÁTICA.....                                     | 19   |
| 4. MATERIAIS E MÉTODOS.....                                       | 23   |
| 4.1 PREPARAÇÃO DA MATÉRIA-PRIMA.....                              | 23   |
| 4.2 TESTES PRELIMINARES.....                                      | 24   |
| 4.3 CARACTERIZAÇÃO DA MATÉRIA-PRIMA E DO LEITO DE PARTÍCULAS..... | 25   |
| 4.3.1 Teor de umidade da matéria-prima.....                       | 25   |
| 4.3.2 Diâmetro médio de partículas.....                           | 26   |
| 4.3.3 Densidade real e densidade aparente.....                    | 27   |
| 4.3.4 Porosidade do leito de partículas.....                      | 27   |
| 4.3.5 Densidade do solvente.....                                  | 28   |
| 4.4 UNIDADES DE EXTRAÇÃO.....                                     | 28   |
| 4.4.1 Unidade de extração supercrítica 1.....                     | 28   |
| 4.4.2 Unidade de extração supercrítica 2.....                     | 30   |
| 4.5 RENDIMENTO TOTAL DE ÓLEO ( $X_0$ ).....                       | 32   |

|       |   |     |
|-------|---|-----|
| 4.6   | <i>CURVAS DE EXTRAÇÃO</i> .....   | 32  |
| 4.7   | <i>EXTRAÇÕES CONVENCIONAIS</i> .....  | 33  |
| 4.7.1 | <i>Hidrodestilação</i> .....  | 33  |
| 4.7.2 | <i>Extração Soxhlet</i> .....   | 35  |
| 4.8   | <i>DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE</i> .....                               | 36  |
| 4.7.1 | <i>Método do DPPH</i> .....   | 36  |
| 4.9   | <i>O EMPREGO DO CO-SOLVENTE</i> .....   | 38  |
| 4.10  | <i>DETERMINAÇÃO EXPERIMENTAL DA SOLUBILIDADE</i> .....                            | 40  |
| 4.11  | <i>COMPOSIÇÃO QUÍMICA DOS EXTRATOS</i> .....                                      | 40  |
| 5.    | <i>RESULTADOS E DISCUSSÃO</i> .....   | 42  |
| 5.1   | <i>TESTES PRELIMINARES</i> .....  | 42  |
| 5.2   | <i>CARACTERIZAÇÃO DA MATÉRIA-PRIMA E DO LEITO DE PARTÍCULAS</i> .....             | 43  |
| 5.3   | <i>RENDIMENTO GLOBAL DE EXTRAÇÃO (<math>X_0</math>)</i> .....                     | 43  |
| 5.4   | <i>EXTRAÇÕES CONVENCIONAIS – RENDIMENTO</i> .....                                 | 47  |
| 5.5   | <i>O EMPREGO DO CO-SOLVENTE (CS) NA ESC</i> .....                                 | 49  |
| 5.6   | <i>SOLUBILIDADE EXPERIMENTAL</i> .....  | 55  |
| 5.7   | <i>COMPOSIÇÃO QUÍMICA DOS EXTRATOS DE HORTELÃ</i> .....                           | 57  |
| 5.7.1 | <i>Composição dos extratos obtidos por ESC e extração Soxhlet</i> .....           | 57  |
| 5.7.2 | <i>Composição dos extratos obtidos com etanol (co-solvente)</i> .....             | 64  |
| 5.7.3 | <i>Influência do tempo de extração na composição dos extratos</i> .....           | 72  |
| 5.8   | <i>ATIVIDADE ANTIOXIDANTE</i> .....   | 75  |
| 5.8.1 | <i>Método do DPPH</i> .....   | 75  |
| 5.9   | <i>MODELAGEM MATEMÁTICA</i> .....   | 81  |
| 6     | <i>CONCLUSÕES</i> .....   | 86  |
| 7     | <i>SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS</i> .....                                     | 88  |
|       | <i>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</i> .....   | 89  |
|       | <i>APÊNDICE I – EQUAÇÕES DOS MODELOS MATEMÁTICOS</i> .....                        | 97  |
|       | <i>APÊNDICE II – FOTOS DOS EQUIPAMENTOS DE EXTRAÇÃO SUPERCRÍTICA</i> .....        | 103 |
|       | <i>APÊNDICE III - FÓRMULAS ESTRUTURAIS DOS COMPOSTOS DO ÓLEO DE HORTELÃ</i> ..... | 103 |

*APÊNDICE IV - CROMATOGRAMAS DOS COMPOSTOS DE ÓLEO DE HORTELÃ  
OBTIDOS POR DIFERENTES TÉCNICAS E CONDIÇÕES DE OPERAÇÃO.....110*

*APÊNDICE V – CURVAS DE ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DO ÓLEO DE HORTELÃ  
OBTIDAS POR DIFERENTES TÉCNICAS E CONDIÇÕES DE OPERAÇÃO.....111*

*APÊNDICE VI - CURVAS DE EXTRAÇÃO EXPERIMENTAIS E MODELADAS..... 113*

**LISTA DE FIGURAS**

- Figura 1 Estruturas químicas de monoterpênos: (a) mentona, (b) limoneno e (c) mentol, respectivamente.
- Figura 2 *Mentha spicata* L.
- Figura 3 Estrutura química da Carvona.
- Figura 4 Atividade antioxidante do extrato de hortelã e BHT, pelo método DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil) (KANATT et al, 2005).
- Figura 5 Inversão das isotermas para o extrato de *Artemisia annua* (a) e o extrato de alecrim (*Rosmarinus officinalis*) (b), respectivamente (QUISPE-CONDORI et al, 2005 e CARVALHO Jr et al, 2005).
- Figura 6 Curva típica de extração (BRUNNER, 1994), com duas retas ajustadas.
- Figura 7 Hortelã (*Mentha spicata* L) floculada, desidratada e moída.
- Figura 8 Curvas de extração de óleo de hortelã a 100 bar e 30°C e vazão de 5g/min.
- Figura 9 Esquema do equipamento de extração a alta pressão 1, disponível no LATESC.
- Figura 10 Esquema da unidade de extração supercrítica 2, disponível no LATESC.
- Figura 11 Esquema do equipamento de hidrodestilação, utilizado na extração de óleo de hortelã.
- Figura 12 Esquema do equipamento Soxhlet utilizado na extração de óleo de hortelã.
- Figura 13 Esquema do processo para a determinação da atividade antioxidante do óleo de hortelã.
- Figura 14 Esquema da unidade de extração 1, com a bomba de CS acoplada, utilizada na extração do óleo de hortelã.
- Figura 15 Foto da bomba de co-solvente acoplada ao equipamento de ESC 1.
- Figura 16 Microscopia eletrônica de varredura de hortelã (*Mentha spicata* L).
- Figura 17 Rendimento ( $X_0$ ) versus densidade CO<sub>2</sub>, em função da pressão (100, 200 e 300 bar), a temperatura constante.
- Figura 18 Efeito da pressão na ESC de óleo de hortelã a 40°C.
- Figura 19 Efeito da pressão na ESC de óleo de hortelã a 50°C.
- Figura 20 Inversão das isotermas na ESC de óleo de hortelã.
- Figura 21 Efeito da temperatura na ESC de óleo de hortelã a 200 bar.
- Figura 22 Efeito da temperatura na ESC de óleo de hortelã a 300 bar.

- Figura 23 Efeito da concentração de co-solvente no rendimento da ESC de óleo de hortelã a 200 bar e 40°C.
- Figura 24 Tendência do ponto de inversão das isotermas na ESC com CS do óleo de hortelã.
- Figura 25 Ajuste das retas à curva de extração do óleo de hortelã para a condição de 200 bar e 40°C.
- Figura 26 Cromatograma do óleo de hortelã obtido por ESC a 300 bar e 50°C.
- Figura 27 Cromatograma do óleo de hortelã obtido por extração Soxhlet – fração etanol.
- Figura 28 Espectro de massas do composto Carvona, presente no óleo de hortelã.
- Figura 29 Espectro de massas do composto Ácido Hexadecatrienóico, presente no óleo de hortelã.
- Figura 30 Efeito da pressão sobre a extração dos compostos Carvona e Ácido Hexadecatrienóico, a 50°C.
- Figura 31 Efeito da temperatura sobre a extração da Carvona e Ácido Hexadecatrienóico.
- Figura 32 Cromatograma do óleo de hortelã obtido por ESC a 200 bar e 50°C e 20% de Etanol
- Figura 33 Espectro de massa do composto Fitol, identificado no óleo de hortelã.
- Figura 34 Extração do composto Carvona, em função do tempo de extração.
- Figura 35 Extração do composto Pulegona, em função do tempo de extração.
- Figura 36 Extração do composto Espotulenol, em função do tempo de extração.
- Figura 37 Atividade antioxidante do óleo de hortelã para hidrodestilação e extração Soxhlet.
- Figura 38 Atividade antioxidante do óleo de hortelã a 300 bar e 40 e 50°C.
- Figura 39 Atividade antioxidante do óleo de hortelã a 200 bar e 40°C e 10, 15 e 20% de Etanol.
- Figura 40 Curva de atividade antioxidante do extrato de hortelã segundo a concentração de co-solvente.
- Figura 41 Curvas de extração experimental e modeladas para o óleo de hortelã para a condição de 100bar e 30°C
- Figura II - I Foto das unidades de extração a alta pressão 1 e 2, disponíveis no LATESC.
- Figura III-I Cromatograma do óleo de hortelã obtido por Soxhlet – fração n-hexano.
- Figura III-II Cromatograma do óleo de hortelã obtido por Soxhlet – fração diclorometano.
- Figura III-III Cromatograma do óleo de hortelã obtido por Soxhlet – fração acetato de etila.

- Figura III-IV Cromatograma do óleo de hortelã obtido por Soxhlet – fração butanol.
- Figura III-V Cromatograma do óleo de hortelã obtido por ESC a 100 bar e 40°C.
- Figura III-VI Cromatograma do óleo de hortelã obtido por ESC a 100 bar e 50°C.
- Figura III-VII Cromatograma do óleo de hortelã obtido por ESC a 200 bar e 40°C.
- Figura III-VIII Cromatograma do óleo de hortelã obtido por ESC a 200 bar e 50°C.
- Figura III-IX Cromatograma do óleo de hortelã obtido por ESC a 300 bar e 30°C.
- Figura III-X Cromatograma do óleo de hortelã obtido por ESC a 150 bar, 40°C e 20% Etanol.
- Figura III-XI Cromatograma do óleo de hortelã obtido por ESC a 200 bar, 40°C e 15% Etanol.
- Figura III-XII Cromatograma do óleo de hortelã obtido por ESC a 200 bar, 40°C e 20% Etanol.
- Figura III-XIII Cromatograma do óleo de hortelã obtido por ESC a 230 bar, 40°C e 20% Etanol.
- Figura V-I Atividade antioxidante do óleo de hortelã a 100 bar e 200 bar e 30°C.
- Figura V-II Atividade antioxidante do óleo de hortelã a 100 bar e 200 bar e 40°C.
- Figura V-III Atividade antioxidante do óleo de hortelã a 100 bar e 200 bar e 50°C.
- Figura V-IV Atividade antioxidante do óleo de hortelã a 100 bar, 200 bar, 300 bar e 50°C e 20% Etanol.
- Figura V-V Atividade antioxidante do óleo de hortelã a 150 bar e 230 bar, 40°C e 20% Etanol.
- Figura VI-I Curvas de extração experimental e modeladas para o óleo de hortelã para a condição de 100bar e 40°C.
- Figura VI-II Curvas de extração experimental e modeladas para o óleo de hortelã para a condição de 100bar e 50°C.
- Figura VI-III Curvas de extração experimental e modeladas para o óleo de hortelã para a condição de 300bar e 30°C.
- Figura VI-IV Curvas de extração experimental e modeladas para o óleo de hortelã para a condição de 300bar e 40°C.
- Figura VI-V Curvas de extração experimental e modeladas para o óleo de hortelã para a condição de 300bar e 50°C.

**LISTA DE TABELAS**

- Tabela 1 Propriedades críticas de solventes (LILEY et al, 1997).
- Tabela 2 Dados característicos da matéria-prima e leito de partículas.
- Tabela 3 Valores de  $X_0$  (Rendimento) obtidos nas extrações supercríticas
- Tabela 4 Rendimentos obtidos nas extrações convencionais.
- Tabela 5 Rendimentos obtidos nas extrações supercrítica com e sem co-solvente, a 200 bar e 40°C.
- Tabela 6 Efeito da temperatura e pressão nas extrações com co-solvente (20 % etanol)
- Tabela 7 Identificação dos compostos do óleo de hortelã obtidos por ESC sem co-solvente e extração Soxhlet.
- Tabela 8 Composição química (%) dos extratos de hortelã obtidos por ESC e extração Soxhlet.
- Tabela 9 Identificação dos compostos do óleo de hortelã obtidos por ESC com co-solvente.
- Tabela 10 Composição química (%) dos extratos de hortelã obtidos por ESC com 20% de etanol.
- Tabela 11 Composição química (%) dos compostos identificados em função da concentração de etanol.
- Tabela 12 Composição química (%) dos principais componentes identificados nos extratos de hortelã obtidos por ESC a 200 bar e 40°C e 20% de etanol, em função do tempo de extração.
- Tabela 13 Dados de atividade antioxidante máxima (AA%) e  $EC_{50}$  ( $\mu\text{g/ml}$ ) obtidos nas extrações supercrítica e convencional.
- Tabela 14 Condições experimentais para modelagem da ESC do óleo de hortelã.
- Tabela 15 Parâmetros ajustados para o modelo de SOVOVÁ (1994).
- Tabela 16 Parâmetros ajustáveis para os modelos LM (b e  $t_m$ ) e o modelo de difusão (D).
- Tabela 17 Erros médios entre os dados experimentais e modelados das curvas de extração do óleo de hortelã.
- Tabela IV-I Fórmulas estruturais dos compostos obtidos na extração de óleo de hortelã por diferentes técnicas e condições de processo.

**NOMENCLATURA**

|              |  |
|--------------|--|
| $a$          | comprimento da partícula (mm)  |
| $b$          | altura da partícula (mm)   |
| $b$          | parâmetro ajustável do Modelo Logístico ( $s^{-1}$ )                                   |
| $c$          | espessura da partícula (mm)  |
| $D$          | diâmetro médio das partículas (mm)   |
| $d_a$        | densidade aparente ( $g/cm^3$ )  |
| $D_{AB}$     | coeficiente de difusão ( $m^2/min$ ),  |
| $d_r$        | densidade real ( $g/cm^3$ )  |
| $h$          | coordenada axial (m)   |
| $H$          | comprimento do leito (m)   |
| $J(X,Y)$     | taxa de transferência de massa ( $kg/m^3.s$ ).   |
| $k_{Xa}$     | coeficiente de transferência de massa na fase sólida ( $min^{-1}$ )                    |
| $k_{Ya}$     | coeficiente de transferência de massa na fase fluida ( $min^{-1}$ )                    |
| $m_0$        | massa inicial total de óleo (soluto) no leito de extração (g)                          |
| $M_{CER}$    | taxa de extração na etapa CER (g/min);   |
| $m_{ext}$    | massa de extrato (g)   |
| $m_t$        | massa total de sólidos na coluna de extração (g)                                       |
| $m_{totali}$ | massa total de cada grupo de composto (g)  |
| $N$          | a massa de matéria-prima livre de soluto (g)   |
| $N$          | perda de peso (g)  |
| $O$          | teor inicial de óleo no sólido (g)   |
| $P$          | peso da amostra (g)  |
| $Q_{CO2}$    | vazão média do solvente (kg/s)   |
| $r$          | raio da esfera (m)   |
| $S$          | área de seção transversal do leito ( $m^2$ )   |
| $t$          | tempo de extração (s).   |
| $t_{CER}$    | duração da etapa CER (min).  |
| $t_m$        | parâmetro ajustável do Modelo Logístico (s)  |
| $U$          | velocidade superficial do solvente (m/s)   |
| $W$          | parâmetro para o período de taxa de extração lenta                                     |
| $X_0$        | rendimento global (%)  |
| $x_0$        | razão mássica inicial de soluto na fase sólida ( $g_{\text{óleo}}/g_{\text{sólido}}$ ) |

---

|                  |  |
|------------------|--|
| $x_k$            | razão mássica de soluto no interior de células intactas  |
| $y$              | razão mássica de soluto na fase fluida ( $\text{g}_{\text{óleo}}/\text{g}_{\text{solvente}}$ )                                       |
| $Y^*$            | solubilidade (g/g),  |
| $Y_{\text{CER}}$ | razão mássica do soluto na fase supercrítica na saída da coluna na etapa CER ( $\text{g}_{\text{extrato}}/\text{g}_{\text{CO}_2}$ ); |
| $Z$              | parâmetro para o período CER   |
|                  |  |
| $\mu$            | momento de dipolo elétrico (D)   |
| $\alpha$         | coeficiente de transferência de calor  |
| $\Delta X$       | concentração média na fase sólida (g/g).   |
| $\Delta Y$       | concentração média logarítmica na fase fluida (g/g)  |
| $\varepsilon$    | porosidade do leito de partículas  |
| $\rho_f$         | densidade da fase fluida ( $\text{kg}_{\text{solvente}}/\text{m}^3$ )  |
| $\rho_s$         | densidade da fase sólida ( $\text{kg}_{\text{sólido}}/\text{m}^3$ )  |

## RESUMO

As plantas aromáticas são largamente utilizadas como medicamentos na medicina popular, e atualmente estão sendo estudadas devido às suas propriedades terapêuticas, entre elas antiinflamatória, antifúngica, antiviral e antioxidante, que dependem dos compostos biologicamente ativos presentes nessas plantas. A hortelã (*Mentha spicata* L) é uma planta aromática nativa da Europa, cujo óleo essencial tem aplicações em indústrias alimentícias, farmacêutica e de cosméticos. Dentre os diferentes métodos de extração para óleos essenciais, pode-se destacar a extração supercrítica (ESC), um processo de separação a alta pressão, livre de resíduos tóxicos, que não provoca degradação térmica aos extratos e conserva as características organolépticas do produto, além das técnicas a baixa pressão, conhecidas como processos convencionais. Assim, o objetivo do presente trabalho foi a obtenção de óleo essencial de hortelã (*Mentha spicata* L) através das seguintes técnicas de extração: ESC (com e sem co-solvente), hidrodestilação e extração Soxhlet, visando a determinação do rendimento de processo, da composição química e da atividade antioxidante dos extratos. O resultado das extrações a baixa pressão contribuíram para a escolha dos co-solventes aplicados nas extrações a alta pressão com CO<sub>2</sub>, empregados para promover o aumento no poder de dissolução do solvente supercrítico e/ou o controle da seletividade do processo. As condições de operação para ESC com CO<sub>2</sub> foram de 30, 40 e 50°C e pressões variando de 100 a 300 bar. O melhor rendimento (2,38%) foi obtido na condição de 300 bar e 50°C. Na ESC com co-solvente foram utilizados dois co-solventes: o etanol e o acetato de etila, nas concentrações de 10, 15 e 20% em massa, e condição de 200 bar e 40°C. O etanol apresentou maiores rendimentos do que o acetato de etila. A inversão das isotermas a 40 e 50°C na ESC com etanol foi determinada com 20% de co-solvente, variando-se a pressão de operação. Para entender a cinética de extração do sistema óleo de hortelã + CO<sub>2</sub> supercrítico, foram empregados três modelos: o Modelo de Difusão, apresentado por REVERCHON (1997), que faz analogia à transferência de calor, e dois modelos baseados no balanço de massa diferencial: Modelo de Sovová, proposto por SOVOVÁ (1994) e o Modelo Logístico (LM), apresentado por MARTÍNEZ et al (2003). Os modelos de Difusão e Logístico se ajustaram melhor aos dados experimentais do que o modelo de Sovová.

**ABSTRACT**

Aromatic plants are commonly used in popular medicine and nowadays they have been studied because of its therapeutic properties, such as antiinflammatory, antifungic, antiviral and antioxidant properties. Spearmint (*Mentha spicata* L) is an aromatic plant, native from Europe, and its essential oil is used in food, pharmaceutical and cosmetic industries. Supercritical fluid extraction (SFE) is a separation process used to extract natural products because it is a free toxic residue process, preserves termolabile compounds and the product characteristics. Therefore, the aim of this work was to obtain mint essential oil by different extraction techniques, SFE (with and without modifier), hydrodistillation and Soxhlet, searching for the process yield and the composition and antioxidant activity of the extracts. The results of the low pressure extractions indicate the use of modifiers for the CO<sub>2</sub> extractions, to improve the solvent power and selectivity. SFE was performed at 30, 40 and 50°C and pressure from 100 to 300 bar. The highest yield (2.38%) was obtained at 50°C and 300 bar. Ethanol and ethyl acetate were the selected modifiers, used at 10, 15 and 20% (w/w) at 200 bar and 40°C. Ethanol showed highest yield compared to ethyl acetate as co-solvent. The crossover of the yield isotherms at 40 and 50°C with co-solvent was determined using 20% ethanol and varying the operating pressure. To understand the extraction kinetics, three models were used: one based on the heat transfer analogy, the Diffusion Model, presented by REVERCHON (1997), and two models based on the integration of differential equations: Sovová's model, presented by SOVOVÁ (1994) and Logistic model, presented by MARTÍNEZ et al. (2003). Diffusion and Logistic models adjusted better to the experimental data than Sovová's.

## 1. INTRODUÇÃO

A *Mentha spicata* L, comumente chamada de hortelã, é originária da Europa e possui propriedades antifúngica, antiviral, antimicrobiana, inseticida, antioxidante, entre outras. Seu óleo essencial é utilizado na fabricação de cremes dentais, chicletes, produtos de confeitaria e perfumes (CHOUDHURY et al, 2006).

As 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). As plantas da família *Lamiaceae*, a qual pertence a *Mentha spicata* L, possuem uma atividade antioxidante significativa (GOMEZ, 2003).

Os principais constituintes dos óleos voláteis variam desde hidrocarbonetos terpênicos, álcoois simples e terpênicos a aldeídos, cetonas, fenóis, ésteres, éteres, óxidos, ácidos orgânicos, entre outros (SIMÕES & SPITZER, 2001).

A extração supercrítica (ESC) é uma tecnologia de separação a alta pressão, que previne a degradação térmica dos extratos quando utiliza baixas temperaturas, e não requer grandes gastos com energia (possibilidade de reaproveitamento do solvente), como o gasto de energia dos processos de destilação. Os métodos convencionais de extração, ou seja, métodos de extração a baixa pressão, como a hidrodestilação e a extração Soxhlet, mostram-se eficazes, mas apresentam desvantagens em relação à ESC como, por exemplo, o grande volume de solvente orgânico utilizado, o elevado tempo de processo e a contaminação do extrato por resíduos de solvente (MAUL, 1999).

O dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) é um solvente atrativo para utilização em ESC, pois possui boas propriedades de transporte, como baixa viscosidade e alto coeficiente de difusão, baixo gasto de energia, é facilmente disponível em alta pureza, barato e apresenta temperatura e pressão críticas relativamente baixas (T<sub>c</sub> = 31,1°C e P<sub>c</sub> = 73,8 bar) (BRUNNER, 1994).

A solubilidade do soluto no fluido supercrítico é função da densidade do solvente e da pressão de vapor do soluto. Os efeitos antagônicos destes parâmetros ocasionam uma inversão da curva de solubilidade, fenômeno conhecido como retrogradação, resultado da competição entre esses efeitos (densidade do solvente e pressão de vapor do soluto) e da predominância de um dos dois (GÜÇLÜ-ÜSTUNDAG & TEMELLI, 2004).

Os óleos voláteis são extraídos com solventes apolares, como o dióxido de carbono, que, entretanto, extraem outros compostos lipofílicos (SIMÕES & SPITZER, 2001). No caso de substâncias de baixa volatilidade, sua solubilidade pode ser aumentada mediante a adição

de um co-solvente. Além disso, a adição do co-solvente promove um aumento na seletividade devido à maior dependência do poder de dissolução com a temperatura e pressão (BRUNNER, 1994).

Assim, os objetivos desse trabalho foram a obtenção do óleo essencial de hortelã por diferentes técnicas de extração e a sua comparação quanto ao rendimento, composição e atividade antioxidante, bem como a obtenção do ponto de inversão das isotermas nas extrações supercríticas com e sem co-solvente, e o seu efeito sobre o rendimento da extração e a composição dos extratos.

Além disso, foi realizada a modelagem matemática dos dados experimentais da ESC para entender a cinética da extração. Para isso foram empregados três modelos, o Modelo de Difusão, apresentado por REVERCHON (1997), que faz analogia à transferência de calor, e dois modelos baseados no balanço de massa diferencial: Modelo de Sovová, proposto por SOVOVÁ (1994) e o Modelo Logístico, apresentado por MARTÍNEZ et al (2003).

## 2. **OBJETIVOS**

Os objetivos principais deste trabalho consistem na (o):

- Obtenção de óleo essencial de hortelã (*Mentha spicata* L.) por ESC e extração a baixa pressão (hidrodestilação e extração Soxhlet);
- Determinação da inversão das isotermas de rendimento nas extrações a alta pressão de óleo essencial de hortelã (*Mentha spicata* L.);
- Emprego de co-solventes na ESC e a sua relação com o fenômeno de inversão das isotermas de rendimento;
- Determinação da composição química e atividade antioxidante do extrato de hortelã;
- Modelagem matemática das curvas de ESC.

### 2.1 **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Avaliação das condições ótimas de extração (T, P) e sua influência no rendimento do processo;
- Caracterização da matéria-prima e do leito de partículas utilizados nas extrações a alta pressão;
- Determinação da solubilidade preliminar ( $Y^*$ ) do soluto (óleo de hortelã) no fluido supercrítico ( $CO_2$ );
- Comparação dos rendimentos de extração, composição química e atividade antioxidante dos extratos para as diferentes técnicas utilizadas;
- Avaliação do efeito do emprego de co-solvente no rendimento, composição química e ponto de inversão das isotermas de solubilidade dos extratos obtidos nas extrações a alta pressão.

### **3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

#### **3.1 PLANTAS MEDICINAIS**

O homem primitivo, ao procurar plantas para seu sustento, foi descobrindo plantas com ação tóxica ou medicinal, de acordo com o uso que podia fazer delas. Indícios do uso de plantas medicinais e tóxicas foram encontrados nas mais antigas civilizações (POSER & MENTZ, 2001). Devido a utilização de plantas medicinais na cura ou prevenção de doenças, o cultivo e/ou extrativismo dessas plantas tornou-se uma alternativa cada vez mais importante aos produtos sintéticos (REIS & MARIOT, 2001).

As plantas são uma fonte importante de produtos naturais biologicamente ativos, utilizados na síntese de um grande número de fármacos. Apesar do aumento de estudos nessa área, os dados disponíveis revelam que apenas 15 a 17% das plantas foram estudadas quanto ao seu potencial medicinal (GUERRA & NODARI, 2001).

No Brasil, estima-se que 25% do faturamento da indústria farmacêutica nacional em 1996 foi devido aos medicamentos derivados de plantas (GUERRA & NODARI, 2001). Várias empresas nacionais empregam matéria-prima vegetal diretamente na elaboração de seus medicamentos. No Brasil, 20% da população é responsável por 63% do consumo dos medicamentos disponíveis. O restante encontra nos produtos de origem natural, especialmente as plantas medicinais, a única fonte de recursos terapêuticos (REIS & MARIOT, 2001).

Mas quando se confrontam os altos preços médios praticados no Brasil com aqueles praticados nos países desenvolvidos observa-se a necessidade de se buscar alternativas para superar a dependência externa. O panorama brasileiro nessa área mostra que 84% de todos os fármacos são importados e que 78% da produção brasileira é realizada por empresas multinacionais (GUERRA & NODARI, 2001).

A Organização Mundial de Saúde (OMS) estima que 70 a 80% da população mundial utiliza as plantas ou seus produtos em benefício próprio. Aproximadamente 25% dos fármacos empregados nos países industrializados são baseados em processos utilizando produtos naturais. A maioria destes produtos origina-se do uso de plantas conhecidas pelas culturas milenares orientais.

As plantas aromáticas são, atualmente, bastante estudadas devido aos seus interesses terapêuticos e benefícios. Esses benefícios dependem muito de alguns princípios ativos que em termos gerais ocorrem em todas as plantas. Sabe-se que as plantas contêm uma complexa

mistura de compostos bioativos, entre eles os terpenóides, que apresentam uma grande variedade de propriedades biológicas (DEL CASTILLO et al, 2004).

As potencialidades do uso das plantas medicinais encontram-se longe de estarem esgotadas. Os novos paradigmas de desenvolvimento social e econômico, baseados nos recursos renováveis, reafirmam isso. Novos conhecimentos e novas necessidades certamente encontrarão soluções no reino vegetal, seja através da descoberta e desenvolvimento de novas moléculas com atividade terapêutica, ou com aplicações na tecnologia farmacêutica, ou no desenvolvimento de fitoterápicos com maior eficiência (SCHENKEL et al, 2001).

### **3.2 ÓLEOS ESSENCIAIS**

Desde a antiguidade se isolam compostos orgânicos dos vegetais. Pelo aquecimento suave ou pela destilação a vapor de materiais vegetais, pode-se obter misturas odoríferas de compostos conhecidos como óleos essenciais. Por milhares de anos estes extratos vegetais foram usados como remédios, temperos e perfumes (ETNO-BOTÂNICA. Acesso em 10/07/05).

A ISO (International Standard Organization) define óleos voláteis como os produtos obtidos de diferentes partes de plantas, de forma geral misturas complexas de substâncias voláteis, lipofílicas, geralmente odoríferas e líquidas. Também podem ser chamados de óleos essenciais, óleos etéreos (devido à sua solubilidade em solventes orgânicos apolares) ou essências (devido ao intenso aroma). Possuem uma solubilidade limitada em água, mas suficiente para aromatizar essas soluções que são chamadas de hidrolatos. Tem sabor geralmente acre (ácido) e picante, e quando recentemente extraídos são geralmente incolores ou ligeiramente amarelados. Em geral os óleos voláteis não são muito estáveis, principalmente na presença de ar, luz, calor, umidade e metais (SIMÕES & SPITZER, 2001).

Do ponto de vista químico, os óleos essenciais das plantas são constituídos principalmente de uma mistura de lipídios chamados terpenos. O aroma das ervas é o resultado de uma complexa mistura de substâncias voláteis, os terpenos, sesquiterpenos e derivados oxigenados (DIAZ-MAROTO et al, 2002). Os terpenos são hidrocarbonetos e os oxigenados são denominados terpenóides. Os compostos terpênicos mais frequentes nos óleos voláteis são os monoterpenos (cerca de 90% dos óleos voláteis) e os sesquiterpenos. Alguns exemplos de monoterpenos comuns, presentes em diferentes espécies de hortelã, são a mentona, o limoneno e o mentol, apresentados na Figura 1 (SIMÕES & SPITZER, 2001).

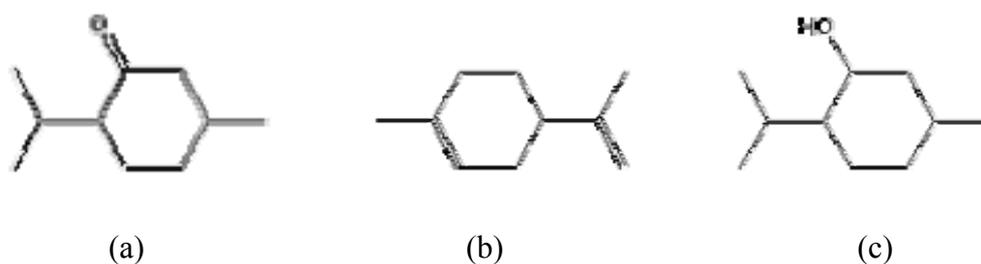


Figura 1: Estruturas químicas de monoterpenos: (a) mentona, (b) limoneno e (c) mentol, respectivamente.

Os óleos essenciais conferem características de flavor e aroma e apresentam os seguintes atributos (FERREIRA, 1991):

- Não influenciam na cor do produto final ao qual são adicionados;
- São livres de enzimas e taninos;
- Oxidam rapidamente devido aos terpenos.

Dependendo da família, os óleos voláteis podem ocorrer em estruturas secretoras especializadas, tais como os pêlos glandulares nas plantas da família *Lamiaceae*, a qual pertence a *Mentha spicata* L. Embora todos os órgãos possam acumular óleos voláteis, sua composição, características físico-químicas e odores podem variar de acordo com sua localização nos diferentes órgãos de uma mesma planta. E a composição química de um óleo volátil, extraído do mesmo órgão de uma mesma espécie vegetal, pode variar significativamente de acordo com aspectos de cultivo como época de colheita, condições climáticas e de solo (SIMÕES & SPITZER, 2001).

O ambiente no qual o vegetal se desenvolve e os tipos de cultivo influem sobre a composição química dos óleos voláteis. A temperatura, a umidade relativa, a duração total de exposição ao sol e o regime de ventos exercem uma influência direta, sobretudo sobre as espécies que possuem estruturas histológicas de estocagem na superfície. Nos vegetais em que a localização de tais estruturas é mais profunda, a qualidade dos óleos voláteis é mais constante. Deve-se preferencialmente coletar plantas ricas em óleos voláteis bem cedo pela manhã ou à noite, pois o período de exposição ao sol pode provocar uma perda quantitativa importante do óleo existente no vegetal (SIMÕES E SPITZER, 2001).

Os óleos voláteis são extraídos com solventes apolares que, entretanto, extraem outros compostos lipofílicos. A extração com CO<sub>2</sub> supercrítico permite recuperar, de modo bastante eficiente, os aromas naturais de vários tipos, e não somente óleo volátil. Atualmente existe

uma tendência de que esse venha a ser o método de escolha para extração industrial de óleos essenciais. Nenhum traço de solvente permanece no produto final, tornando-o mais puro do que aqueles obtidos por outros métodos (SIMÕES E SPITZER, 2001).

### 3.3 HORTELÃ (*Mentha spicata* L)

A família *Lamiaceae* possui vários membros com uma quantidade significativa de óleos essenciais (AGHEL et al, 2004). O gênero *Mentha*, pertencente a esta família, compreende aproximadamente de 25 a 30 espécies, que podem ser encontradas em regiões temperadas da Europa, Ásia, Austrália e África do Sul (DORMAN et al, 2003). Esse gênero é um dos mais complexos do reino vegetal devido aos inúmeros híbridos resultantes do cruzamento espontâneo das espécies, o que auxiliou na dispersão e adaptação a vários ambientes, mas causou confusão na taxonomia botânica. A composição química das espécies e sub-espécies da *Mentha* não varia muito em termos de grupos químicos, ocorrendo variação maior nos compostos específicos (MENTZ & BORDIGNON, 2001).

A *Mentha spicata* L, apresentada na Figura 2, é originária da Europa, especificamente Europa Central, atualmente cultivada nos Estados Unidos e Canadá. É uma das espécies de hortelã mais cultivadas no Brasil, pois é bem adaptada ao clima subtropical. Ela possui propriedades antifúngica, antiviral, antimicrobiana, inseticida, antioxidante, antihemolítica, alergênica, antihelmíntica, diurética, estimulante, entre outras. É utilizada no tratamento de febre, bronquite, resfriados, câimbras, gastrite, dores de cabeça, indigestão, náusea e cólica. Seu óleo essencial é utilizado na fabricação de cremes dentais, chicletes, produtos de confeitaria e perfumes (CHOUDHURY et al, 2006).



Figura 2: *Mentha spicata* L.

O mercado mundial do óleo essencial de *Mentha spicata* L é de aproximadamente 1500 ton/ano. As propriedades medicinais do seu óleo se assemelham às da *Mentha piperita* L, como por exemplo atividades estimulante, carminativa e antiespasmódica, embora sejam de menor intensidade. Em produtos de higiene pessoal, tem-se utilizado uma mistura dos dois óleos (óleo de *Mentha piperita* L e óleo de *Mentha spicata* L) para suavizar o sabor dos produtos. Seu óleo é também utilizado para tratamento de reumatismo, dores musculares e articulações, e medicamentos para câncer (CARVALHO & FONSECA, 2006). O principal constituinte do óleo essencial de *Mentha spicata* L é a Carvona, apresentada na Figura 3.

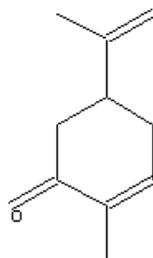
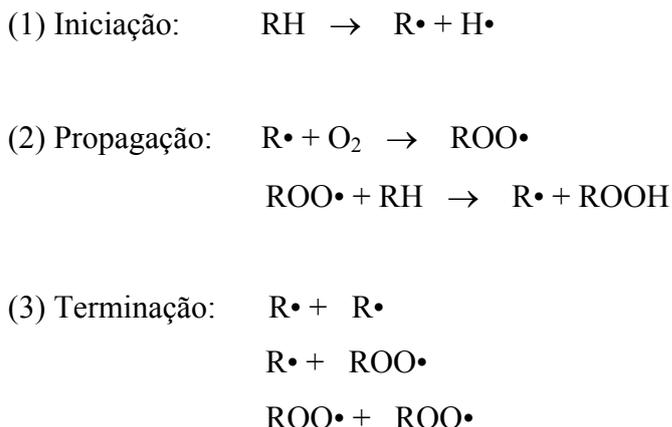


Figura 3: Estrutura química da Carvona.

### **3.4 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE**

Os lipídios desempenham um papel importante em relação às propriedades organolépticas dos produtos, realçando atributos como sabor, odor, cor e textura dos mesmos (GOMEZ, 2003). 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 a fatores ambientais como o ar, luz e temperatura (HRAS et al, 2000). Logo, a necessidade de preservação dos alimentos levou à procura de compostos com propriedades antioxidantes que aumentassem o tempo de vida de prateleira dos alimentos e reduzissem as perdas nutricionais (BERNARDO-GIL et al, 2002).

O mecanismo de oxidação envolve as reações de iniciação (1), onde os radicais livres são gerados pelo calor, pela luz ou por ações combinadas; reações de propagação (oxidação) (2), conduzindo aos radicais peroxi; e reações de terminação (3), 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 seqüência abaixo (GOMEZ, 2003).



Os radicais livres são moléculas reativas e altamente instáveis, pois possuem elétrons desemparelhados (GOMEZ, 2003). Os antioxidantes adicionados neutralizam radicais livres doando um de seus próprios elétrons, finalizando a reação sequestradora de elétrons (ATOUI et al, 2005).

Os antioxidantes podem ser de origem sintética ou natural. A importância de antioxidantes naturais tem sido demonstrada por estudos que comprovam que o consumo de alimentos ricos nesses compostos tem efeito benéfico na saúde humana, embora as substâncias sintéticas sejam mais baratas, de fácil obtenção, de qualidade homogênea e com elevada atividade antioxidante também (DORMAN et al, 2003). No entanto, 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 (HRAS et al, 2000).

Os compostos antioxidantes naturais têm sido isolados de diferentes partes de plantas como sementes, frutas, folhas e raízes. Esses compostos incluem flavonóides, ácidos fenólicos, terpenos, tocoferóis, fosfolipídios, ácidos orgânicos e também extratos de plantas (GOMEZ, 2003).

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). Entre as ervas e especiarias extensamente estudadas, as plantas obtidas da família *Lamiaceae*, a qual pertence a *Mentha spicata* L, possuem uma atividade antioxidante significativa (GOMEZ, 2003). KANATT et al (2005) avaliaram a atividade antioxidante do extrato de hortelã e o antioxidante sintético BHT (Hidroxitolueno Butilado) através do método do DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil) (ver item 4.7.1), e

mostraram que o extrato de hortelã possui boa capacidade de estabilizar o radical DPPH frente ao antioxidante sintético, como apresentado na Figura 4.

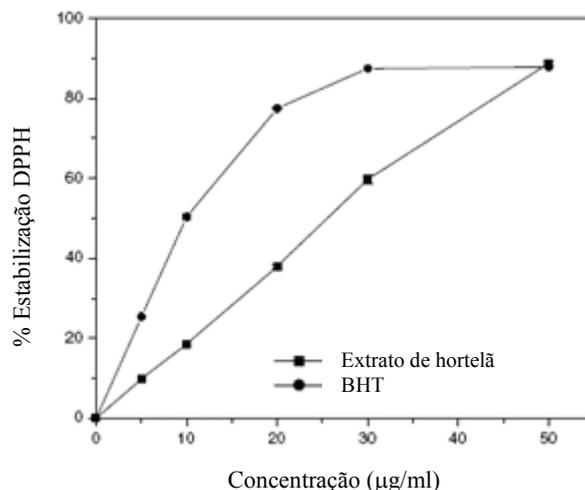


Figura 4: Atividade antioxidante do extrato de hortelã e BHT, pelo método DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil) (KANATT et al, 2005)

### **3.5 EXTRAÇÃO SUPERCRÍTICA**

Durante anos tem-se estudado a melhor maneira de se isolar substâncias a partir de produtos naturais. Uma das principais limitações relacionadas com o emprego dos produtos naturais na elaboração de fármacos é a alegada complexidade do processo de avaliação dos extratos destes produtos devido a presença de misturas de difícil caracterização. Entretanto, técnicas analíticas inovadoras e novos processos de extração vêm superando rapidamente essas limitações.

A extração supercrítica (ESC) começou a ser estudada durante a década de 50 por vários grupos de investigadores na antiga URSS, EUA e Alemanha. A primeira unidade industrial para extração supercrítica de uma matriz vegetal foi instalada na Alemanha na década de 60 para descafeinação de grão de café, utilizando dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) supercrítico como solvente. A partir de então, o significativo crescimento desta técnica de separação tem resultado na diversidade de aplicações industriais, desde a extração de princípios amargos e aromáticos do lúpulo e especiarias, até a remoção da nicotina do tabaco e obtenção de insumos farmacêuticos de plantas (BERNARDO-GIL et al, 2002).

São inúmeras as suas aplicações, como por exemplo (BERNARDO-GIL et al, 2002):

- Descafeinação de café, chá, cacau;
- Extração de aromas, antioxidantes;
- Desodorização de óleos e 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;
- Extração de produtos de elevado valor agregado de algas ou de sementes;
- Remoção de compostos poluentes de águas residuais;
- Regeneração de catalisadores e adsorventes.

A crescente preocupação dos consumidores com o uso de substâncias sintéticas na indústria de alimentos, as pesquisas na área de processamento de biomateriais e o controle à poluição adotado pelos governos e ambientalistas internacionais têm contribuído para o desenvolvimento de tecnologias limpas. A ESC é um processo livre de resíduos tóxicos, que previne a degradação térmica dos extratos quando utiliza baixas temperaturas, e não requer grandes gastos com energia (pressurização do solvente), como o gasto de energia dos processos de destilação (MAUL, 1999). Além disso, conserva as características organolépticas do produto (MENAKER et al, 2004). Outra vantagem da ESC é a possibilidade de fácil recuperação do solvente supercrítico após o processo de extração, apenas pelo ajuste de pressão e/ou temperatura, podendo o mesmo ser continuamente reciclado. Isto facilita uma das etapas mais dispendiosas dos processos de extração convencional, que é a separação entre produto extraído e solvente empregado.

Os métodos convencionais de extração, ou seja, métodos de extração a baixa pressão, como por exemplo a extração sólido-líquido (ESL) e a extração Soxhlet, mostram-se eficazes, mas apresentam desvantagens em relação à ESC devido ao grande volume de solvente orgânico utilizado, o tempo de processo e a contaminação do extrato por resíduos de solvente (MAUL, 1999). Dessa forma, a utilização de processos com fluidos supercríticos torna-se uma alternativa que visa resolver problemas como emissão de resíduos e a degradação dos produtos (SUTTER, 1994).

As vantagens da ESC não significam um domínio total desta tecnologia. Ainda existem deficiências que devem ser analisadas com o objetivo de aprimorar e otimizar os

processos. Uma barreira referente à implantação de uma unidade de extração supercrítica é o elevado investimento inicial, diretamente relacionado com a pressão de operação do sistema.

O contexto nacional ainda apresenta uma realidade diferente, em função da inexistência de unidades industriais que empregam a ESC. Porém, diferentes grupos de pesquisa estão estudando o processo a fim de adequar esta tecnologia às matérias-primas existentes no Brasil. Os aspectos estudados são de caráter teórico e experimental, tanto de termodinâmica quanto de transferência de massa, parâmetros essenciais para a otimização de processos.

### **3.5.1 Fluido supercrítico**

Fluidos supercríticos (FSC) são definidos como qualquer substância mantida acima da sua temperatura e pressão críticas. A temperatura crítica ( $T_c$ ) é a temperatura mais alta na qual o gás pode ser convertido em líquido pelo aumento da pressão. A pressão crítica ( $P_c$ ) é a pressão mais elevada na qual o líquido pode ser convertido em gás pelo aumento da temperatura. No estado supercrítico, acima da temperatura crítica ( $T_c$ ) e pressão crítica ( $P_c$ ), a distinção entre as fases líquida e gasosa desaparece, o fluido não pode ser liquefeito através do aumento da pressão e o gás não pode ser formado com o aumento da temperatura (BRUNNER, 1994).

As características do fluido supercrítico, como altas densidades (próximas às de líquidos), difusividades intermediárias entre gases e líquidos e baixas viscosidades (características dos gases) (SAUCEAU et al, 2004), permitem altas taxas de extração devido ao grande poder de solvatação do solvente e penetração na matriz sólida. Essas propriedades podem ser facilmente controladas alterando-se a pressão e/ou temperatura do sistema, podendo-se obter extratos com diferentes características, a partir de uma mesma matéria-prima, em relação a sua composição (BRUNNER, 1994).

A complexidade química das substâncias presentes em diversos produtos, como alimentos, leva à necessidade de se fazer uma seleção entre os solventes gasosos empregados nos processos de extração a alta pressão, de forma a garantir a segurança desses alimentos (atoxicidade do solvente) e a solubilização de produtos desejados em uma mistura (RIZVI et al, 1986).

O dióxido de carbono ( $CO_2$ ) é um solvente atrativo para aplicação em alimentos. Ele é completamente miscível com hidrocarbonetos de baixo peso molecular e compostos orgânicos oxigenados, tem alta volatilidade se comparado aos compostos orgânicos, facilitando a

recuperação do produto, tem boas propriedades de transporte, como baixa viscosidade e alto coeficiente de difusão, baixo gasto de energia para separação soluto-solvente, e suas propriedades de solvatação no estado supercrítico são melhores do que no estado líquido, solubilizando um maior número de compostos (FILIPPI, 1982). Ele é facilmente disponível em alta pureza, barato e apresenta temperatura e pressão críticas relativamente baixas ( $T_c = 31,1^\circ\text{C}$  e  $P_c = 73,8$  bar) (BRUNNER, 1994), se comparado à água ou a amônia, por exemplo.

### **3.6 MISTURA DE SOLVENTES - O EMPREGO DO CO-SOLVENTE**

A solubilidade do soluto no fluido supercrítico é função da densidade do solvente e da pressão de vapor do soluto (FERREIRA, 1991), além da natureza química dos compostos. Nas vizinhanças do ponto crítico, grandes mudanças de densidade podem ser produzidas por pequenas mudanças na pressão e temperatura de operação. Esta propriedade é mais sensível a temperaturas próximas à do ponto crítico do que em pressões elevadas (BRUNNER, 1994). A pressão de vapor é uma propriedade física dependente da temperatura, definida como a pressão exercida por um vapor quando está em equilíbrio com o líquido que lhe deu origem, a partir daí a quantidade de líquido vaporizado é igual à quantidade de vapor condensado (SMITH et al, 1996).

Numa isoterma, o aumento da pressão aumenta a densidade do solvente, diminuindo a distância intermolecular, aumentando assim a interação entre as moléculas de soluto e solvente. Já numa isóbara, o aumento da temperatura acarreta uma diminuição da densidade do solvente e aumento da pressão de vapor do soluto (FERREIRA, 1991). Os efeitos antagônicos destes parâmetros ocasionam uma inversão da curva de solubilidade, fenômeno conhecido como retrogradação ou condensação retrógrada, resultado da competição entre esses efeitos (densidade do solvente e pressão de vapor do soluto) e da predominância de um dos dois. Assim, abaixo da pressão de inversão das isotermas, o efeito da densidade do solvente é dominante, logo a solubilidade diminui com o aumento da temperatura. Acima da pressão de inversão, o efeito da pressão de vapor do soluto é dominante, assim a solubilidade aumenta com a temperatura (GÜÇLÜ-ÜSTUNDAG & TEMELLI; SAUCEAU et al; MICHIELIN et al; 2004, 2004, 2005). Em seu trabalho, MICHIELIN et al (2005) demonstraram que para a cavalinha (*Equisetum giganteum* L.), planta medicinal utilizada como adstringente, hemostática e diurética, a inversão das isotermas ocorreu entre 120 e 150 bar. Esse comportamento pode ser observado na Figura 5, onde QUISPE-CONDORI et al (2005) demonstram que o ponto de inversão das isotermas para a *Artemisia annua*, planta da

qual se extrai uma droga para tratamento da malária, ocorreu em torno de 240 bar. Em outro trabalho, CARVALHO Jr. et al (2005) mostraram que para o alecrim (*Rosmarinus officinalis*) a inversão das isotermas ocorreu em torno de 170 bar.

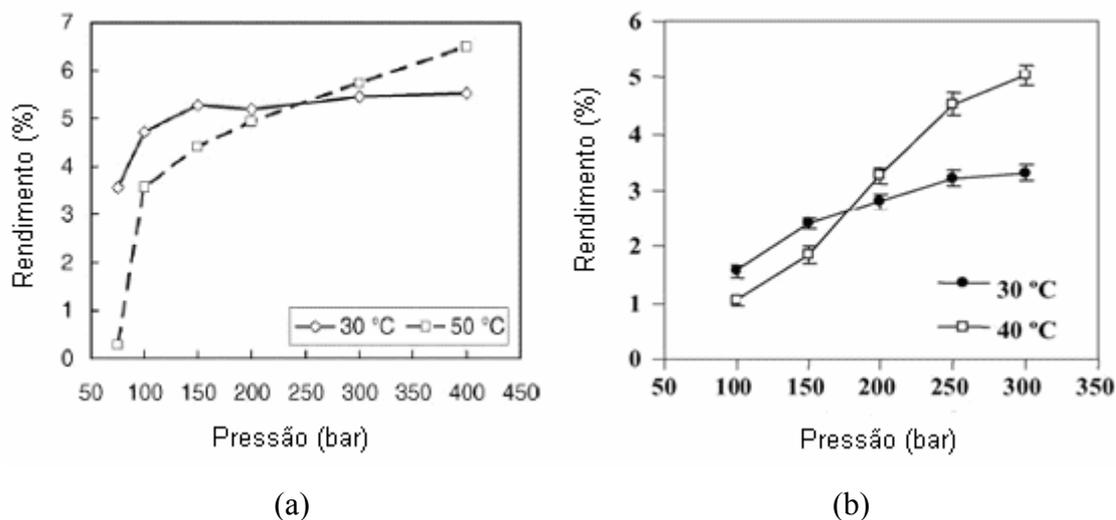


Figura 5: Inversão das isotermas para o extrato de *Artemisia annua* (a) e o extrato de alecrim (*Rosmarinus officinalis*) (b), respectivamente (QUISPE-CONDORI et al; CARVALHO Jr. et al, 2005, 2005).

Os óleos voláteis são extraídos com solventes apolares, como o dióxido de carbono, que, entretanto, extraem outros compostos lipofílicos, além dos óleos voláteis (SIMÕES & SPITZER, 2001). Para as substâncias de baixa volatilidade, sua solubilidade em gases supercríticos apolares diminui com o aumento da massa molecular e com o aumento da polaridade e número de grupos funcionais polares (BRUNNER, 1994). Nesse caso, a solubilidade dessas substâncias pode ser aumentada mediante a adição de um co-solvente, também chamado de coadjuvante, substância com volatilidade intermediária entre o soluto e o solvente, normalmente um solvente orgânico líquido, adicionado em baixas concentrações. Vários investigadores têm demonstrado que o aumento da solubilidade do soluto resulta principalmente de fortes interações entre o soluto e o co-solvente e a variação da densidade da fase fluida causada pela sua adição, por isso a importância de se selecionar um co-solvente apropriado para determinado soluto (SOVOVÁ et al, 1999).

O co-solvente é adicionado ao gás supercrítico com a intenção de se alcançar propriedades que os componentes puros não têm sozinhos, e permitir ao solvente alcançar os seguintes efeitos (BRUNNER, 1994):

- Aumento do poder de solvatação;
- Aumento da dependência do poder de solvatação do solvente com a temperatura e pressão.

Os co-solventes possuem propriedades físico-químicas diferentes e, dessa forma, podem quebrar as interações entre soluto-matriz sólida, por exemplo, forças de van der Waals e pontes de hidrogênio, facilitando o transporte do soluto dos poros intersticiais para a superfície da matriz (HOLLENDER et al; LUTERMANN et al; 1997, 1998).

As forças intermoleculares podem ser de dois tipos: interações dipolo-dipolo e forças de van der Waals. As interações dipolo-dipolo se dão entre moléculas polares e resultam da atração mútua entre a extremidade positiva de uma molécula e a extremidade negativa de outra molécula. Em consequência, as moléculas estão mais fortemente ligadas do que as moléculas não polares, e esta diferença se reflete nas propriedades físicas dos compostos. A ligação de hidrogênio é uma espécie forte de atração dipolo-dipolo, que influencia o ponto de ebulição e a solubilidade de compostos. Já as forças de van der Waals são interações entre moléculas apolares. Elas têm raio de ação curto, atuam apenas entre as superfícies das moléculas que estejam em contato e são, portanto, mais fracas do que as ligações do tipo dipolo-dipolo (MORRISON & BOYD, 1981).

Além do aumento no poder de dissolução do solvente supercrítico, a adição do co-solvente promove um aumento na seletividade devido à maior dependência do poder de dissolução com a temperatura e pressão (BRUNNER, 1994). É graças à seletividade que se pode extrair apenas as substâncias desejadas ou estas em maior quantidade. Como a seletividade está ligada à polaridade do solvente empregado e do soluto, o conhecimento do grau de polaridade do grupo de substâncias que se deseja extrair indica o solvente ou mistura de solvente mais adequados para determinada extração.

A polaridade está intimamente ligada às propriedades físicas e químicas das moléculas, exercendo influência sobre o ponto de fusão, o ponto de ebulição e a solubilidade das mesmas em determinado solvente (MORRISON & BOYD, 1981), e inclui a soma de todas as interações soluto-solvente, como as pontes de hidrogênio e forças de van der Waals (JEONG & CHESNEY, 1999). A polaridade de uma molécula depende da presença de um momento de dipolo elétrico ( $\mu$ ) permanente em sua estrutura, o qual se verifica quando o centro de carga ( $q$ ) positiva da molécula não coincide com o centro de carga ( $q$ ) negativa, e estão, portanto, separados por uma distância ( $r$ ). Assim definimos  $\mu = q.r$ , uma grandeza

vetorial que é descrita tanto por seu módulo como pela sua direção em unidades de debye (D). Moléculas que possuem  $\mu \neq 0$  são ditas “polares” e as que possuem  $\mu = 0$  são chamadas “não polares” ou “apolares” (BESSLER & NEDER, 2004).

Na escolha de um solvente, além dos fatores relacionados à eficiência do processo extrativo, devem ainda ser considerados a toxicidade e/ou os riscos que seu manuseio representa, a estabilidade das substâncias extraídas, a disponibilidade e o custo do solvente, suas propriedades físico-químicas (SAUCEAU et al, 2004).

Para investigar a influência do tipo de co-solvente no rendimento da extração e na qualidade do extrato, parâmetros como pressão, temperatura, vazão, devem ser mantidos constantes. Diferentes quantidades de co-solventes devem ser usadas para determinar o efeito da concentração na eficiência da extração (HOLLENDER et al, 1997).

A curva crítica de uma mistura de solventes, com respeito a composição, depende da proporção entre a pressão e a temperatura críticas dos componentes puros. Com o aumento da diferença no tamanho das moléculas, a pressão crítica da mistura aumenta e pode alcançar valores superiores às pressões críticas dos componentes puros. As temperaturas críticas de uma mistura binária frequentemente são intermediárias às temperaturas críticas dos componentes puros (BRUNNER, 1994). A adição de um co-solvente aumenta as propriedades críticas da mistura (TONTHUBTHIMTHONG et al, 2004).

A Tabela 1 apresenta as pressões e temperaturas críticas de alguns solventes.

Tabela 1: Propriedades críticas de solventes

| Solvente         | Pc (bar) | Tc (°C) |
|------------------|----------|---------|
| CO <sub>2</sub>  | 73,8     | 31,1    |
| Amônia           | 112,8    | 132,5   |
| Água             | 220,5    | 374,2   |
| Etanol           | 61,4     | 240,6   |
| Acetato de Etila | 38,3     | 250,1   |

(LILEY et al, 1997)

### **3.7 SOLUBILIDADE E SELETIVIDADE**

Os fatores determinantes da eficiência do processo de extração são o poder de solubilização e a seletividade do solvente com relação aos componentes de interesse, além da capacidade de difusão destes compostos no fluido supercrítico.

O conhecimento das propriedades termodinâmicas, como solubilidade e seletividade, além das propriedades de transporte, são fundamentais para o projeto e ampliação da escala de processos a alta pressão. A solubilidade é um parâmetro de grande relevância na determinação das condições de operação enquanto que a seletividade permite a obtenção de informações acerca da qualidade e composição dos extratos (FERREIRA et al, 1999).

A carência de dados de solubilidade de compostos em solventes pressurizados é um fator que limita a predição dos resultados da tecnologia de extração de óleos essenciais com fluidos supercríticos. Para sua determinação, devem ser considerados fatores como: pressão, temperatura, tamanho e funcionalidade do soluto, funcionalidade do solvente, pressão de vapor do soluto, interações moleculares existentes, quantidades envolvidas e a complexidade do sistema (BRUNNER, 1994).

Os óleos essenciais são misturas complexas de substâncias e diferentes valores de solubilidades podem ser obtidos, em mesma condição de operação, se a composição do óleo for diferente (FERREIRA, 1991). Esses óleos apresentam baixos valores de pressão de vapor, mas pequenas alterações nestes valores podem representar variações significativas na solubilidade do produto.

Os procedimentos utilizados para a determinação experimental da solubilidade são o método dinâmico e o método estático de extração. No método estático, soluto e solvente ficam em contato dentro de um sistema fechado até que as condições de equilíbrio físico-químico sejam alcançadas. Já no método dinâmico, o fluido supercrítico (CO<sub>2</sub>) passa continuamente através de um leito fixo onde se encontra o soluto. As curvas de extração obtidas (massa de óleo extraída *versus* a massa de solvente utilizado) apresentam uma etapa linear, onde a inclinação da reta indica o valor da solubilidade do óleo no solvente ( $Y^*$ ), que representa a concentração de óleo na fase solvente em equilíbrio com a concentração de óleo na fase sólida (BRUNNER, 1994).

A seletividade do solvente por determinados componentes na mistura (soluto) pode ser controlada mediante o ajuste das condições de temperatura e pressão do processo, dentro da região supercrítica. A definição das condições de extração indica o poder de solvatação do solvente. Assim, quanto maior o poder de solvatação, maior a solubilidade de um determinado composto, bem como o número de compostos solubilizáveis de uma mistura. Logo, alta solubilidade significa baixa seletividade e vice-versa (BRUNNER, 1994).

### 3.8 CURVAS DE EXTRAÇÃO

Uma curva de extração típica é constituída de três etapas (YODA; FERREIRA & MEIRELES; 2001, 2002), como apresentado na Figura 6:

- Etapa de taxa de extração constante (CER) – predomínio da transferência de massa devido à convecção na fase fluida;
- Etapa de taxa de extração decrescente (FER) – efeitos convectivos na fase fluida e difusionais na fase sólida determinam a velocidade do processo;
- Etapa de taxa de extração quase nula – predomínio do efeito difusional.



Figura 6: Curva típica de extração (BRUNNER, 1994), com duas retas ajustadas.

A parte inicial da curva representa uma reta que indica uma taxa de extração de óleo constante. Nesta etapa, as partículas da matriz sólida se encontram completamente envoltas por uma camada superficial de óleo, devido à ruptura das paredes celulares com a trituração, fazendo com que a extração seja caracterizada pela transferência de massa por convecção entre a superfície do sólido e o solvente.

Após a etapa de taxa constante de extração segue-se uma etapa de transição, durante a qual a taxa de extração cai rapidamente, provavelmente causada pela exaustão da camada contínua de óleo na superfície das partículas, que começa a apresentar falhas. A partir daí, o processo difusional começa a controlar a transferência de massa, pois o solvente encontra espaços livres para penetração na matriz sólida, solubilização do soluto, e posterior difusão da mistura óleo-solvente para a superfície da partícula.

A última etapa é a de taxa quase nula de extração. Nesta etapa a inclinação da curva diminui e o traçado se aproxima assintoticamente do valor que representa o conteúdo teórico de óleo extraível (FERREIRA, 1991).

### **3.9 MODELAGEM MATEMÁTICA**

O processo de extração depende das condições de operação como temperatura, pressão, vazão de solvente, morfologia do material, tratamento prévio da matriz sólida porosa e das propriedades físicas do leito fixo como a porosidade, distribuição e tamanho de partícula, conteúdo inicial de soluto na matriz sólida e altura do leito fixo (CORRÊA et al, 2001).

A otimização dos processos de extração supercrítica necessita do conhecimento de propriedades termodinâmicas (solubilidade e seletividade) e propriedades cinéticas (taxa com que o soluto é transferido para a fase supercrítica), para fazer possível a predição da viabilidade de processos de ESC em escala industrial (REVERCHON & MARRONE; MARTINEZ et al; 1997, 2003). A análise de uma curva de extração para um determinado processo pode ajudar a definir o volume do extrator, a vazão requerida de solvente para a taxa de extração desejada, a duração da extração para determinada condição de operação, entre outros (MARTINEZ, 2002).

Dentre os inúmeros modelos de transferência de massa empregados para modelagem de curvas de extração de óleo voláteis com CO<sub>2</sub> supercrítico, foram selecionados três modelos: o modelo de Difusão de CRANK (1975), que faz analogia à transferência de calor, e dois modelos baseados no balanço de massa diferencial: o modelo de SOVOVÁ (1994) e o modelo Logístico de MARTINEZ et al (2003).

- ***Modelo de CRANK (1975)***

O modelo de difusão de CRANK (1975), apresentado por REVERCHON (1997), considera a transferência de massa como uma analogia à transferência de calor, onde cada partícula sólida é como um corpo quente que perde calor para o meio com o tempo, e as substâncias a serem extraídas encontram-se uniformemente distribuídas na partícula sólida. Neste caso, a partícula sólida esférica é o sólido que contém o óleo a ser extraído e o meio é o solvente supercrítico (REVERCHON; MARTÍNEZ; 1997, 2002;).

A seguinte equação representa a massa de uma substância que se difunde através de uma partícula. As demais equações são encontradas no Apêndice I.

$$m_{ext} = m_0 \left[ 1 - \frac{6}{\pi^2} \sum_{n=1}^{\infty} \frac{1}{n^2} \exp\left(\frac{-n^2 \pi^2 D t}{r^2}\right) \right] \quad \text{Eq. 3.1}$$

onde:  $n$  é um número inteiro,  $r$  é o raio da esfera (m),  $D$  é o coeficiente de difusão do soluto na esfera ( $\text{m}^2\text{s}^{-1}$ ),  $t$  é o tempo de extração (s). 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.

REVERCHON et al (1993) aplicou esse modelo para descrever as curvas de rendimento dos óleos essenciais obtidos por ESC de várias matrizes vegetais.

- **Modelo de SOVOVÁ (1994)**

O modelo de SOVOVÁ (1994) considera um estado pseudo-estacionário, onde a temperatura, a pressão e a velocidade do solvente são mantidas constantes durante toda a extração. O leito é homogêneo com respeito ao soluto e distribuição de tamanho de partículas (RODRIGUES et al, 2003). Baseia-se em balanço de massa e considera o escoamento axial do solvente com velocidade superficial  $U$  através de um leito fixo de seção transversal cilíndrica.

Segundo SOVOVÁ (1994), o soluto está contido no interior das células nas plantas. O pré-tratamento do material, como uma trituração, aumenta a superfície de contato entre o sólido e o solvente. No entanto, 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.

As seguintes equações descrevem as três etapas do processo. As demais equações encontram-se no Apêndice I.

- Período de taxa constante de extração (CER):  $t < t_{\text{CER}}$

$$m_{ext} = Y * [1 - \exp(-Z)] Q_{CO_2} t \quad \text{Eq. 3.2}$$

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

$$m_{ext} = Y^* [t - t_{CER} \exp(z_w - Z)] Q_{CO_2} \quad \text{Eq. 3.3}$$

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

$$m_{ext} = N \left\langle x_0 - \frac{Y^*}{W} \ln \left\{ 1 + \left[ \exp\left(\frac{Wx_0}{Y^*}\right) - 1 \right] \exp\left[\left(\frac{WQ_{CO_2}}{N}\right)(t_{CER} - t)\right] \frac{x_k}{x_0} \right\} \right\rangle \quad \text{Eq. 3.4}$$

onde:  $m_{ext}$  é a massa de extrato (g),  $t_{CER}$  é a duração da etapa de extração constante (s),  $N$  é a massa de matéria-prima livre de soluto (g),  $Y^*$  é a solubilidade (g/g),  $Q_{CO_2}$  é a vazão média do solvente (kg/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 e  $W$  é um parâmetro para o período de taxa de extração lenta.

- **Modelo de MARTINEZ et al (2003)**

É uma modificação do modelo de FRANÇA et al (2000). Para o balanço de massa no leito de extração, considera-se um leito cilíndrico com comprimento  $H$  muito maior que o diâmetro, no qual o solvente escoar na direção axial com velocidade  $U$ . Considera-se que a matéria-prima tem porosidade  $\varepsilon$  uniforme em toda extensão do leito.

O modelo Logístico (LM) de MARTINEZ et al (2003) foi elaborado tendo em vista o extrato como uma mistura de compostos ou grupos de compostos com estrutura química similar. No entanto, o mesmo pode ser aplicado a quaisquer dados experimentais, considerando o óleo como um único pseudocomponente. Os autores aplicaram o modelo considerando o soluto como um único componente e também como uma mistura complexa de compostos. Neste caso, a melhor correlação entre as curvas experimentais e as modeladas foi obtida utilizando o modelo LM considerando o soluto como um único pseudocomponente.

Quando o soluto é considerado como um pseudocomponente, a massa de soluto pode ser descrita como:

$$m_{ext}(h = H, t) = \frac{m_0}{\exp(bt_m)} \left\{ \frac{1 + \exp(bt_m)}{1 + \exp[b(t_m - t)]} - 1 \right\} \quad \text{Eq. 3.6}$$

Sendo:  $m_0 = x_0 m_t$

onde:  $m_{\text{ext}}$  é a massa de óleo extraída (g),  $m_0$  é massa inicial total de óleo (soluto) no leito de extração (g),  $t$  é o tempo de extração (s),  $b$  e  $t_m$  são parâmetros ajustáveis do modelo, expressos em ( $s^{-1}$ ) e (s), respectivamente. O parâmetro  $t_m$  corresponde ao instante em que a taxa de extração de cada grupo de compostos ou um único pseudocomposto alcançou um máximo (MARTÍNEZ et al, 2003). As demais equações encontram-se no Apêndice I.

#### 4. MATERIAIS E MÉTODOS

Este capítulo apresenta os materiais e métodos utilizados na obtenção do óleo essencial de hortelã (*Mentha spicata* L). Os ensaios realizados foram divididos em:

- Caracterização da matéria-prima;
- Testes preliminares, para definição das condições de processo;
- Determinação de rendimentos de extrações a alta pressão ( $X_0$ ), em função de T e P;
- Determinação de rendimentos de extrações a baixa pressão, e sua influência na seleção dos co-solventes para aplicação na ESC;
- Adição de co-solventes em diferentes concentrações na ESC;
- Determinação da composição química dos extratos e sua atividade antioxidante;
- Obtenção do ponto de inversão das isotermas nas ESC com e sem co-solvente e sua relação com a composição dos extratos;
- Obtenção de curvas de extração e determinação da solubilidade experimental para modelagem matemática.

##### 4.1. PREPARAÇÃO DA MATÉRIA-PRIMA

As substâncias presentes na matriz sólida podem estar adsorvidas no material inerte, dentro dos poros ou nas células da matéria-prima. Cada uma destas diferentes distribuições tem influência sobre o curso da extração. Além disso, o material sólido pode consistir de partículas de diferentes tamanhos e formas, constituindo uma matéria-prima heterogênea (BRUNNER, 1994).

Para reduzir a resistência à transferência de massa no interior das partículas sólidas e aumentar o rendimento e taxa de extração, usa-se reduzir o tamanho das partículas para aumentar a área de contato sólido/solvente e diminuir a distância que o soluto deve percorrer no interior da partícula porosa (BRUNNER, 1994).

A matéria-prima utilizada nos experimentos (*Mentha spicata* L) foi obtida da empresa Quimer Ervas e Especiarias, São Paulo, SP, desidratada e floculada, como apresentado na Figura 7.

Com o objetivo de aumentar a exposição do soluto ao solvente, a matéria-prima foi triturada por cerca de 1 minuto, em liquidificador doméstico (Walita, São Paulo, SP), selecionada em frações de diferentes tamanhos com o auxílio de peneiras (Bertel Indústria Metalúrgica Ltda., Caieiras, SP) e armazenada em freezer doméstico (Brastemp) a  $-18^{\circ}\text{C}$  até a

sua utilização. As frações de hortelã utilizadas nas extrações supercrítica e convencional foram as de mesh -48/+80, que permitiram melhor formação e reprodução do empacotamento do leito.



Figura 7: Hortelã (*Mentha spicata* L.) floculada, desidratada e moída

#### **4.2 TESTES PRELIMINARES**

Os testes preliminares representam um conjunto de experimentos que foram realizados para definição dos seguintes parâmetros de processo:

- Granulometria das partículas;
- Vazão de solvente;
- Tempo de extração com CO<sub>2</sub> puro e com co-solvente;
- Massa de matéria-prima para formação do leito;
- Faixa de T e P para ESC com CO<sub>2</sub>.

Para avaliação da granulometria que apresentasse maior rendimento e permitisse a reprodutibilidade do empacotamento do leito, foram realizadas três extrações na condição de 200 bar e 40°C, variando-se apenas o tamanho de partícula.

Devido às limitações dos equipamentos e a dificuldade de controle da vazão, foram realizados dois experimentos no equipamento 2 na condição de 200 bar e 30°C e vazões de 5g/min e 8g/min.

Para definição do tempo de extração e massa de sólidos, foram obtidas duas curvas de extração na condição de 100 bar e 30°C e vazão de 5 g/min, variando-se apenas o tempo de

extração e a massa de matéria-prima utilizada para formar o leite, conforme apresentado na Figura 8.

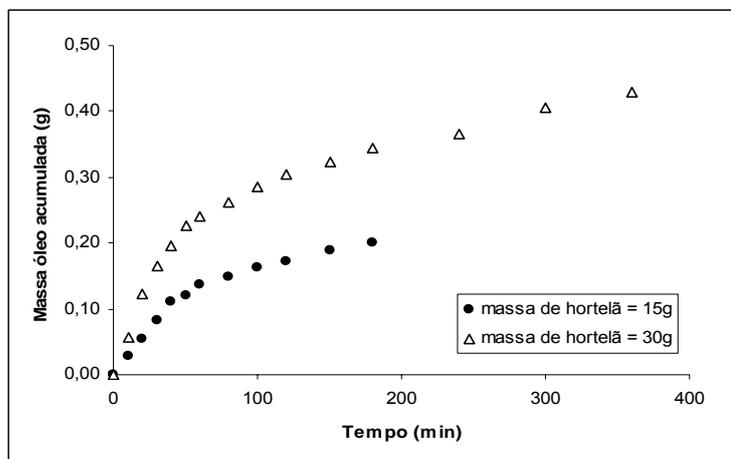


Figura 8: Curvas de extração de óleo de hortelã a 100 bar e 30°C e vazão de 5g/min

As temperaturas de 30, 40 e 50°C e pressões de 100 a 300 bar foram definidas como as condições de operação para extração do óleo de hortelã, pois permitem uma grande variação na densidade do solvente (de 392 a 949 Kg/m<sup>3</sup>) e conseqüentemente no poder de solvatação do CO<sub>2</sub>, tornando possível a extração de compostos variados sob diferentes condições (WONG et al, 2001).

### **4.3 CARACTERIZAÇÃO DA MATÉRIA-PRIMA E DO LEITO DE PARTÍCULAS**

A caracterização do leite de partículas representa a determinação das características físicas das partículas e do leite de sólidos, como a densidade do sólido e a porosidade do leite, necessárias para a avaliação das propriedades de transporte, utilizadas na modelagem matemática das curvas de extração.

#### **4.3.1 Teor de umidade da matéria-prima**

Para determinação do teor de umidade da hortelã foi utilizado o método de Perda por Dessecação (FARMACOPÉIA BRASILEIRA, 1988). Cinco gramas (5g) de amostra foram pesados 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 foi repetida até peso constante da amostra.

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

$$\frac{100xN}{P} = \text{umidade \% (p/p)} \quad \text{Eq. 4.1}$$

onde  $N$  é a perda de peso em g e  $P$  é o peso da amostra em g.

O teor de umidade foi determinado porque o excesso de umidade em matérias-primas vegetais permite a ação de enzimas, que podem degradar constituintes químicos e permitir o desenvolvimento de fungos e bactérias. O teor de umidade estabelecido para matrizes vegetais nas diferentes farmacopéias varia entre 8 e 14% (FARIAS, 2001).

#### **4.3.2 Diâmetro médio de partículas**

Uma amostra de hortelã seca e moída, preparada conforme item 4.2, foi submetida à análise de microscopia eletrônica de varredura (MEV), para determinação do diâmetro médio de partículas. A análise foi realizada no Laboratório de Materiais do Departamento de Engenharia Mecânica da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), utilizando um microscópio eletrônico de varredura (PHILIPS, modelo XL 30).

Para essa análise deposita-se a amostra em um suporte e recobre-se a mesma com ouro em uma célula de vácuo. A amostra é então colocada no microscópio onde sofre a incidência de um feixe de elétrons de intensidade variada que permite a micrografia da superfície da amostra, e esta possibilita a detecção das dimensões das partículas presentes na amostra.

Como as partículas assemelham-se a paralelepípedos, os valores médios de altura, comprimento e espessura, que representam as dimensões das partículas, permitiram o cálculo da área do paralelepípedo correspondente através da equação:

$$\text{Área do paralelepípedo} = 2(ab + ac + bc) \quad \text{Eq. 4.2}$$

onde:  $a$  é o comprimento (mm),  $b$  a altura (mm) e  $c$  a espessura (mm) (valores médios das dimensões das partículas).

Assim, para a determinação do diâmetro de uma esfera equivalente, igualou-se a área do paralelepípedo à área de uma esfera (Eq.4.3), obtendo-se o diâmetro médio das partículas.

$$\text{Área da esfera} = \pi D^2 \quad \text{Eq. 4.3}$$

onde:  $D$  é o diâmetro médio das partículas (mm).

#### **4.3.3 Densidade real da hortelã e densidade aparente do leito**

A densidade real ( $d_r$ ) da hortelã seca e moída foi determinada pelo Laboratório de Materiais Particulados da Universidade Federal de São Carlos – UFSCar (São Carlos, SP) utilizando-se a técnica de picnometria com gás Hélio, através do equipamento Ultracycrometer 1000 da Quantachrome. Essa técnica é precisa, pois o gás hélio é capaz de penetrar nos poros devido à sua baixa tensão superficial, sem alterar as características das partículas.

A densidade aparente ( $d_a$ ) do leito de partículas foi calculada através da massa de hortelã utilizada para formar o leito de sólidos (g) em relação ao volume da célula extratora ( $\text{cm}^3$ ).

$$d_a = \frac{\text{massa de hortelã}}{\text{volume do leito}} \quad \text{Eq. 4.4}$$

#### **4.3.4 Porosidade do leito de partículas**

A porosidade total do leito ( $\varepsilon$ ) foi calculada usando-se a densidade real das partículas e a densidade aparente do leito, calculada conforme a equação 4.4. A porosidade é um parâmetro importante, pois influencia os mecanismos de transferência de massa do processo de extração.

$$\varepsilon = 1 - \frac{d_a}{d_r} \quad \text{Eq. 4.5}$$

#### **4.3.5 Densidade do solvente**

A densidade do dióxido de carbono supercrítico (CO<sub>2</sub>) foi determinada segundo a equação de ANGUS et al (1976), baseada em dados experimentais. Estes valores são utilizados na avaliação da influência da temperatura e da pressão sobre a densidade do solvente e na aplicação do modelo de transferência de massa descrito por SOVOVÁ (1994).

### **4.4 UNIDADES DE EXTRAÇÃO**

Os procedimentos de extração supercrítica e extração convencional (extração a baixa pressão) foram realizados no Laboratório de Termodinâmica e Extração Supercrítica (LATESC) da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC).

Para obtenção do óleo de hortelã foram utilizadas duas unidades de extração supercrítica (equipamento 1 e equipamento 2), operando em modo dinâmico de extração e com leito fixo de partículas.

Os dados de solubilidade e extrações com co-solvente foram coletados na unidade de extração supercrítica 1, que opera com pressão máxima de 230 bar e vazões na ordem de 0,5g/min a 5g/min.

Os valores de rendimento global do óleo de hortelã ( $X_0$ ) e a obtenção das curvas de extração são resultados de ensaios realizados no equipamento 2, que opera com pressões de até 350 bar e altas vazões de solvente, entre 1,6g/min e 41,6g/min.

A seguir é apresentada a descrição detalhada das unidades de extração a alta pressão utilizadas nesse estudo e disponíveis no LATESC.

#### **4.4.1 Unidade de extração supercrítica 1**

O equipamento é constituído por um cilindro de CO<sub>2</sub> com 99,9% de pureza, fornecido pela White Martins Ltda., equipado com tubo pescador, que alimenta um tanque pulmão de aço inox de 200 cm<sup>3</sup> (Suprilab, Campinas, SP), onde é conectada uma válvula de três vias (VTV) (Hoke, modelo 7165G4Y, Cresskill, NJ, EUA) com dispositivo de segurança. Este tanque é constituído de uma camisa de PVC, mantido sob resfriamento através de um banho termostático (Microquímica, modelo MQBTZ99-20, Florianópolis, SC), numa temperatura que garanta o estado líquido do solvente antes do seu bombeamento. O pulmão possui também um manômetro para controle da pressão (IOPE, 01221-40-2, São Paulo, SP). Através

de uma válvula globo (VG) (Whitey, modelo SS-43S4, Sólon, OH, EUA) o solvente passa pela bomba (Constametric/Thermo Separation Products, modelo 3200 P/F, Fremont, CA, EUA), que opera no modo de pressão constante, com uma vazão adequada, normalmente entre 1 e 6 ml/min. A temperatura de operação no extrator é mantida constante através de um banho termostático (Microquímica, modelo MQBTZ99-20, Florianópolis, SC), que permite a circulação da água na camisa do extrator. 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 onde é formado o leito fixo de partículas é constituído de um cilindro de aço inoxidável (Suprilab, Campinas, SP), encamisado, com 40 cm de comprimento, 2,1 cm de diâmetro interno, volume de 138,5 cm<sup>3</sup> e extremidades rosqueadas que permitem a adaptação de duas telas de aço inox internas, de mesh 200, para impedir a passagem de sólidos para a linha. Na saída do extrator é conectada uma válvula micrométrica (VM) (Modelo Swagelok, SS-31RS4, Sólon, OH, EUA), onde ocorre a depressurização da mistura soluto/solvente e a sua separação. Uma fita de aquecimento (Fisatom, modelo 5, São Paulo, SP) com temperatura controlada por um potenciômetro (Quimis Aparelhos Científicos Ltda, modelo Q-323.2, Diadema, SP) é colocada ao redor da válvula micrométrica (VM) a fim de evitar o congelamento da mesma, devido à redução da pressão (mudança de estado físico do solvente de fluido supercrítico para vapor). O extrato é coletado em frascos de vidro cor âmbar, conectados a um bolhômetro (LATESC, UFSC), onde se realizam as medidas de vazão de solvente, mediante o deslocamento de coluna de líquido. As amostras dos extratos são pesadas em balança analítica (OHAUS, modelo AS200, EUA).

Na Figura 9 é apresentado o esquema do equipamento 1, utilizado no processo de extração do óleo de hortelã com CO<sub>2</sub> supercrítico. A foto do equipamento encontra-se no Apêndice II.

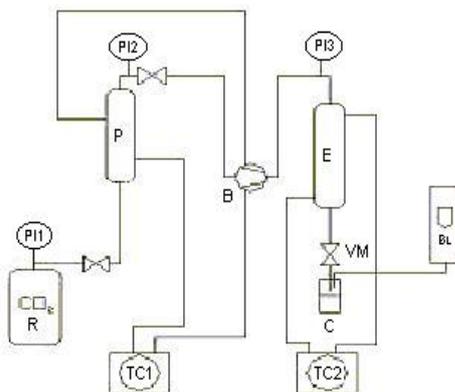


Figura 9: Esquema do equipamento de extração a alta pressão 1, disponível no LATESC.

onde:

R – Reservatório de CO<sub>2</sub>

P – Tanque pulmão

B – Bomba

E – Extrator

C – Frasco coletor

VM – Válvula micrométrica

BL – Bolhometro

TC1 – Banho termostático 1

TC2 – Banho termostático 2

PI1 – Manômetro do cilindro de CO<sub>2</sub>

PI2 – Manômetro do tanque pulmão

PI3 – Manômetro do extrator

#### **4.4.2 Unidade de extração supercrítica 2**

A unidade de extração 2 constitui-se de um cilindro de CO<sub>2</sub> com 99,9% de pureza, fornecido pela White Martins Ltda., equipado com tubo pescador, que alimenta a linha de extração. Esta 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 entre na bomba (Maximator M111 CO<sub>2</sub>) no estado líquido. Essa bomba trabalha suprida por uma linha de ar comprimido e filtrado. A pressão de operação 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, e dimensões de 33,5 cm de comprimento, 2,0 cm de diâmetro interno e volume interno de 100 cm<sup>3</sup>. 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 V4 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 CO<sub>2</sub> é regulado. Após passar pela V4, o extrato é coletado em frascos âmbar, onde também é conectado um rotâmetro (ABB Automation Products 10 A 61) para medição do fluxo de CO<sub>2</sub>.

Essa unidade de ESC foi desenvolvida e construída na Technische Universität Hamburg-Harburg (TUHH), no Laboratório Thermische Verfahrenstechnik, Alemanha.

O esquema da unidade de extração supercrítica 2 é mostrado na Figura 10. A foto do equipamento encontra-se no Apêndice II.

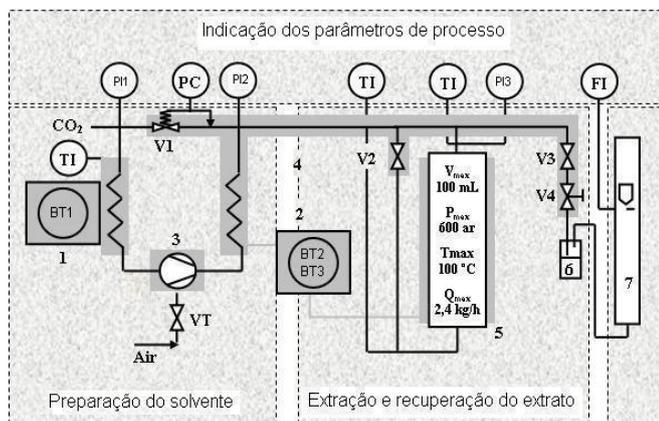


Figura 10: Esquema da unidade de extração supercrítica 2, disponível no LATESC.

onde:

1 - Banho Termostático

2 - Unidade de aquecimento

3 – Bomba de CO<sub>2</sub>

4 – Banho Termostático

5 – Extrator

6 – Frasco coletor

7 – Medidor de fluxo (kg CO<sub>2</sub>/h)

VT – Válvula de controle da frequência da bomba

V1 – Válvula reguladora de pressão

V2 – Válvula da entrada do extrator (Autoclave Valve 10V2071 Maximator Cat N<sup>o</sup> 3710.0104)

V3 – Válvula da saída do extrator (Sitec Shutoff valve 710.3010)

V4 – Válvula micrométrica (controla a velocidade de escoamento) (Sitec Microvalve 710.3012)

PI1 – Manômetro do cilindro (WIKA do Brasil, PI: Cat 233.50.10)

PI2 – Manômetro da bomba (WIKA do Brasil, PI: Cat 233.50.10)

PI3 – Manômetro do extrator (WIKA do Brasil, PI: Cat 233.50.10)

TI – Controladores de temperatura

#### **4.5 RENDIMENTO TOTAL DE ÓLEO ( $X_0$ )**

O rendimento global de extração ( $X_0$ ) indica a quantidade de óleo presente na matriz sólida, possível de ser extraída pelo solvente supercrítico nas condições estabelecidas de temperatura e pressão. Para que os valores de  $X_0$  sejam válidos e reprodutíveis é necessário o estabelecimento de metodologia padrão para execução dos experimentos. Desta forma, os testes preliminares realizados permitiram a determinação dos níveis das variáveis de processo (temperatura, pressão, vazão de solvente, tempo de extração, massa de hortelã utilizada para formar o leito de sólidos e a granulometria das partículas), como descrito anteriormente.

O rendimento global de óleo de hortelã no solvente supercrítico foi obtido para as várias condições de processo estudadas, e determinado através do cálculo do rendimento total da extração em relação à massa inicial de sólidos utilizada na formação do leito fixo de partículas. As extrações foram realizadas em duplicata para verificação da reprodutibilidade dos resultados e o valor final de  $X_0$  foi obtido com a média dos valores experimentais obtidos para cada condição de extração.

As temperaturas de operação foram de 30, 40 e 50°C e pressões variando de 100 a 300 bar. A vazão de solvente foi de 5,0 g/min, o tempo total das extrações foi fixado em 3 horas e a massa de sólido utilizada foi de 15 g. A importância deste parâmetro baseia-se nas considerações estabelecidas por SOVOVÁ (1994), na avaliação do processo de transferência de massa em sistemas com FSC. A razão mássica inicial de soluto na fase sólida ( $x_0$ ) é dada pela relação entre O (teor de óleo no sólido) e N (massa de inerte), através da equação:

$$x_0 = \frac{O}{N} \quad \text{Eq. 4.6}$$

onde considera-se que a massa acumulada de óleo ao final da extração, utilizada no cálculo de  $X_0$  (rendimento global), representa 90% do total de óleo disponível e O representa 100%.

#### **4.6 CURVAS DE EXTRAÇÃO**

As curvas de extração para modelagem matemática foram obtidas nas condições de 100bar/30°C, 100bar/50°C, 200bar/30°C, 200bar/50°C, 300bar/30°C e 300bar/40°C, e tempo de extração de 3 horas. Os extratos foram coletados a cada 10 minutos na primeira hora, a cada 20 minutos na segunda hora e a cada 30 minutos na terceira e última hora, em frascos cor

âmbar, e pesados em balança analítica (OHAUS, modelo AS200, EUA). As curvas de extração do tipo massa acumulada de óleo (g) *versus* tempo de extração (minutos) foram construídas para todas as condições selecionadas.

Essas curvas de extração foram modeladas utilizando-se os modelos seguintes, descritos na revisão bibliográfica (item 3.9): o Modelo de Difusão, apresentado por REVERCHON (1997); o Modelo de Sovová, proposto por SOVOVÁ (1994) e o Modelo Logístico (LM), apresentado por MARTÍNEZ et al (2003).

#### **4.7 EXTRAÇÕES CONVENCIONAIS**

As extrações convencionais ou extrações a baixa pressão, foram realizadas no Laboratório de Termodinâmica e Extração Supercrítica (LATESC), localizado no Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos da Universidade Federal de Santa Catarina.

As técnicas convencionais de extração do óleo de hortelã avaliadas neste trabalho foram a hidrodestilação e a extração Soxhlet com diferentes solventes orgânicos, com o objetivo de se comparar rendimento de processo, composição e atividade antioxidante dos extratos em relação à técnica de extração supercrítica.

O resultado (rendimento) das extrações convencionais servem de subsídio para a definição dos co-solventes a serem utilizados na extração supercrítica, visto que se utilizam diferentes solventes orgânicos com diferentes polaridades, que afetarão a solubilidade e seletividade do processo de extração a alta pressão.

##### **4.7.1 Hidrodestilação**

A hidrodestilação é um tipo de extração a baixa pressão que se divide em duas técnicas: o arraste a vapor e a coação (recirculação de águas condensadas). De modo geral, o método mais usado é o de arraste a vapor, que requer maior número de etapas de manipulação por parte do operador, em função da coleta do óleo ser feita continuamente, pois na maioria das vezes, o processo de extração é conduzido em sistemas de operação em circuito aberto. A fim de reduzir as etapas de manipulação e minimizar os erros de operação, foi desenvolvido um modelo de extrator que funciona em circuito fechado, o sistema de Clevenger, que opera por hidrodestilação, através do método de coação. Os extratores que operam em circuito fechado apresentam perda mínima de voláteis (SANTOS et al, 2004).

Na destilação tipo Clevenger a matriz a tratar é imersa em água. O aquecimento até fervura provoca a formação de vapor que arrasta os compostos mais voláteis. Após condensação, estes compostos separam-se da água por decantação. Na destilação o material é sujeito a temperaturas próximas de 100°C, o que poderá levar à decomposição dos constituintes termolábeis (SANTOS et al, 2004).

O equipamento é constituído de um extrator, composto por um tubo de transferência de vapor, um condensador, um tubo separador com escala volumétrica e um tubo de retorno e saída de óleo. O sistema completa-se com o balão volumétrico de fundo redondo, o sistema de refrigeração, que pode funcionar com água corrente à temperatura ambiente ou através de refrigerador com circulação de água; e a manta aquecedora (SANTOS et al, 2004). A Figura 11 mostra uma foto do equipamento utilizado.

Trinta gramas (30 g) de matéria-prima seca, preparada conforme descrito no item 4.2, foram inseridas num balão volumétrico com 500 mL de água destilada. Em seguida, o balão foi adaptado ao extrator e levado à manta aquecedora. Ao condensador foi conectado o sistema de refrigeração. Em seguida, foi ligada a manta aquecedora, regulada à temperatura de ebulição da água. Quando a mistura de água e hortelã entra em ebulição, os vapores de água e os voláteis são conduzidos em direção ao condensador, onde é realizada a troca de calor, condensando os vapores com a água de refrigeração. Nessa etapa, podem ser visualizadas, no tubo separador do extrator, as formas líquidas do óleo essencial e da água, com esta retornando para o balão através do tubo de retorno e o óleo essencial se alojando no tubo separador. Esse ciclo se repete continuamente até que a operação atinja o tempo de 240 minutos (SANTOS et al, 2004). O óleo foi coletado do tubo separador, em frasco âmbar, e pesado em balança analítica (OHAUS, modelo AS200, EUA).



Figura 11: Esquema do equipamento de hidrodestilação utilizado na extração de óleo de hortelã

#### 4.7.2 Extração Soxhlet

Para essa extração foram selecionados os solventes orgânicos n-hexano, diclorometano, butanol, acetato de etila e etanol, com valores de polaridade crescente de 0,0<3,4<3,9<4,3<5,2, respectivamente (PHENOMENEX. Acesso em 15/06/05).

Cinco gramas (5g) de amostra totalmente envolta em papel filtro (cartucho para extração) são colocadas no aparelho Soxhlet, que consiste de um tubo extrator, balão de vidro de fundo redondo e um condensador, como mostrado na Figura 12. O tubo extrator é conectado ao balão de vidro, que contém o solvente (150ml) selecionado. O balão é aquecido através de uma manta de aquecimento, o solvente evapora e sobe pelo braço do tubo extrator, condensando no condensador e gotejando sobre o cartucho de papel de filtro. O solvente evapora novamente, deixando a substância dissolvida no balão. O processo se repete até que todo o material (soluto presente na matéria-prima) tenha sido extraído (FALKENBERG et al, 2001). O tempo total de cada extração foi de 6 horas. O óleo coletado foi pesado em balança analítica (OHAUS, modelo AS200, EUA).

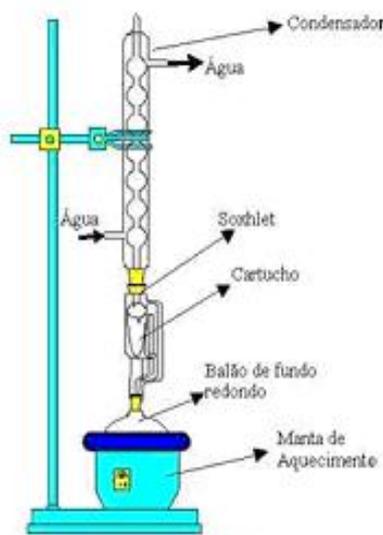


Figura 12: Esquema do equipamento Soxhlet utilizado na extração de óleo de hortelã

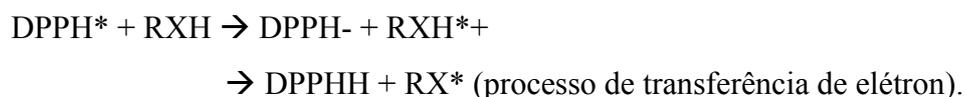
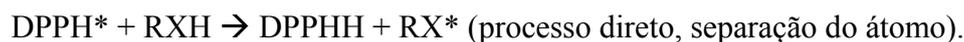
#### 4.8 DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

A atividade antioxidante dos extratos de hortelã, obtidos por ESC com e sem co-solvente, hidrodestilação e extração Soxhlet, foi determinada no Laboratório de Termodinâmica e Extração Supercrítica, no Departamento de Engenharia Química e

Engenharia de Alimentos da UFSC, através do método do DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil). Este é um método de neutralização por doação de elétrons. Outros métodos para determinação de atividade antioxidante são: Folin-Denis, Folin-Ciocalteu, para determinação de fenólicos totais, e testes com os radicais hidroxil ( $\text{OH}^\cdot$ ), superóxido ( $\text{O}_2^\cdot$ ), ácido 3-etil-benzotiazolino-6-sulfônico ( $\text{ABTS}^{\cdot+}$ ).

#### **4.8.1 Método do DPPH**

O radical DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil) é considerado um radical estável e 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. Este processo pode se dar de duas maneiras: processo direto ou processo de transferência de elétron:



No processo direto o antioxidante (RXH) doa um hidrogênio para o radical  $\text{DPPH}^*$  tornando-o estável. O radical  $\text{RX}^*$  é relativamente estável e não reage com lipídeos. No processo de transferência de elétron primeiramente um elétron é cedido para o radical  $\text{DPPH}^*$  pela molécula do antioxidante e em seguida é cedido o hidrogênio estabilizando o radical DPPH e formando o radical estável  $\text{RX}^*$ .

A técnica da determinação da atividade antioxidante pelo método do radical DPPH constitui na incubação por 30 minutos do composto em análise (extrato de hortelã) em uma solução etanólica de DPPH (0,003 g), com posterior leitura da absorbância em 517 nm. A solução estoque da amostra (1,0 mg/ml) é diluída em etanol nas concentrações de 250, 125, 50, 25, 10 e 5  $\mu\text{g/ml}$  (MENSOR et al., 2001). Para leitura das absorbâncias, utilizou-se o espectrofotômetro da marca Spectrofotometro Spectronic Unicam (modelo Genesys 10 VIS, Rochester, NY, USA), disponível no EQA – CTC - UFSC. O esquema do processo para a determinação da atividade antioxidante dos extratos de hortelã é apresentado na Figura 13.

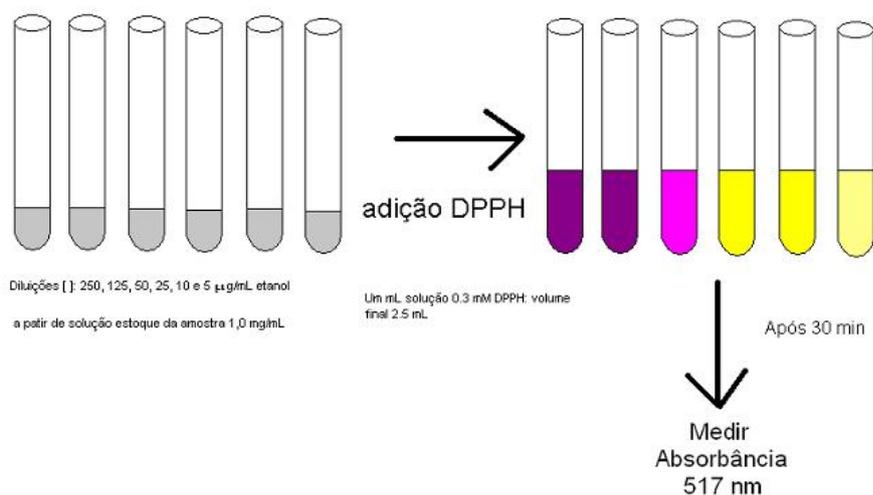


Figura 13: Esquema do processo para a determinação da atividade antioxidante do óleo de hortelã.

Quanto maior a atividade antioxidante da amostra testada, mais estável o radical DPPH vai se tornar, provocando a descoloração da solução (DPPH e extrato) e diminuindo a absorvância. Deste modo, o percentual de inibição das amostras testadas sobre os radicais DPPH foi calculado, convertendo em porcentagem de atividade antioxidante (AA%) usando-se a seguinte fórmula:

$$AA\% = 100 - \left\{ \left[ \frac{(Abs_{amostra} - Abs_{branco}) \times 100}{Abs_{DPPH}} \right] \right\} \quad \text{Eq. 4.7}$$

#### **4.9 O EMPREGO DO CO-SOLVENTE**

Além do tipo de co-solvente, o modo de adição do mesmo à matéria-prima tem efeito na eficiência da extração (HOLLENDER et al, 1997). Para a adição de co-solvente junto à extração supercrítica, uma bomba de co-solvente (BCS) (Constametric 3200, Thermo Separation Products, EUA) foi acoplada à unidade de extração supercrítica 1. Uma válvula de retenção (VR) foi colocada após a bomba de co-solvente para evitar que o solvente orgânico retorne para a bomba de co-solvente (CS) caso ocorra um aumento na pressão da bomba de  $\text{CO}_2$  durante o experimento. O esquema da unidade de extração<sup>1</sup>, com a bomba de CS acoplada, é apresentado na Figura 14. A bomba de CS trabalha numa faixa de vazão de solvente de 0,1 a 10 ml/min. Os solventes utilizados foram o etanol e o acetato de etila em concentrações de 10, 15 e 20% em massa (relativo ao  $\text{CO}_2$ ).

Estes solventes foram selecionados com base nos resultados de rendimento das extrações convencionais (ver item 5.4) e dados da literatura que relatam o uso de etanol (LEE

et al, 2000) e acetato de etila como co-solventes. O etanol é comumente utilizado em indústrias alimentícias e facilmente separado do soluto. No caso do acetato de etila, uma das razões para sua seleção e uso como co-solvente foi obter informações sobre o tipo de influência que o mesmo tem nas interações soluto-solvente, que determinam o rendimento da extração (LUTERMANN et al, 1998). Além disso ele é um éster, e não um álcool, como o etanol, e possivelmente influencia de forma diferente a eficiência da extração. Essas misturas de solventes foram usadas para aumentar o rendimento da extração pelo aumento das interações entre co-solvente e matriz e redução das interações entre soluto e matriz sólida. (HOLLENDER et al, 1997).

Os experimentos com co-solvente foram realizados na condição de 200 bar e 40°C, vazão média de CO<sub>2</sub> de 0,9 g/min e 3 horas de extração, a fim de se avaliar o aumento no rendimento da ESC provocado pela sua adição, em diferentes concentrações. Para avaliação da sua ação sobre o ponto de inversão das isotermas na ESC com co-solvente, foram realizados ensaios nas condições de 150, 200 e 230 bar e 40 e 50°C, com 20% de etanol. A Figura 15 mostra uma foto da bomba de co-solvente, acoplada a unidade de extração 1.

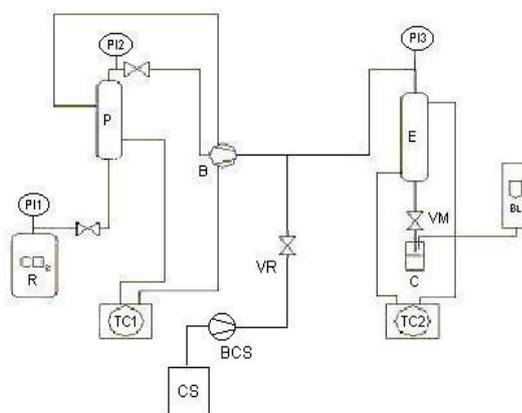


Figura 14: Esquema da unidade de extração 1, com a bomba de CS acoplada, utilizada na extração do óleo de hortelã

onde:

CS – Reservatório de co-solvente;

BCS – Bomba de co-solvente;

VR – Válvula de retenção.

A quantidade de co-solvente necessária para a realização de cada ensaio foi calculada com base na massa de CO<sub>2</sub>, obtida pelo produto da sua vazão média, tempo total de extração e

densidade do mesmo a temperatura ambiente. A partir da massa de CO<sub>2</sub> em gramas calcula-se a massa de co-solvente segundo a concentração desejada (10, 15 ou 20%), que é adicionada ao reservatório de CS na quantidade necessária para uma extração.



Figura 15: Foto da bomba de co-solvente acoplada ao equipamento de ESC 1.

#### **4.10 DETERMINAÇÃO EXPERIMENTAL DA SOLUBILIDADE**

A solubilidade é um parâmetro termodinâmico importante à aplicação do modelo de transferência de massa de SOVOVÁ (1994).

A solubilidade de um soluto em um fluido supercrítico, que representa a máxima concentração de soluto na fase solvente, pode ser obtida pelo método dinâmico de extração, onde a solubilidade é representada pela inclinação das curvas de extração, na etapa de taxa constante de extração (CER) (FERREIRA et al, 1999).

A solubilidade do óleo de hortelã no solvente supercrítico foi determinada experimentalmente através do ajuste simultâneo de duas retas às curvas de extração, utilizando o pacote estatístico SAS for Windows – versão 8.2 (SAS Institute Inc., Cary, NC, EUA). Foi determinada a inclinação da reta ajustada no período de taxa constante de extração (CER), onde a massa de soluto obtida é constante com o tempo. Esta inclinação corresponde ao valor de  $Y_{CER}$ , equivalente ao valor de  $Y^*$ , para a condição de temperatura e pressão específica quando o solvente está saturado com o soluto. 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 1,2 g/min para a solubilidade de oleoresinas de calêndula e cavalinha

em CO<sub>2</sub> supercrítico, garantindo assim o tempo de contato entre as fases, necessário para alcançar o equilíbrio.

O dado obtido com este procedimento é um valor aproximado, uma vez que pode existir variação da composição do extrato com o tempo de extração. O valor de Y\* foi determinado para a condição 200 bar e 40°C, e empregado no Modelo de Sovová para modelagem das curvas de extração em todas as condições selecionadas.

#### **4.11 COMPOSIÇÃO QUÍMICA DOS EXTRATOS**

A cromatografia gasosa (CG) é um dos métodos para separar e quantificar substâncias componentes de óleos voláteis, devido ao seu alto poder de diferenciação. Como os óleos são suficientemente voláteis, a amostra é somente solubilizada em solventes orgânicos, antes de ser injetada no cromatógrafo. Para a separação utilizam-se atualmente colunas capilares. As colunas empacotadas são obsoletas para a análise de óleos voláteis. Por exemplo, a análise de um óleo de hortelã realizada em 1967 com coluna empacotada apresentou 12 picos separados, enquanto que análises realizadas com coluna capilar apresentam, tipicamente, acima de 100 picos separados (SIMÕES & SPITZER, 2001).

A identificação dos compostos individuais pode ser realizada através da comparação do tempo de retenção relativo da amostra com padrões. A cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM) permite, como a CG, a separação dos componentes e fornece, ainda, um espectro de massas para cada pico. O espectro de massas geralmente indica a massa molecular e o padrão de fragmentação dos compostos, que pode ser comparado com aqueles constantes das bibliotecas de espectros de massas (SIMÕES & SPITZER, 2001).

A composição química dos extratos de hortelã obtidos por ESC com e sem co-solvente e pela extração Soxhlet com diferentes solventes orgânicos foi determinada através de um GC-EM (Cromatógrafo Gasoso Varian® CP-3800 acoplado ao Espectrômetro de Massas Saturn® 2000) equipado com uma coluna capilar CP-Sil 8 CB Low Bleed/MS (30m x 0.25mm – filme 0.25µm). O Gás de Arraste foi o He (Fluxo Constante de 1 ml/min). 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, e programada de 5 °C/min até 220 °C, e mantida a 220 °C por 15 min. O extrato diluído em acetato de etila foi injetado a 250 °C. O software de gerenciamento utilizado foi o Saturn® GC/MS Workstation 5.51.

A identificação e quantificação das substâncias majoritárias foi baseada na comparação do espectro de massa das substâncias com banco de dados do sistema GC-EM (Standard Reference Data Series do National Institute of Standard and Technology - NIST 2000 MS Library) e com padrões de n-alcenos injetados (C<sub>10</sub>-C<sub>25</sub>).

## **5. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **5.1 TESTES PRELIMINARES**

Os testes preliminares foram realizados para definição das condições e variáveis de processo, como a quantidade de material necessária para a formação do leito fixo de partículas, a vazão de solvente, a temperatura e pressão de operação, o tempo de extração e a granulometria da amostra.

O extrato obtido das frações retidas nas peneiras de até 32 mesh apresentou menor rendimento (1,11%), provavelmente porque as partículas não foram trituradas o suficiente para permitir boa exposição do soluto ao solvente, e as frações retidas na peneira de 100 mesh dificultaram o manuseio do material devido à grande redução das partículas. Assim, a granulometria para formação do leito fixo de partículas utilizado em todos os experimentos foi definida pelas frações intermediárias, retidas nas peneiras de 48 a 80 mesh, que apresentou o maior rendimento (1,52%) e permitiu reprodutibilidade no empacotamento do leito.

A vazão de solvente foi definida em 5 g/min para o equipamento 2, que permitia controle nas condições de operação estudadas, e 0,9 a 1,2 g/min para o equipamento 1, conforme determinado por DANIELSKI (2002).

Com relação ao tempo de extração, o resultado das curvas (Figura) demonstrou que com um tempo de extração de 3 horas e massa de 15g para formar leito fixo foi possível atingir a proximidade da etapa de taxa quase nula de extração, o que representa economia de matéria-prima, de solvente e redução do tempo de extração, se comparado com o leito completo (30g). Dessa forma, o tempo de extração foi fixado em 3 horas para determinação de  $X_0$  (extrações com e sem co-solvente), com 15g de matéria-prima para formar o leito de sólidos. Para determinação preliminar da solubilidade foi definido o tempo de 6 horas de extração e massa de 30g de matéria-prima.

As temperaturas de 30, 40 e 50°C e pressões de 100 a 300 bar foram definidas como as condições de operação para extração do óleo de hortelã. A seleção da faixa de temperatura e pressão de operação é um fator importante que afeta a composição final do extrato e o rendimento da extração, já que a solubilidade de todo componente no fluido supercrítico vai depender desses parâmetros (DIAZ-MAROTO et al, 2002).

## 5.2 CARACTERIZAÇÃO DA MATÉRIA-PRIMA E DO LEITO DE PARTÍCULAS

A Figura 16 apresenta a micrografia da amostra de hortelã, aumentada em 20 vezes.

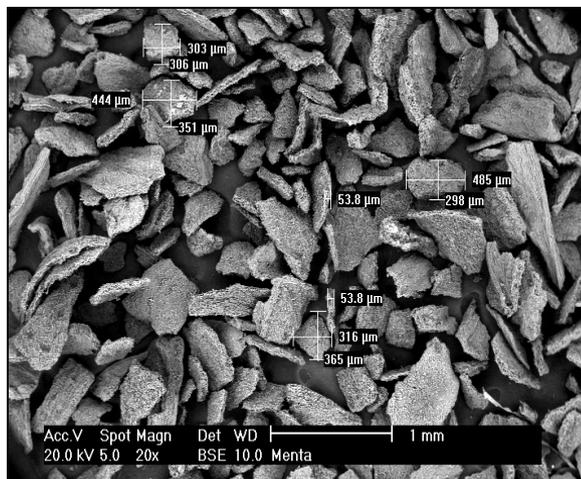


Figura 16: Microscopia eletrônica de varredura de hortelã (*Mentha spicata* L).

A Tabela 2 mostra os resultados obtidos para a umidade da matéria-prima, a densidade real e aparente da hortelã e a porosidade do leito.

Tabela 2: Dados característicos da matéria-prima e do leito de partículas

| Umidade<br>(%) (p/p) | Diâmetro médio<br>(mm) | Densidade real<br>(g/cm <sup>3</sup> ) | Densidade aparente*<br>(g/cm <sup>3</sup> ) | Porosidade*<br>(ε) |
|----------------------|------------------------|--|---|--------------------|
| 10,7                 | 0,362                  | 1,4409                                 | 0,15  | 0,8959             |

\* Dados referentes à unidade de ESC 2

Com exceção da umidade, os demais resultados da Tabela 2 são fundamentais para a avaliação do processo de transferência de massa da extração do óleo de hortelã com CO<sub>2</sub> supercrítico, utilizados no modelo de transferência de massa proposto por SOVOVÁ (1994).

## 5.3 RENDIMENTO GLOBAL DE EXTRAÇÃO ( $X_0$ )

O poder de solubilização do CO<sub>2</sub> supercrítico depende, basicamente, da sua densidade, que aumenta com o aumento da pressão a temperatura constante e diminui com o aumento da temperatura a pressão constante. Para se entender o comportamento do sistema, além da densidade é necessário conhecer as interações entre o extrato de hortelã e o CO<sub>2</sub> supercrítico.

Experimentalmente, estas interações podem ser representadas pela solubilidade do óleo de hortelã no CO<sub>2</sub> e pelo rendimento global do extrato (SILVA; CARVALHO Jr. et al; 2004, 2005). Os resultados de X<sub>0</sub> são apresentados na Tabela 3.

Tabela 3: Valores de X<sub>0</sub> (Rendimento) obtidos nas extrações supercríticas

| Pressão<br>(bar) | Temperatura<br>(°C) | Densidade CO <sub>2</sub> <sup>*</sup><br>(g/cm <sup>3</sup> ) | Rendimento<br>(%) |
|------------------|---------------------|--|-------------------|
| 100              | 30                  | 0,773  | 1,53 ± 0,06       |
| 100              | 40                  | 0,629  | 1,49 ± 0,04       |
| 100              | 50                  | 0,392  | 1,37 ± 0,01       |
| 200              | 30                  | 0,891  | 1,95 ± 0,04       |
| 200              | 40                  | 0,841  | 2,00 ± 0,04       |
| 200              | 50                  | 0,785  | 2,08 ± 0,05       |
| 300              | 30                  | 0,949  | 2,02 ± 0,02       |
| 300              | 40                  | 0,911  | 2,14 ± 0,03       |
| 300              | 50                  | 0,871  | 2,38 ± 0,01       |

\* ANGUS (1976)

Os resultados da Tabela 3 comprovam a teoria de solubilização do solvente e sua relação com a densidade, ou seja, o aumento isotérmico da pressão aumenta a densidade do solvente, aumentando seu poder de solubilização e consequentemente o rendimento da extração (LOULI et al; KHAJEH et al; 2004, 2004), conforme apresentado na Figura 17.

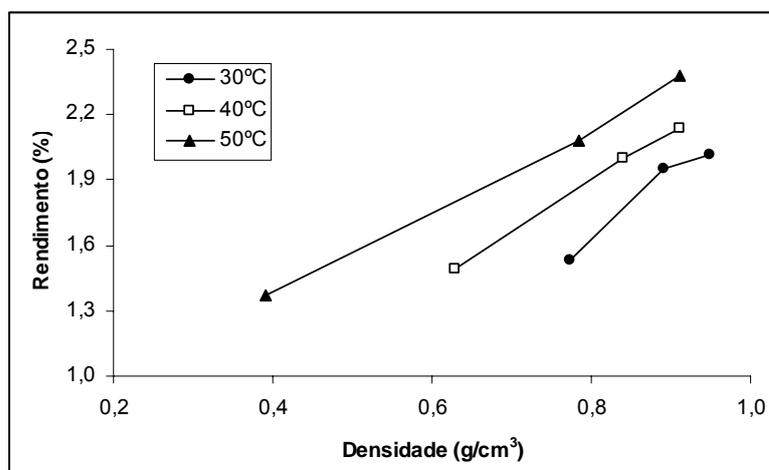


Figura 17: Rendimento (X<sub>0</sub>) versus densidade CO<sub>2</sub>, em função da pressão (100, 200 e 300 bar), a temperatura constante

As Figuras 18 e 19 mostram curvas de extração, onde se observa o efeito da pressão no rendimento da extração.

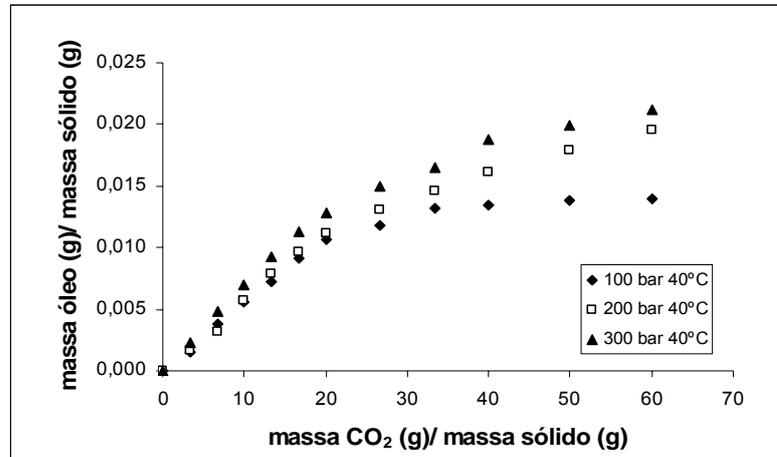


Figura 18: Efeito da pressão na ESC de óleo de hortelã a 40°C.

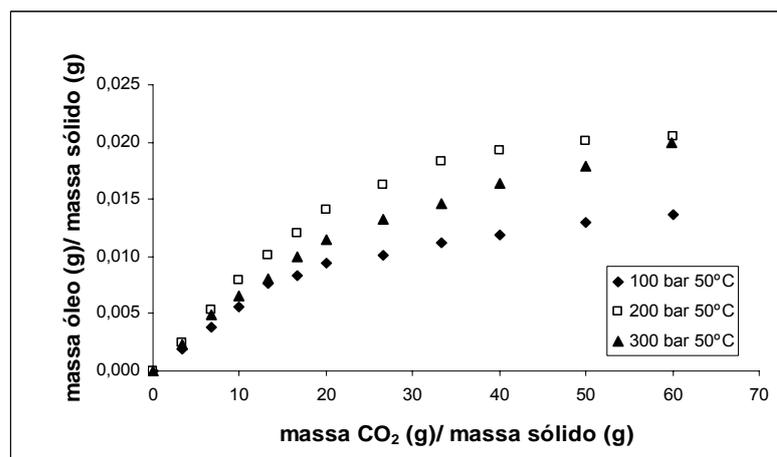


Figura 19: Efeito da pressão na ESC de óleo de hortelã a 50°C.

O efeito da temperatura de extração no rendimento de processo é mais complexo. O aumento isobárico da temperatura diminui a densidade do solvente ao mesmo tempo que aumenta a pressão de vapor do soluto. Próximo ao ponto crítico, qualquer pequena mudança na temperatura e pressão de operação altera a densidade do solvente. Em pressões mais altas, a variação da densidade com a temperatura é mais moderada, e a pressão de vapor do soluto passa a ser o fator dominante (BRUNNER, 1994). A competição entre esses dois fatores leva ao fenômeno de retrogradação, ou seja, a pressão na qual ocorre a inversão das isotermas. Nesse caso, abaixo do ponto de inversão das isotermas, o efeito da densidade é maior e o aumento da temperatura diminui a densidade do solvente e o rendimento da extração,

enquanto que acima da pressão de inversão, o aumento da temperatura aumenta a pressão de vapor do soluto e o rendimento da extração (LEE et al; LEAL et al; MICHIELIN et al; 2000, 2003, 2005). O fenômeno de retrogradação para o óleo de hortelã pode ser observado na Figura 20, para as isotermas 30, 40 e 50°C. A inversão das isotermas ocorreu a 155 bar, aproximadamente.

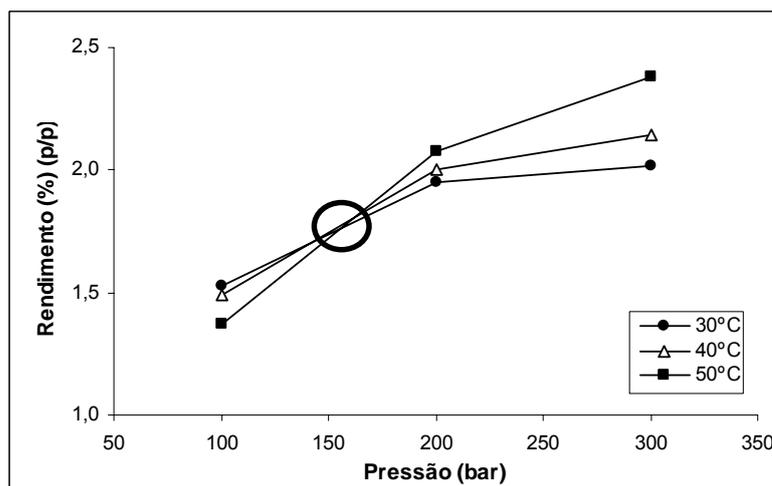


Figura 20: Inversão das isotermas na ESC de óleo de hortelã.

De acordo com os resultados da Tabela 3, o rendimento diminuiu com o aumento da temperatura nas pressões abaixo de 155 bar, enquanto que nas pressões acima de 155 bar, o rendimento aumentou com o aumento da temperatura. Em seu trabalho com alecrim (*Rosmarinus officinalis*), GENENA (2005) encontrou a inversão das isotermas de rendimento na pressão de 165 bar. As Figuras 21 e 20 mostram as curvas de extração a 200 e 300 bar e o efeito da temperatura no rendimento das extrações.

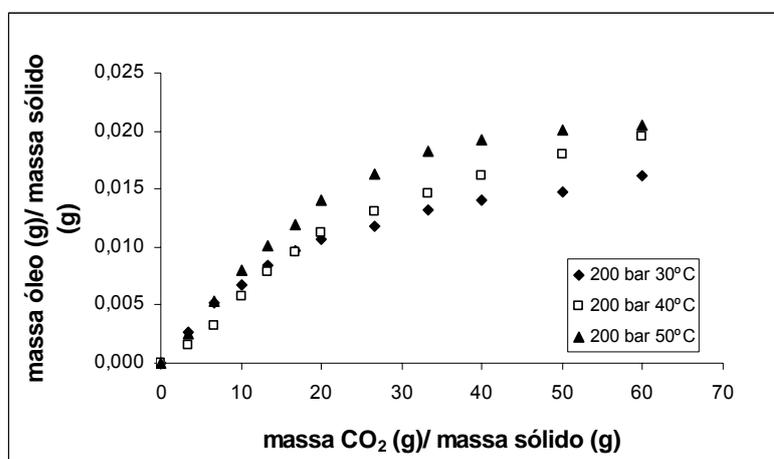


Figura 21: Efeito da temperatura na ESC de óleo de hortelã a 200 bar.

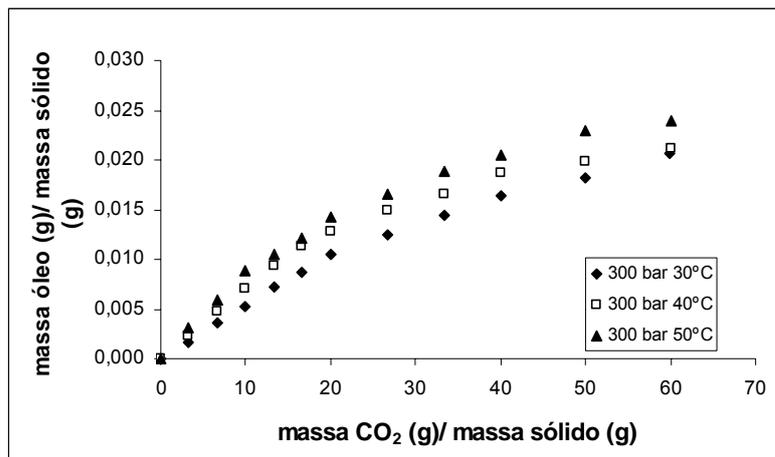


Figura 22: Efeito da temperatura na ESC de óleo de hortelã a 300 bar.

#### 5.4 EXTRAÇÕES CONVENCIONAIS – RENDIMENTO

A fim de se comparar rendimento, composição, atividade antioxidante, bem como obter dados para seleção de co-solventes a serem utilizados nas extrações supercríticas, foram realizadas as extrações convencionais Soxhlet com diferentes solventes orgânicos (em triplicata) e a hidrodestilação (em duplicata).

Na Tabela 4 são apresentados os valores médios de rendimentos obtidos na hidrodestilação e extração Soxhlet, conforme descrito nos itens 4.7.1 e 4.7.2, respectivamente.

Tabela 4: Rendimentos obtidos nas extrações convencionais.

| Extração Convencional |                  |                |
|-----------------------|------------------|----------------|
| Método                | Solvente         | Rendimento (%) |
| Hidrodestilação       | Água             | 0,23 ± 0,04    |
|                       | n-Hexano         | 5,21 ± 0,03    |
|                       | Diclorometano    | 8,42 ± 0,02    |
| Extração Soxhlet      | Butanol          | 12,76 ± 0,01   |
|                       | Acetato de etila | 8,59 ± 0,04    |
|                       | Etanol           | 23,33 ± 0,01   |

Os resultados obtidos nas extrações convencionais e ESC com CO<sub>2</sub> (Tabela 3) foram comparados de modo a avaliar a influência do solvente no rendimento da extração. O rendimento obtido na hidrodestilação (0,23%) foi inferior a todos os rendimentos obtidos na

extração supercrítica, nas diferentes condições de operação. Em seu trabalho, LUCCHESI et al (2004) e AGHEL et al (2004) obtiveram um rendimento de 0,09% e 0,6%, respectivamente, na hidrodestilação de hortelã. Embora as moléculas de água tenham afinidade por compostos polares em função da sua alta polaridade (9,0) e a presença do grupo -OH, que a torna capaz de formar pontes de hidrogênio, a água é um mau solvente para a maioria dos compostos orgânicos. A água é considerada uma substância anfótera, ou seja, pode se comportar tanto como um ácido ou como uma base. No caso da hidrodestilação, o hidrogênio ligado ao oxigênio torna a água consideravelmente ácida. Esse tipo de solvente tende a formar ligações de hidrogênio com os ânions, estabilizando-os e diminuindo a sua reatividade (MORRISON & BOYD, 1981). Além disso, a água pode degradar compostos por hidrólise, transesterificação ou oxidação (LUCCHESI et al, 2004). Possivelmente a alta temperatura utilizada (100°C) e o tempo de extração prolongado (240 min) tenham destruído compostos voláteis, reduzindo o rendimento da extração.

Comparando-se os resultados da extração Soxhlet e hidrodestilação, percebemos que embora a água seja mais polar do que todos os solventes orgânicos utilizados na extração Soxhlet, seu rendimento foi menor. Porém a polaridade não é o único fator que influencia o rendimento da extração, é importante também compreender-se o tipo de interação que ocorre entre o solvente e o soluto e a sua influência no rendimento da extração.

No entanto, quando comparamos os resultados da extração Soxhlet com os resultados da ESC com CO<sub>2</sub> (Tabela 3), notamos que os solventes orgânicos utilizados na Soxhlet apresentaram rendimentos maiores do que a ESC, com destaque para etanol (23,33%) e butanol (12,76%). Isso se deve ao caráter polar desses solventes, que extraem compostos normalmente não extraídos na ESC, visto que o CO<sub>2</sub> é apolar. E embora o hexano também seja apolar, possivelmente o volume de solvente utilizado na extração Soxhlet (cerca de 5 vezes maior) e o tempo de extração (2 vezes maior) tenham contribuído para um maior rendimento (5,21%), se comparado a ESC. Apesar de a extração Soxhlet ter apresentado maior rendimento em relação à ESC com CO<sub>2</sub>, sabe-se que os monoterpenos são sensíveis à mudanças químicas sob as condições de operação durante a destilação, e as práticas convencionais de extração provocam maior perda de voláteis durante a separação do solvente (DIAZ-MAROTO et al, 2002), devido, entre outros, ao longo tempo de extração causado pela lenta difusão e desorção do soluto da matriz sólida para o solvente (OZCAN & OZCAN, 2004). Os extratos obtidos por esses métodos convencionais necessitam de um processo de purificação. Logo, a escolha do melhor processo de extração deve levar em conta os custos do processo global (extração + purificação) (QUISPE-CONDORI et al, 2005).

Como os resultados de rendimento da extração Soxhlet foram superiores aos da ESC com CO<sub>2</sub>, podemos considerar a utilização de um solvente orgânico como co-solvente na extração supercrítica do óleo de hortelã. Dessa forma é possível aumentar o rendimento global da extração, bem como ampliar o espectro de compostos da matriz sólida solubilizados pelo solvente, visto que o CO<sub>2</sub> extrai preferencialmente compostos apolares, e a adição de um co-solvente de caráter polar junto à ESC permitirá a extração de compostos polares. LÓPEZ et al. (2004) realizaram a extração de carotenóides de crustáceos utilizando CO<sub>2</sub> supercrítico e etanol como co-solvente, e o rendimento das extrações aumentou em 65% com o emprego 15% de etanol. CAMPOS (2005) realizou a extração de óleo de bagaço de uva utilizando o etanol como co-solvente, e obteve um aumento de 6,81% no rendimento da extração na concentração de 15% de etanol.

### **5.5 O EMPREGO DO CO-SOLVENTE (CS) NA ESC**

Conforme resultados de rendimento da extração Soxhlet, polaridade dos solventes e dados de literatura (LEE et al, 2000), os solventes orgânicos etanol e acetato de etila foram selecionados para o emprego como co-solventes na ESC, nas concentrações de 10, 15 e 20% em massa. O etanol é um álcool, solvente orgânico polar, incolor, volátil e de odor característico, permitido nas indústrias alimentícias, além de ser facilmente separado do extrato. O acetato de etila é um éster, líquido incolor, volátil e de odor agradável, utilizado frequentemente na preparação de perfumes e essências artificiais (MORRISON & BOYD, 1981). Foram utilizados co-solventes (CS) com grupos funcionais diferentes para avaliar sua influência no rendimento da extração. As extrações com CS foram realizadas no equipamento 1, na condição de 200 bar e 40°C, devido às limitações do equipamento, que opera na pressão máxima de 230 bar, para determinação do rendimento da extração em função da concentração de co-solvente empregada.

A influência da concentração do CS no rendimento da ESC, para os dois co-solventes selecionados, pode ser observado na Figura 23.

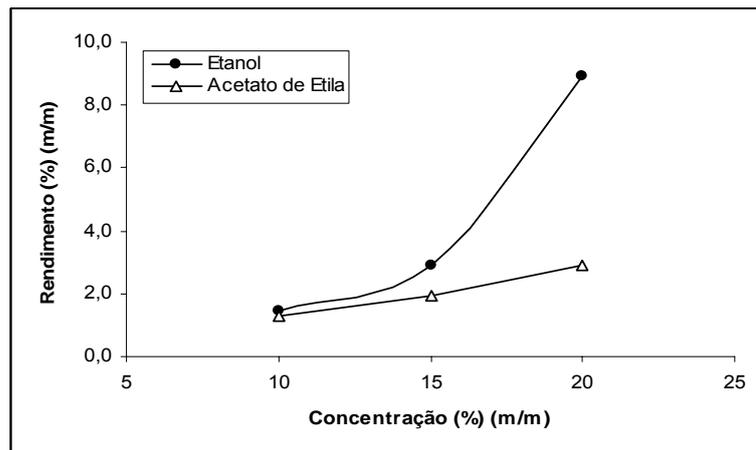


Figura 23: Efeito da concentração de co-solvente na ESC de óleo de hortelã a 200 bar e 40°C.

O aumento na concentração de etanol e acetato de etila aumentou o rendimento da ESC, indicando que houve quebra nas interações soluto-matriz sólida e a substituição pelo co-solvente nos sítios ativos da matriz (HOLLENDER et al, 1997). Na dissolução do soluto, as suas unidades estruturais, como íons e moléculas, separam-se umas das outras e o espaço entre elas passa a ser ocupado pelas moléculas do solvente. Para isso, é necessário energia para destruir as atrações mútuas entre as moléculas ou íons do soluto e o estabelecimento de interações entre eles e as moléculas do solvente. Essa energia para vencer as forças eletrostáticas que sustentam a rede iônica provém de um solvente polar, no caso, o co-solvente (MORRISON & BOYD, 1981).

A concentração de 20% apresentou um rendimento superior às concentrações de 10% e 15%. Isso porque as moléculas do solvente orgânico competem com os sítios ativos da matriz para interagir com os compostos. Quanto mais moléculas de solvente disponíveis, mais interações matriz-compostos podem ser quebradas e desta forma as substâncias presentes na matéria-prima são solubilizadas pela mistura de solventes (HOLLENDER et al; LUTERMANN et al; 1997, 1998). Forças de van der Waals podem se romper dependendo das propriedades físico-químicas do co-solvente (HOLLENDER et al, 1997). O aumento na solubilidade causado por um co-solvente resulta da formação de grupos de co-solvente-soluto e solvente-co-solvente-soluto. A quantidade de soluto na fase fluida é a soma do número de soluto livre e o soluto associado à fase fluida. Quanto mais moléculas de co-solvente no sistema, mais complexos de interação são formados na fase fluida, logo a solubilidade aumenta com a concentração de co-solvente (KE et al, 1997).

O etanol é largamente empregado na indústria como solvente e é uma importante matéria-prima em síntese orgânica (MORRISON & BOYD, 1981). Ele possui em suas

moléculas o grupo –OH, permitindo a formação de pontes de hidrogênio entre as moléculas de etanol e as moléculas dos compostos polares do óleo. Além disso, ele é capaz de extrair lipídios polares ao mesmo tempo que aumenta a polaridade do fluido supercrítico (LEE et al, 2000). Então quanto maior a sua concentração, maior o poder de solvatação do solvente, maior o rendimento da extração (TONTUBTHIMTHONG et al., 2004). Além disso, o etanol possui momento dipolo  $\mu = 1,69$  (ver item 3.6), o que prova que ele é uma substância polar ( $\mu \neq 0$ ).

O acetato de etila é um éster volátil com caráter polar devido à presença do grupo C=O. No entanto os hidrogênios estão ligados somente a carbonos nas moléculas, o que não o torna capaz de formar ligações de hidrogênio intermoleculares (MORRYSON & BOYD, 1981). Logo, o aumento na concentração de acetato de etila não aumentou muito o rendimento da extração (máximo 0,9%), pois não permitiu a formação de ligações do tipo pontes de hidrogênio com os compostos polares do óleo de hortelã.

Em geral, um co-solvente que possui temperatura crítica menor que a do fluido supercrítico causa diminuição na solubilidade de componentes pouco voláteis no fluido supercrítico, e quando possui temperatura crítica maior que a do gás supercrítico causa aumento na solubilidade (BRUNNER, 1994). Ambos os co-solventes utilizados, o etanol e o acetato de etila, possuem temperaturas críticas maiores do que a temperatura crítica do dióxido de carbono (240,7°C; 250,1°C e 31,1°C, respectivamente), aumentando assim a solubilidade dos compostos no solvente supercrítico. O aumento da concentração do co-solvente pode ter um grande impacto na temperatura crítica da mistura CO<sub>2</sub> + co-solvente. Por exemplo, utilizando-se metanol a 28% (p/p), a temperatura crítica da mistura é aproximadamente 70°C, enquanto que a temperatura crítica do CO<sub>2</sub> puro é 31°C (WOOD et al, 2006).

A Tabela 5 apresenta os resultados de rendimento de óleo de hortelã obtidos com os diferentes co-solventes e suas concentrações, em relação à ESC com CO<sub>2</sub> supercrítico puro, na condição de 200 bar e 40°C.

Tabela 5: Rendimentos obtidos nas extrações supercrítica com e sem co-solvente, a 200 bar e 40°C.

| ESC 200 bar 40°C                       |                |
|--|----------------|
| Co-solvente                            | Rendimento (%) |
| CO <sub>2</sub> puro                   | 2,00 ± 0,04    |
| CO <sub>2</sub> + 10 % Etanol          | 1,47 ± 0,02    |
| CO <sub>2</sub> + 15% Etanol           | 2,93 ± 0,03    |
| CO <sub>2</sub> + 20% Etanol           | 8,95 ± 0,01    |
| CO <sub>2</sub> + 10% Acetato de Etila | 1,27 ± 0,01    |
| CO <sub>2</sub> + 15% Acetato de Etila | 1,91 ± 0,04    |
| CO <sub>2</sub> + 20% Acetato de Etila | 2,88 ± 0,02    |

Podemos observar pela Tabela 5 que os rendimentos da ESC com o uso de CS foram menores do que da ESC sem CS na concentração de 10% para o etanol e o acetato de etila e na concentração de 15% para o acetato de etila, e maiores nas outras concentrações avaliadas. Uma possível explicação para os rendimentos abaixo daquele da ESC com CO<sub>2</sub> puro se dá provavelmente porque a extração de compostos apolares ficou prejudicada, já que o etanol e o acetato de etila são polares e extraem preferencialmente compostos polares. Outra provável razão é devido a formação de pontes de hidrogênio pelo etanol. O etanol possui em suas moléculas o grupo –OH, o que as torna capazes de formar ligações de hidrogênio entre si. Por outro lado, as moléculas dos compostos polares presentes no óleo de hortelã também formam ligações de hidrogênio entre si. Então, para que o soluto seja solvatado pelo solvente é necessária a formação de novas ligações de hidrogênio, agora entre as moléculas de CS e as moléculas dos compostos polares do óleo. A energia necessária para a formação dessas novas ligações é proveniente do rompimento das ligações de hidrogênio entre as moléculas do soluto (MORRISON & BOYD, 1981). No entanto, a quantidade de co-solvente utilizada não foi suficiente para romper essas ligações, assim menos moléculas de soluto (compostos polares) serão solubilizadas pelo solvente. Desta maneira o rendimento global da extração diminui. No caso do acetato de etila, não há formação de ligações do tipo pontes de hidrogênio, conforme explicado anteriormente, o que possivelmente prejudicou a extração de compostos polares e conseqüentemente o resultado da extração.

Nas concentrações de 15% e 20% para o etanol e 20% para o acetato de etila, a característica polar dos co-solventes, bem como a quantidade de co-solvente utilizada,

permitiu o aumento da extração de compostos polares, os quais não eram extraídos somente com o uso de CO<sub>2</sub> supercrítico, que é apolar. A utilização do CS nessas concentrações gerou uma redução na interação do soluto (óleo) com a matriz sólida (hortelã) pelo aumento da solubilidade do óleo no solvente (CO<sub>2</sub> supercrítico/CS), facilitando a sua extração.

Geralmente o tipo de co-solvente tem mais efeito na eficiência da extração do que sua concentração. A maioria deles alcança melhores resultados em altas concentrações, enquanto outros reagem ao contrário. O tipo de interação matriz-compostos e os parâmetros físico-químicos do co-solvente têm maior impacto sobre a eficiência da extração (LUTERMANN et al, 1998). Em seu trabalho, LUTERMANN et al (1998) encontraram que o tipo de co-solvente teve mais influência na extração de PAHs (Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos) do que sua concentração.

Embora na extração Soxhlet (Tabela 4) os rendimentos de extração utilizando-se etanol e acetato de etila (23,33% e 8,59%, respectivamente) tenham sido maiores do que na ESC com CO<sub>2</sub> (Tabela 3) (máximo 2,38%), deve-se considerar que a quantidade de solvente utilizada é cerca de 5 vezes maior do que na ESC.

Para se observar o comportamento da ESC com CS, em diferentes condições de processo, foi avaliado o efeito de T e P no rendimento da extração para ESC com 20% de etanol (concentração definida em função do rendimento das extrações com CS). Esse efeito pode ser observado na Tabela 6.

Tabela 6: Efeito da temperatura e pressão nas extrações com co-solvente (20 % etanol):

| EXTRAÇÃO SUPERCRÍTICA |         |            |
|-----------------------|---------|------------|
| CS = ETANOL 20%       |         |            |
| Condição              |         | Rendimento |
| T (°C)                | P (bar) | (%)        |
|                       | 150     | 5,6        |
| 40                    | 200     | 9,0        |
|                       | 230     | 6,5        |
| 50                    | 150     | 2,8        |
|                       | 200     | 3,6        |
|                       | 230     | 4,2        |

O rendimento da extração pode ser aumentada por diferentes meios (BRUNNER, 1994):

- A densidade do gás pode ser aumentada aumentando-se a pressão, diminuindo a temperatura ou adicionando-se um co-solvente. Com o aumento da densidade da fase gasosa, a densidade de ambas as fases se aproximam;
- A temperatura pode ser aumentada, aumentando-se assim a pressão de vapor das substâncias de baixa volatilidade. A solubilidade de substâncias na fase gasosa aumenta com a temperatura em pressões relativamente altas;
- Um co-solvente pode ser adicionado, o que aumenta a densidade e também pode aumentar a concentração no solvente supercrítico através das interações moleculares.

O aumento da pressão a temperatura constante aumenta a densidade do solvente nas extrações com CO<sub>2</sub> supercrítico puro, aumentando o rendimento da extração. No entanto, nas extrações com CS, nas condições de 40°C e 200 e 230 bar com 20% de etanol, o aumento da pressão a temperatura constante possivelmente diminuiu o rendimento da extração (9,0% e 6,5%, respectivamente). Existe a necessidade de repetição de dados para confirmar esse comportamento. No equipamento 1, onde foram realizadas as extrações com CS, a vazão é controlada por uma válvula micrométrica, localizada na saída do extrator. Esta válvula não permite bom ajuste, levando a erros operacionais e a dificuldade em se alcançar e manter a vazão constante, ou seja, as limitações do equipamento podem ter influenciado o resultado da extração.

No entanto, LUCCHESI et al (2004), trabalhando com a *Salvia officinalis* e *Levisticum officinalis*, entre outros, encontraram um decréscimo no rendimento com o aumento da pressão, como o obtido por LUENGTHANAPHOL et al (2004), durante a extração de antioxidantes de sementes de tamarindo. Isso é explicado pela possibilidade de mudanças na estrutura ou transformações texturais na matriz em altas pressões, o que retardaria a difusão, ou ainda pelo efeito cumulativo de mudanças na solubilidade dos componentes do extrato, mas isso necessitaria de um estudo aprofundado de solubilidade do extrato no CO<sub>2</sub> supercrítico para ser compreendido (LUCCHESI et al, 2004).

Já o aumento da temperatura a pressão constante diminui a densidade do solvente, ao mesmo tempo que aumenta a pressão de vapor do soluto. A densidade de um líquido é uma propriedade física de difícil previsão, pois nela incidem diversos fatores. Porém, se considerarmos uma série de moléculas com características estruturais semelhantes, a natureza dos átomos que compõem as respectivas moléculas nos permite a avaliação das densidades das substâncias, de maneira comparativa ou relativa (BESSLER & NEDER, 2004). Segundo os dados da Tabela 6, o aumento isobárico da temperatura provocou um decréscimo no

rendimento da extração, confirmando o efeito dominante da densidade do solvente e sugerindo que a inversão das isotermas acontece numa pressão superior a 230bar. Nas extrações com CO<sub>2</sub> puro, a inversão ocorreu em torno de 155 bar. O “deslocamento” desse ponto de inversão implica em alterações de caráter qualitativo e quantitativo da extração, visto que influencia na seletividade (extração de compostos polares), bem como no rendimento da mesma. A Figura 24 retrata os dados experimentais da Tabela 6 e a tendência do ponto de inversão das isotermas.

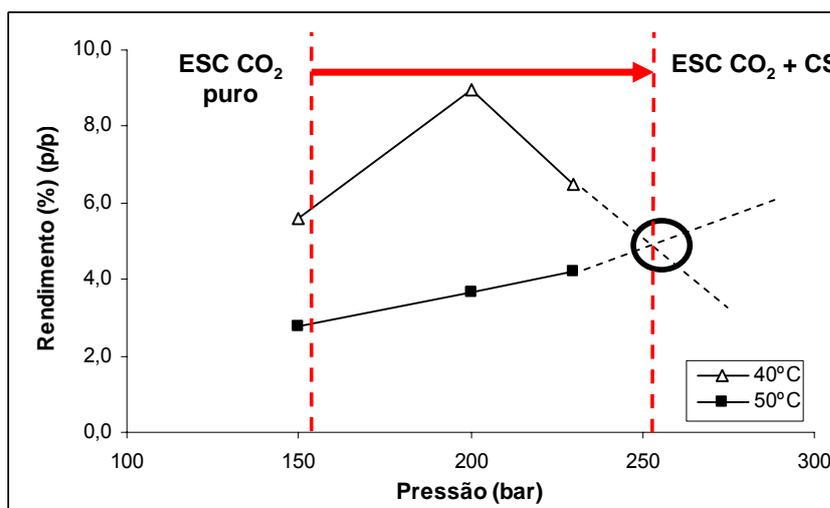


Figura 24: Tendência do ponto de inversão das isotermas na ESC com CS do óleo de hortelã.

Embora os efeitos da adição de um co-solvente na eficiência da ESC ainda não sejam completamente compreendidos, autores explicam esse fenômeno usando algumas hipóteses, como: baseado nos dados de solubilidade, a adição de um co-solvente orgânico ao CO<sub>2</sub> supercrítico demonstra um aumento na solubilidade e pode causar uma mudança na distribuição dos compostos matriz/fluido. Além disso, o co-solvente pode interagir com o complexo compostos/matriz e diminuir as barreiras da energia de ativação de desorção dos compostos no fluido (TONTHUBTHIMTHONG et al, 2004).

## 5.6 SOLUBILIDADE EXPERIMENTAL

Para a modelagem dos dados experimentais, especificamente para o emprego do modelo de SOVOVÁ (1994), são necessários dados de solubilidade do soluto no solvente supercrítico ( $Y^*$ ). A solubilidade é definida como a máxima concentração de óleo dissolvido na fase solvente, na saída do extrator, para uma dada condição de temperatura e pressão de operação. Para isto, a coluna de extração deve ser suficientemente longa ou a vazão de

solvente suficientemente baixa, de modo a garantir um tempo de contato suficiente entre as fases, permitindo a saturação do solvente com o óleo na saída do extrator.

DANIELSKI (2002) determinou a faixa de vazão de solvente adequada para a obtenção dos dados de solubilidade das oleoresinas de calêndula e cavalinha no CO<sub>2</sub> supercrítico, variando de 0,9 a 1,2 gCO<sub>2</sub>/min. O método dinâmico de extração dificulta a determinação de uma vazão de solvente adequada para obtenção da solubilidade. O valor de solubilidade encontrado neste trabalho foi determinado na condição de operação de 200 bar e 40°C e vazão de 0,9 gCO<sub>2</sub>/min, e este valor foi considerado constante para a modelagem das curvas de extração, independentemente dos valores de T e P.

Os valores de  $Y_{CER}$  são obtidos a partir da inclinação da reta tangente à curva de extração ( $m_{soluto}/m_{sólido}$  versus  $m_{CO_2}/m_{sólido}$ ) na etapa de taxa constante de extração (etapa CER), e se a vazão de solvente é adequada esta inclinação é considerada correspondente ao valor da solubilidade ( $Y^*$ ) para uma condição de temperatura e pressão específicas. O valor de  $Y^*$  foi determinado com o auxílio do pacote estatístico SAS, com duas retas ajustadas aos valores experimentais, conforme a Figura 25. A primeira reta representa a etapa de taxa constante de extração (CER) e a segunda representa a etapa de taxa decrescente de extração (FER).

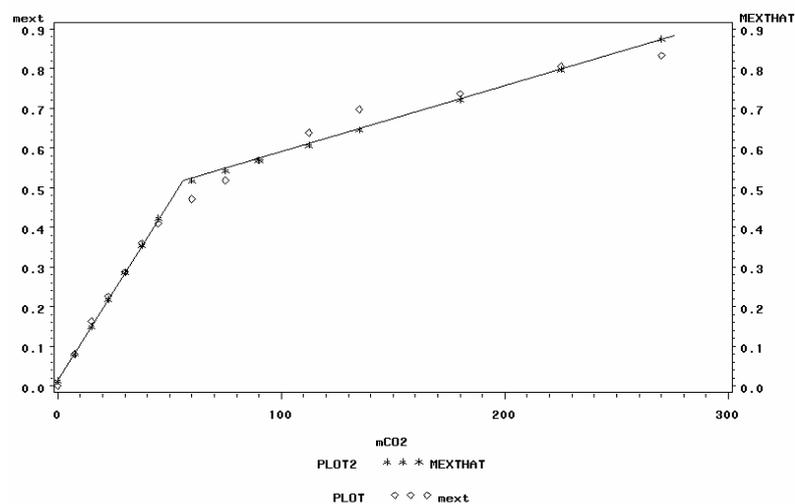


Figura 25: Ajuste das retas à curva de extração do óleo de hortelã para a condição de 200 bar e 40°C.

O valor de  $Y^*$  encontrado para a condição de 200 bar e 40°C foi de  $9,09 \times 10^{-3}$  g<sub>óleo</sub>/gCO<sub>2</sub>, utilizado na aplicação do modelo de SOVOVÁ (1994).

## **5.7 COMPOSIÇÃO QUÍMICA DOS EXTRATOS DE HORTELÃ**

Para identificação e quantificação dos compostos presentes no óleo de hortelã foram realizadas 16 análises de cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG-EM), conforme descrito no item 4.11, em diferentes condições, a seguir:

- Extração Soxhlet: frações n-hexano, diclorometano, butanol, acetato de etila e etanol;
- ESC sem co-solvente: 100bar/40°C, 100bar/50°C, 200bar/40°C, 200bar/50°C, 300bar/30°C e 300bar/50°C;
- ESC com co-solvente: 200bar/40°C com 15 e 20% de etanol, e 150 bar/40°C, 200bar/50°C e 230/50°C, com 20% de etanol.

A identificação e quantificação dos constituintes químicos dos extratos de hortelã foi baseada na comparação do espectro de massa da substância com um sistema de banco de dados para CG-EM (NIST 02 MS Library) e quantificação relativa, ou seja, todos os compostos são integrados e somadas suas áreas, depois é feita o cálculo de participação percentual de cada composto em relação a área total.

As técnicas de análise empregadas para caracterização dos extratos de hortelã (CG e CG-EM) não permitem a identificação de todos os compostos presentes, devido à presença de muitos compostos e à dificuldade de identificação e separação desses compostos (muitos picos). Apesar disto, para efeito de simplificação, estamos considerando a composição dos extratos como representada apenas pelos compostos separados e/ou identificados pelas técnicas empregadas.

### **5.7.1 Composição dos extratos obtidos por ESC e extração Soxhlet**

As Figuras 26 e 27 apresentam dois cromatogramas obtidos por diferentes técnicas de extração e as Figuras 28 e 29 apresentam 2 espectros de massas de dois constituintes identificados no óleo de hortelã, a Carvona e o Ácido Hexadecatrienóico, respectivamente. Os cromatogramas obtidos nas demais condições e técnicas de processo encontram-se no Apêndice III.

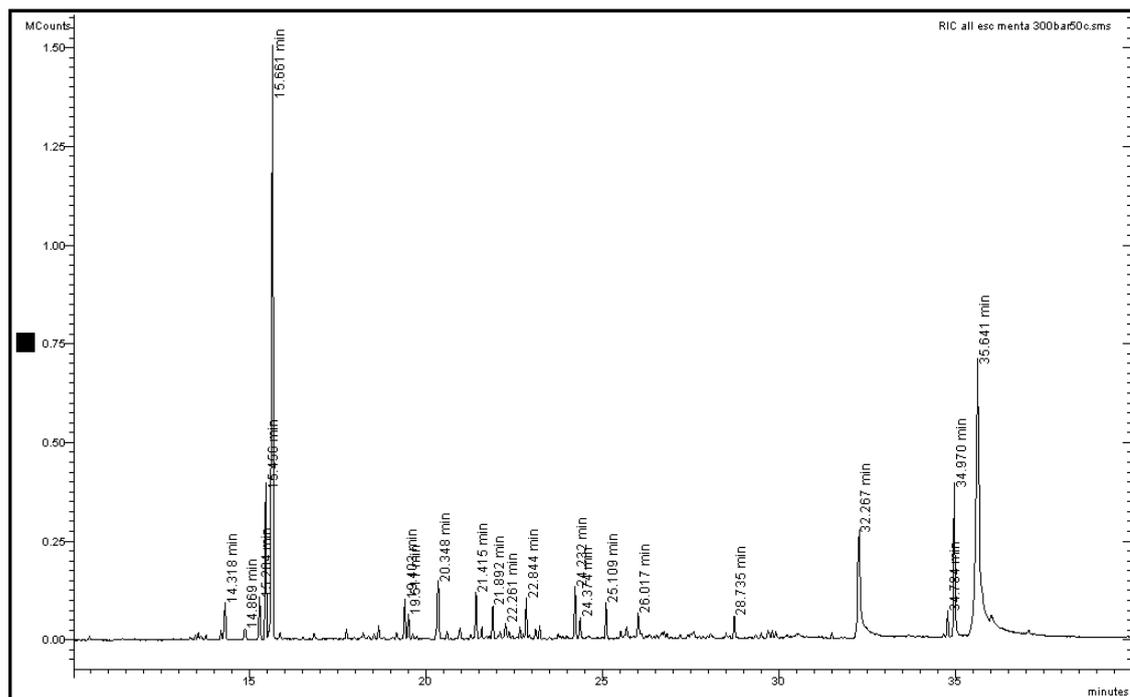


Figura 26: Cromatograma do óleo de hortelã obtido por ESC a 300 bar e 50°C

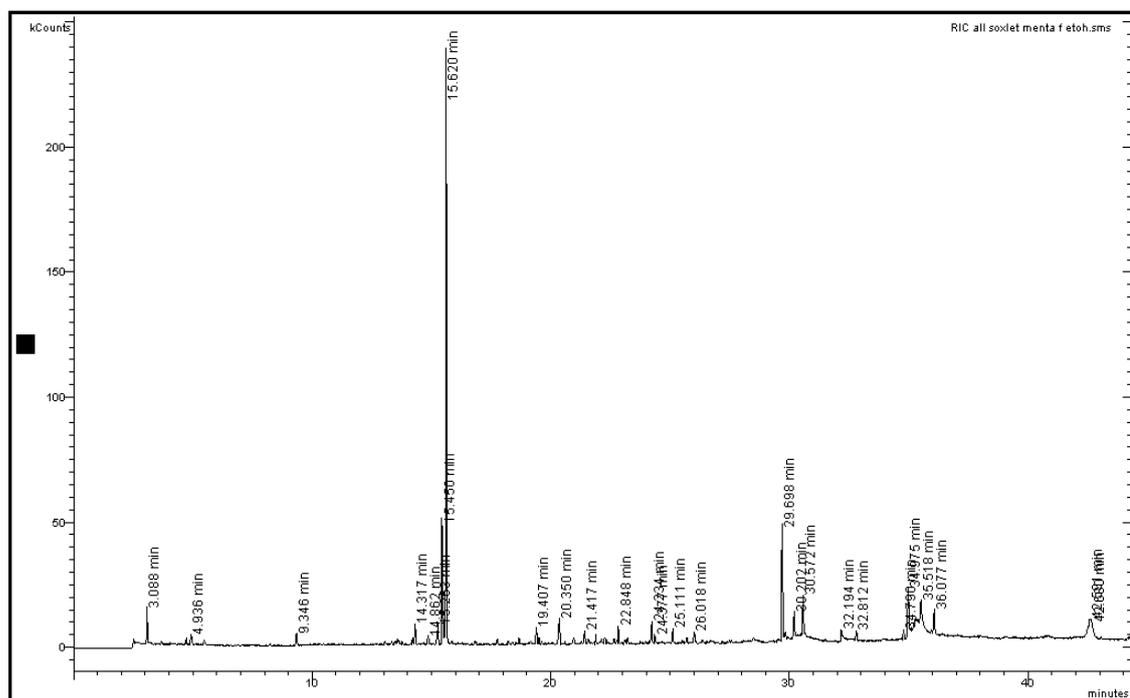


Figura 27: Cromatograma do óleo de hortelã obtido por extração Soxhlet – fração etanol

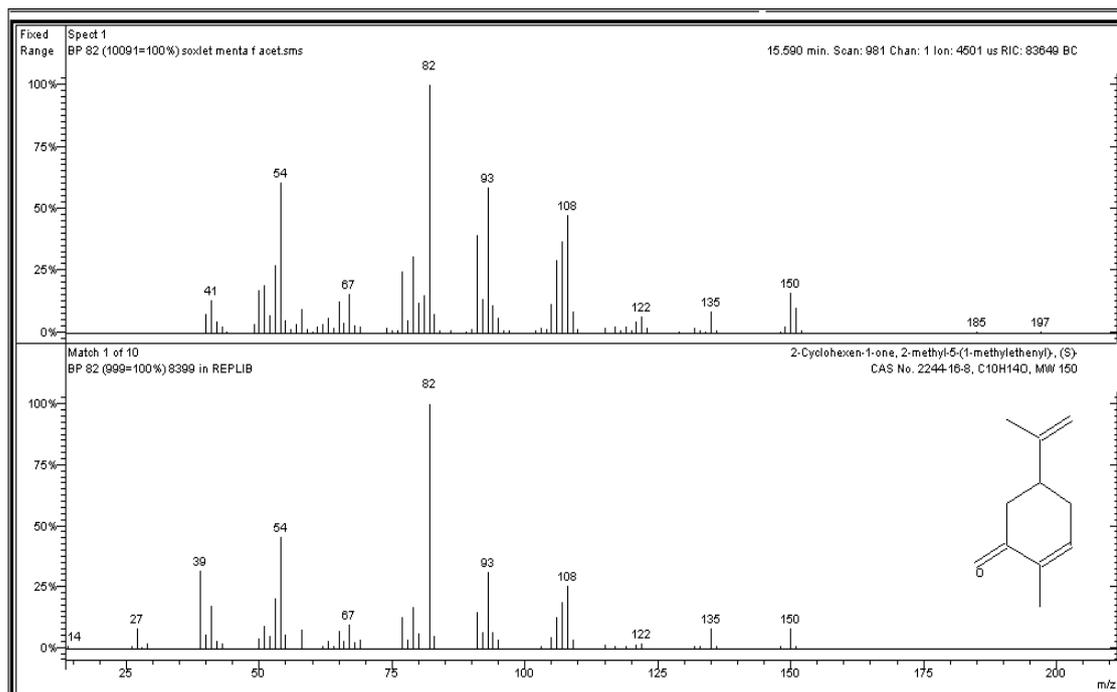


Figura 28: Espectro de massas do composto Carvona, presente no óleo de hortelã.

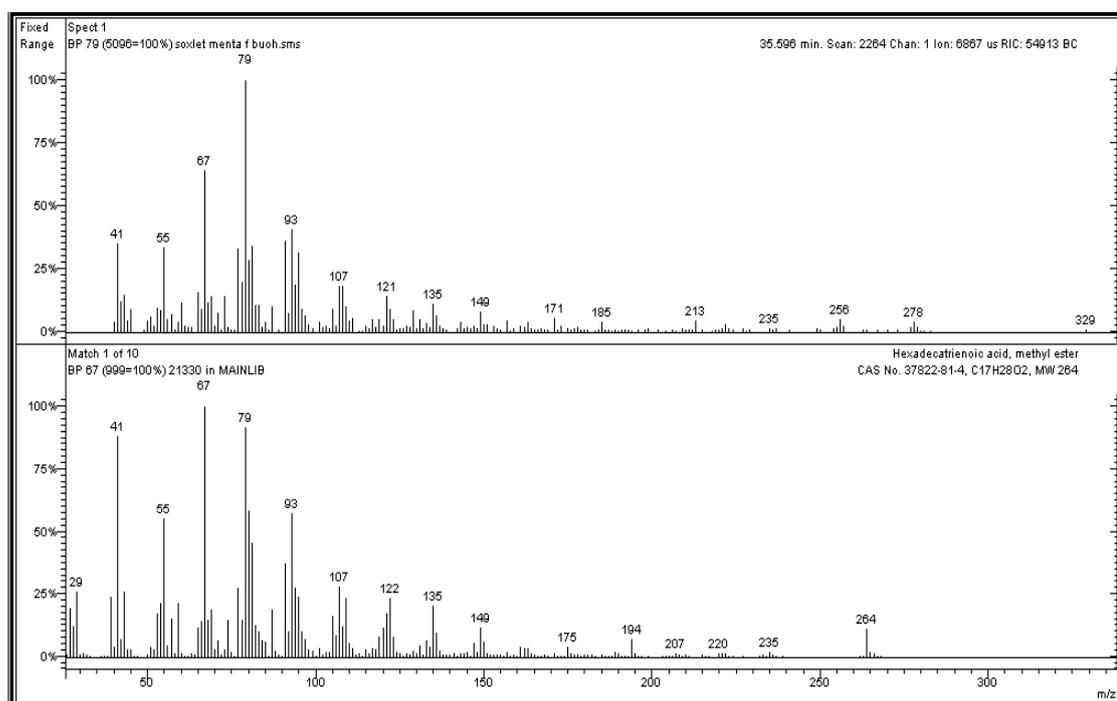


Figura 29: Espectro de massas do composto Ácido Hexadecatrienóico, presente no óleo de hortelã.

A Tabela 7 apresenta os componentes identificados nas amostras de óleo de hortelã, extraídas pelas diferentes técnicas de extração (ESC sem co-solvente e extração Soxhlet) e

condições, suas fórmulas químicas e pesos moleculares. As estruturas químicas dos mesmos são apresentadas no Apêndice IV.

Tabela 7: Identificação dos compostos do óleo de hortelã obtidos por ESC sem co-solvente e extração Soxhlet.

| COMPOSTO                              | FÓRMULA QUÍMICA                                | PESO MOLECULAR (g/gmol) |
|---------------------------------------|--|-------------------------|
| Diacetona                             | C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> O <sub>2</sub>  | 116                     |
| Piranona                              | C <sub>6</sub> H <sub>6</sub> O <sub>4</sub>   | 144                     |
| 1-Isopropenil-3-propenilciclopentano  | C <sub>11</sub> H <sub>18</sub>                | 150                     |
| Carvona                               | C <sub>10</sub> H <sub>14</sub> O              | 150                     |
| Carveol                               | C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O              | 152                     |
| Pulegona                              | C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O              | 152                     |
| Cineol                                | C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O              | 154                     |
| Ciclohexanona,2-isopropil-2,5-dimetil | C <sub>11</sub> H <sub>20</sub> O              | 168                     |
| Acetato de Carveol                    | C <sub>12</sub> H <sub>18</sub> O <sub>2</sub> | 194                     |
| Calameneno                            | C <sub>15</sub> H <sub>22</sub>                | 202                     |
| β-Bourboneno                          | C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>                | 204                     |
| β-Elemeno                             | C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>                | 204                     |
| β-Cariofileno                         | C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>                | 204                     |
| (+) Epi-biciclosesquifelandreno       | C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>                | 204                     |
| β-Cubeneno                            | C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>                | 204                     |
| β-Chamigreno                          | C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>                | 204                     |
| Espatuleno                            | C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O              | 220                     |
| Óxido de Cariofileno                  | C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O              | 220                     |
| Cubenol                               | C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O              | 222                     |
| τ-Muuroleno                           | C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O              | 222                     |
| 3-Heptadecen-5-ino,(Z)                | C <sub>17</sub> H <sub>30</sub>                | 234                     |
| Ácido Palmítico                       | C <sub>16</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub> | 256                     |
| Ácido Hexadecatrienóico               | C <sub>17</sub> H <sub>28</sub> O <sub>2</sub> | 264                     |
| 4-Octadecenal                         | C <sub>18</sub> H <sub>34</sub> O              | 266                     |
| 1-Eicoseno                            | C <sub>20</sub> H <sub>38</sub>                | 278                     |
| 3-Eicoseno                            | C <sub>20</sub> H <sub>38</sub>                | 278                     |
| 9- Eicoseno                           | C <sub>20</sub> H <sub>38</sub>                | 278                     |
| Palmitato de Etil                     | C <sub>18</sub> H <sub>36</sub> O <sub>2</sub> | 284                     |
| Fitol                                 | C <sub>20</sub> H <sub>40</sub> O              | 296                     |
| Linolenato de Etil                    | C <sub>20</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub> | 306                     |
| Palmitato de Butil                    | C <sub>20</sub> H <sub>40</sub> O <sub>2</sub> | 312                     |

A estrutura química dos óleos essenciais é composta por elementos básicos como o carbono, o oxigênio e o hidrogênio. No entanto, sua classificação química é difícil, visto

serem formados por uma mistura de diversas moléculas orgânicas, com propriedades diferentes, como: hidrocarbonetos, álcoois (bactericidas, energizantes, revitalizantes, diuréticos e antivirais), ésteres (espasmódicos, fungicidas, antiinflamatórios), aldeídos (antiinflamatórios, calmantes, sedativos e antivirais), cetonas (cicatrizantes, mucolíticos, dermatofílicos e lipofílicos), fenóis (bactericidas, antifúngicos, imunoestimulantes, revigorantes), entre outras. Nas plantas, os óleos apresentam-se em misturas de diferentes concentrações, tendo normalmente um composto majoritário (AGOSTINHO & NOGUEIRA, 2003).

Os monoterpenos são as menores moléculas que compõem os óleos essenciais, por este motivo penetram com extrema facilidade em todos os tecidos e células de nosso corpo e possuem uma poderosa ação solvente de lipídios (gorduras). Monoterpenos são agentes anti-tumor efetivos, não tóxicos para ingestão e que agem através de uma série de mecanismos de ação, vindo portanto a fazer parte de um amplo número de remédios naturais para o tratamento do câncer (ÓLEOS ESSENCIAIS CÍTRICOS. Acesso em 14/01/06). Na Tabela 7 podemos identificar a presença dos monoterpenos Carvona, Carveol e Cineol, entre outros. Em particular, monoterpenos oxigenados, por exemplo a Carvona, constituem-se em substâncias reconhecidamente importantes na indústria de alimentos, cosméticos e perfumaria (ANTUNES, 2005).

Os terpenos contendo oxigênio, como os sesquiterpenos Espatulenol, Óxido de Cariofileno e Cubenol (Tabela 7) geralmente têm maior valor de mercado que os hidrocarbonetos correspondentes, como o  $\beta$ -Cariofileno, o  $\beta$ -Elemeno e o  $\beta$ -Bourboneno (Tabela 7). Isto porque são intermediários sintéticos mais avançados, ou produtos finais com diferentes usos, seja em cosméticos, fragrâncias ou substratos para polímeros, entre outros (ANTUNES, 2005).

As substâncias identificadas no óleo de hortelã (*Mentha spicata* L) possuem propriedades de interesse, a seguir:

- Cineol: monoterpeno de grande interesse para as indústrias, principalmente as de perfumaria, alimentos e farmacêutica. Seu odor herbáreo auxilia nos problemas respiratórios, desinfectando vias respiratórias, estimulando a circulação (ALMEIDA et al, 2005).
- Carvona: veicula o cheiro de mentol, tem um sabor doce, mentolado e refrescante. É utilizada na indústria alimentícia, medicina alternativa e como flavorizante. Possui

propriedades antifúngica, inseticida e antimicrobiana (CARVALHO & FONSECA, 2006).

- Carveol: flavour formado pela hidroxilação do Limoneno, podendo ser oxidado à Carvona. Presente nas essências florais (OLSEN et al, 2004).
- Pulegona: cetona terpênica não saturada, com propriedades adstringente e desodorante. Reage quimicamente com algumas moléculas aromáticas neutralizando seu odor por transformá-las em moléculas não-aromáticas. Efeito calmante e relaxante muscular, utilizado para indigestão e dores estomacais (ABRAROMA. Acesso em 14/01/06).
- Espatulenol: propriedades antibacterianas e moderada atividade citotóxica (LIMBERGER et al, 2004).
- Ácido Palmítico: um dos ácidos graxos mais utilizados na fabricação de cremes de barbear, devido ao tamanho médio de sua cadeia, que proporciona ótima detergência e poder espumante. O Ácido Palmítico é empregado em formulações de cremes e emulsões cosméticas, dando consistência e um toque aveludado a pele (ABOISSA ÓLEO VEGETAIS. Acesso em 14/01/06).
- Fitol: constituinte da molécula de clorofila, pode ser absorvido pela corrente sanguínea e exercer importantes funções no metabolismo lipídico e na regulação de processos metabólicos (SIQUEIRA et al, 2003).

A Tabela 8 contém a composição química (%) dos extratos de hortelã obtidos por diferentes condições de extração e técnicas de processo. As amostras de ESC foram extraídas num tempo total de 3 horas e vazão de 5g/min. A composição foi determinada com base na área dos picos dos compostos identificados pela análise cromatográfica.

Tabela 8: Composição química (%) dos extratos de hortelã obtidos por ESC e extração Soxhlet.

| COMPOSTO                              | ESC          |              |              |              |              |              | Soxhlet  |               |         |                  |        |
|---------------------------------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|----------|---------------|---------|------------------|--------|
|                                       | 100 bar/40°C | 100 bar/50°C | 200 bar/40°C | 200 bar/50°C | 300 bar/30°C | 300 bar/50°C | n-Hexano | Diclorometano | Butanol | Acetato de Etila | Etanol |
| Diacetona                             | -            | -            | -            | -            | -            | -            | -        | -             | 0,706   | -                | -      |
| Pirrona                               | -            | -            | -            | -            | -            | -            | -        | -             | 0,519   | -                | -      |
| 1-Isopropenil-3-propenilciclopentano  | 1,016        | 1,455        | 1,544        | 2,165        | 1,532        | 1,669        | 1,827    | 1,760         | 1,399   | 1,151            | 1,520  |
| Carvona                               | 15,789       | 24,838       | 25,376       | 36,158       | 23,886       | 27,967       | 44,130   | 34,985        | 34,020  | 36,748           | 41,606 |
| Carveol                               | 1,088        | 1,551        | 1,494        | 2,105        | 1,618        | 1,702        | 1,735    | 1,423         | 1,352   | 1,386            | 1,512  |
| Pulegona                              | 3,434        | 5,375        | 5,428        | 8,215        | 5,240        | 6,033        | 9,703    | 8,309         | 6,923   | 8,134            | 9,438  |
| Cineol                                | -            | -            | -            | -            | -            | -            | 1,228    | 1,119         | -       | 0,773            | 0,781  |
| Ciclohexanona,2-isopropil-2,5-dimetil | -            | -            | 0,589        | -            | -            | 0,669        | -        | 0,975         | 0,638   | 0,728            | 0,730  |
| Acetato de Carveol                    | -            | -            | -            | -            | -            | -            | -        | 0,493         | -       | 0,432            | -      |
| Calameneno                            | 1,384        | 1,553        | 1,412        | 1,718        | 1,551        | 1,502        | 1,354    | 1,099         | 1,038   | 1,089            | 1,132  |
| $\beta$ -Bourboneno                   | 0,912        | 1,241        | 1,182        | 1,873        | 1,282        | 1,382        | 1,551    | 1,402         | 0,949   | 1,452            | 1,326  |
| $\beta$ -Elemeno                      | 0,695        | 0,840        | 0,740        | -            | -            | 0,922        | -        | 0,710         | 0,645   | 1,068            | -      |
| $\beta$ -Cariofileno                  | 1,642        | 2,173        | 2,125        | 3,213        | 2,371        | 2,429        | 1,260    | 2,109         | 2,482   | 1,777            | 2,002  |
| (+) Epi-biciclosesquifelandreno       | 1,403        | 1,790        | 1,568        | 2,402        | 1,900        | 1,799        | 1,583    | 1,585         | 0,642   | 1,821            | 0,982  |
| $\beta$ -Cubeneno                     | 1,085        | 1,370        | 1,083        | 1,657        | 1,324        | 1,261        | -        | 1,055         | -       | 0,953            | -      |
| $\beta$ -Chamigreno                   | -            | 0,810        | 0,673        | -            | -            | 0,790        | -        | -             | -       | 0,531            | -      |
| Espatuleno                            | 2,268        | 2,578        | 1,720        | 2,340        | 2,281        | 1,965        | 2,191    | 1,440         | 1,311   | 1,367            | 1,537  |
| Óxido de Cariofileno                  | 0,901        | 1,126        | 0,718        | -            | -            | 0,842        | 1,783    | -             | 0,501   | 0,675            | 0,704  |
| Cubeno                                | 1,423        | 1,739        | 1,752        | 1,453        | 1,362        | 1,287        | 1,279    | 0,921         | 0,907   | 1,213            | 0,977  |
| $\tau$ -Miuroleno                     | 2,766        | 1,761        | 1,179        | 1,467        | 1,365        | 1,311        | -        | 0,531         | 0,806   | 0,814            | 1,078  |
| 3-Heptadecen-5-ino,(Z)                | 1,327        | 1,394        | 1,059        | -            | 1,212        | 0,988        | -        | 0,643         | 0,760   | 0,643            | 0,856  |
| Ácido Palmítico                       | 11,800       | 6,588        | 6,357        | 4,609        | 6,288        | 7,351        | 2,272    | 1,857         | 3,417   | 1,714            | 1,024  |
| Ácido Hexadecatrienóico               | 38,558       | 29,956       | 32,484       | 22,379       | 33,387       | 30,578       | 15,729   | 5,837         | 14,434  | 8,039            | 5,024  |
| 4-Octadecenal                         | -            | -            | -            | -            | -            | -            | -        | -             | -       | -                | 5,582  |
| 1-Eicoseno                            | 3,808        | 3,749        | 4,043        | 1,483        | 5,593        | 1,015        | 4,191    | 17,416        | 12,205  | 11,770           | 8,083  |
| 3-Eicoseno                            | -            | -            | -            | -            | -            | -            | -        | 3,364         | 2,620   | 2,478            | 2,297  |
| 9-Eicoseno                            | -            | -            | -            | -            | -            | -            | -        | 3,274         | 4,295   | 3,951            | 3,434  |
| Palmitato de Etil                     | -            | -            | -            | -            | -            | -            | -        | -             | -       | -                | 0,756  |
| Fitol                                 | 7,976        | 8,114        | 7,474        | 6,761        | 7,806        | 6,537        | 6,678    | 4,065         | 4,686   | 5,078            | 4,607  |
| Linolenato de Etil                    | -            | -            | -            | -            | -            | -            | -        | -             | 2,000   | -                | -      |
| Palmitato de Butil                    | 0,726        | -            | -            | -            | -            | -            | -        | -             | 0,742   | -                | -      |
| % Compostos identificados             | 100,0        | 100,0        | 100,0        | 100,0        | 100,0        | 100,0        | 98,5     | 96,4          | 100,0   | 95,8             | 97,0   |

Pela Tabela 8 podemos observar que os compostos Diacetona, Cineol e Piranona foram extraídos somente com os solventes orgânicos da extração Soxhlet. A Pulegona e a Carvona foram obtidos por ambas as técnicas de extração, embora tenham se pronunciado mais na Soxhlet. O composto 1-Eicoseno foi extraído por ambas as técnicas, já o 3-Eicoseno e o 9-Eicoseno, da mesma família, não foram extraídos por ESC e nem pelo n-hexano na extração Soxhlet. O Fitol e o Ácido Hexadecatrienóico foram extraídos em maior concentração na ESC.

Ainda pela Tabela 8, podemos avaliar o efeito da temperatura, pressão e densidade do CO<sub>2</sub> na composição dos extratos. O dióxido de carbono é um solvente seletivo, capaz de extrair componentes lipofílicos de baixo peso molecular e com propriedades terapêuticas (CATCHPOLE et al, 2002). Em altas massas moleculares, a influência da parte apolar das moléculas, que é proporcional ao peso molecular, domina a solubilidade, enquanto em baixas massas moleculares, a influência dos grupos funcionais domina a solubilidade (BRUNNER, 1994).

O aumento da pressão a temperatura constante aumenta a densidade do CO<sub>2</sub> e o seu poder de solubilização. Na temperatura de 40°C e 100 bar, os compostos identificados apareceram em menores concentrações do que em pressões maiores, com exceção de alguns poucos, como o Ácido Palmítico, que teve sua concentração diminuída em quase 50% com o aumento da pressão para 200 bar, e o Ácido Hexadecatrienóico, que também foi mais extraído a 100 bar. Para os demais compostos, o aumento da pressão e conseqüente aumento da densidade do solvente aumentou a concentração dos compostos extraídos. No entanto, o emprego da pressão de 200 bar não permitiu a extração dos sesquiterpenos  $\beta$ -Elemeno,  $\beta$ -Cariofileno e Óxido de Cariofileno. Os sesquiterpenos são uma das classes de substâncias que mais apresentam atividade antimicrobiana (ATIVIDADE ANTIMICROBIANA. Acesso em 15/01/06). O Ácido Palmítico foi mais extraído a 300 bar e os sesquiterpenos Cubenol, Espatuleno,  $\tau$ -Muuroleno e o diterpeno Fitol foram extraídos em maior quantidade na pressão de 100 bar.

O aumento na pressão leva a uma diminuição na extração de compostos voláteis (monoterpenos oxigenados) e a um aumento na extração de compostos não-voláteis, o que pode causar uma diminuição no rendimento dos compostos voláteis, mas não na área total dos picos, devido à extração de compostos não-voláteis sob essas condições de operação (DIAZ-MAROTO et al, 2002). Pela Figura 30 podemos observar o efeito da pressão sobre dois compostos específicos, a Carvona e o Ácido Hexadecatrienóico.

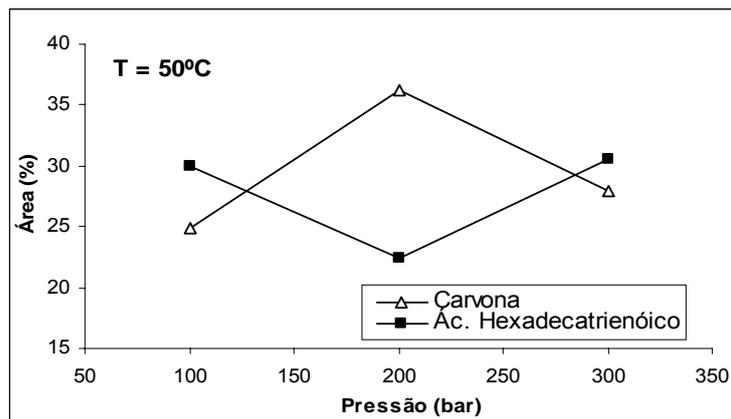


Figura 30: Efeito da pressão sobre a extração dos compostos Carvona e Ácido Hexadecatrienóico, a 50°C.

Na temperatura de 50°C, a Carvona teve sua extração máxima em 200 bar, ao contrário do Ácido Hexadecatrienóico, que foi extraído em menor concentração. Isso mostra que a pressão pode ser determinante para a extração de compostos de interesse.

Na avaliação do efeito da temperatura a 200 bar, percebemos que o perfil de composição dos extratos é semelhante, a diferença está na quantidade dos compostos extraídos, que é aumentada com o aumento da temperatura, com exceção dos compostos 1-Eicoseno e o Ácido Hexadecatrienóico, que tiveram sua concentração diminuída com o aumento da temperatura, bem como com o aumento da pressão, indicando que os mesmos devem ser extraídos em condições mais amenas, de menores temperaturas e pressões. A Figura 31 mostra o efeito da temperatura sobre a extração dos compostos Carvona e Ácido Hexadecatrienóico.

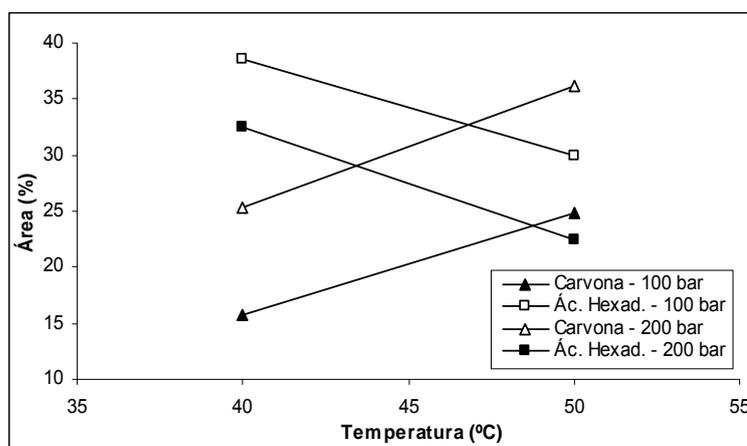


Figura 31: Efeito da temperatura sobre a extração da Carvona e Ácido Hexadecatrienóico.

O processo de extração supercrítica simples, constituída de extração com CO<sub>2</sub> supercrítico e um estágio de separação subcrítico não permite uma extração seletiva em muitos casos devido à extração simultânea de compostos indesejados. Esta é uma situação típica de ESC de óleos essenciais de matéria-prima herbácea. Mesmo que o processo seja conduzido dentro das condições para produzir um óleo de composição ótima, as ceras cuticulares são co-extraídas por causa do seu caráter lipofílico e a sua localização na superfície da folha (KHAJEH et al, 2004)

Para se alcançar uma grande concentração de compostos de baixa volatilidade no gás supercrítico, a densidade e temperatura do sistema devem ser as mais altas possíveis. No entanto, na prática, estes parâmetros são limitados devido à estabilidade dos compostos contra temperaturas elevadas e aos custos de investimento em equipamentos para processos a alta pressão (BRUNNER, 1994).

### 5.7.2 Composição dos extratos obtidos com etanol (CS)

As Figuras 32 e 33 apresentam um cromatograma do óleo de hortelã obtido por ESC com CS e um espectro de massas de um composto identificado, o Fitol. Os cromatogramas obtidos nas demais condições encontram-se no Apêndice III.

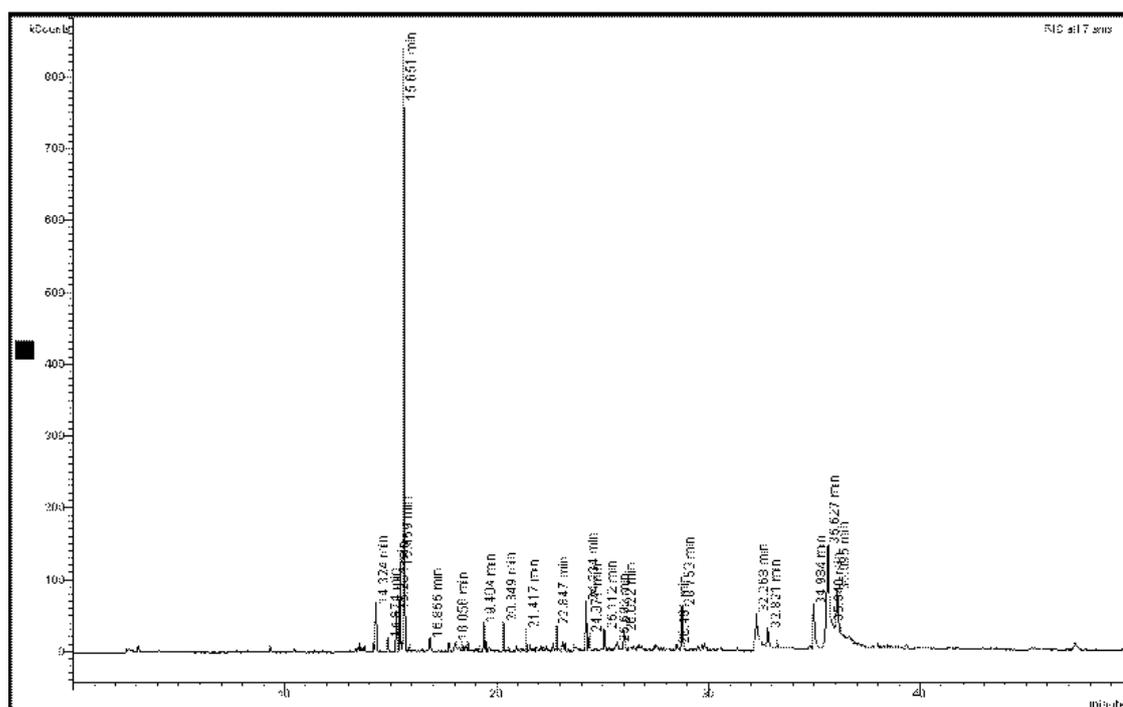


Figura 32: Cromatograma do óleo de hortelã obtido por ESC a 200 bar e 50°C e 20% de etanol

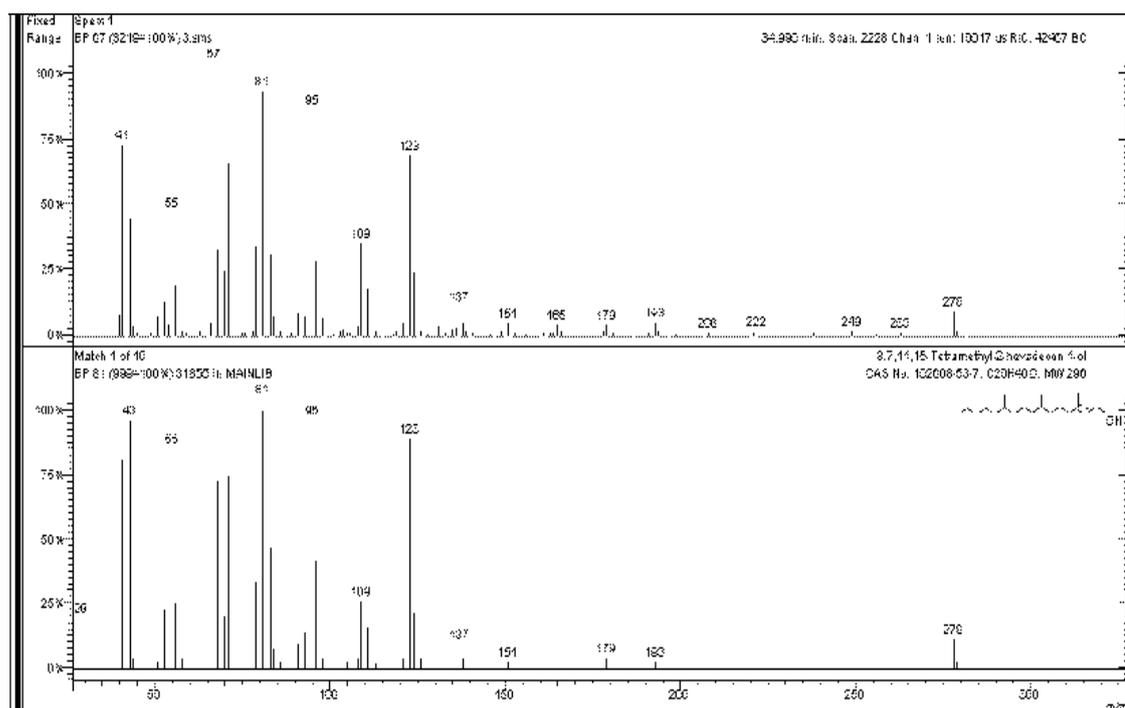


Figura 33: Espectro de massa do composto Fitol, identificado no óleo de hortelã

A Tabela 9 apresenta os componentes identificados no óleo de hortelã com o uso do co-solvente, nas diferentes condições, suas fórmulas químicas e pesos moleculares. As estruturas químicas dos mesmos são apresentadas no Apêndice IV.

Tabela 9: Identificação dos compostos do óleo de hortelã obtidos por ESC com co-solvente

| COMPOSTO                                       | FÓRMULA QUÍMICA                                   | PESO MOLECULAR (g/gmol) |
|--|---|-------------------------|
| Cineol   | C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O                 | 154                     |
| Carvona  | C <sub>10</sub> H <sub>14</sub> O                 | 150                     |
| Ácido benzenopropanóico                        | C <sub>9</sub> H <sub>10</sub> O <sub>2</sub>     | 150                     |
| Carveol  | C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O                 | 152                     |
| Pulegona                                       | C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O                 | 152                     |
| Dihidrocarveol                                 | C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O                 | 154                     |
| Benzenopropanoato de Etil                      | C <sub>11</sub> H <sub>14</sub> O <sub>2</sub>    | 178                     |
| Calameneno                                     | C <sub>15</sub> H <sub>22</sub>                   | 202                     |
| β-Bourboneno                                   | C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>                   | 204                     |
| β-Elemeno                                      | C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>                   | 204                     |
| Humuleno                                       | C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>                   | 204                     |
| (+)-Epi-biciclosesquifelandreno                | C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>                   | 204                     |
| τ-Muuroleno                                    | C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>                   | 204                     |
| β-Cariofileno                                  | C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>                   | 204                     |
| Ácido Benzenobutanóico, 2,5-dimetil-gamma-oxo  | C <sub>12</sub> H <sub>14</sub> O <sub>3</sub>    | 206                     |
| n-Butil Benzenosulfonamida                     | C <sub>10</sub> H <sub>15</sub> NO <sub>2</sub> S | 213                     |
| Espatuleno                                     | C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O                 | 220                     |
| Óxido de Cariofileno                           | C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O                 | 220                     |
| Cubenol  | C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O                 | 222                     |
| α-Cadinol                                      | C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O                 | 222                     |
| Fenantreno, 9-butyl-1,2,3,4,5,6,7,8-octahidro- | C <sub>18</sub> H <sub>26</sub>                   | 242                     |
| Ácido Palmítico                                | C <sub>16</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>    | 256                     |
| 4-Octadecenal                                  | C <sub>18</sub> H <sub>34</sub> O                 | 266                     |
| 1-Eicoseno                                     | C <sub>20</sub> H <sub>38</sub>                   | 278                     |
| 9- Eicoseno                                    | C <sub>20</sub> H <sub>38</sub>                   | 278                     |
| Palmitato de Etil                              | C <sub>18</sub> H <sub>36</sub> O <sub>2</sub>    | 284                     |
| Fitol  | C <sub>20</sub> H <sub>40</sub> O                 | 296                     |
| Linolenato de Etil                             | C <sub>20</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>    | 306                     |
| Palmitato de Butil                             | C <sub>20</sub> H <sub>40</sub> O <sub>2</sub>    | 312                     |
| 6,9,12,15-Ácido Docosatetraenoico, metil ester | C <sub>23</sub> H <sub>38</sub> O <sub>2</sub>    | 346                     |

Sem levar em conta o aspecto quantitativo, as extrações com etanol permitiram a obtenção de compostos diferentes daqueles obtidos com CO<sub>2</sub> supercrítico puro, como o Dihidrocarveol, o Ácido Benzenopropanóico, o Humuleno, α-Cadinol, entre outros.

Dentre eles podemos destacar as seguintes substâncias:

- Dihidrocarveol: componente de perfumes, frequentemente utilizado como flavorizante em composições de hortelã, pimenta e outras especiarias (ABRAROMA. Acesso em 14/01/06).
- Humuleno: tem ação antiinflamatória, utilizado no tratamento de tendinite crônica e dores miofasciais (musculares) (PHYTOMÉDICA. Acesso em 14/01/06).
- $\alpha$ -Cadinol: possui valor comercial para as indústrias de cosméticos e farmacêutica (VALLILO et al, 2005).

A Tabela 10 contém a composição química (%) dos extratos de hortelã obtidos por ESC com 20% de etanol e diferentes condições de extração. A composição foi determinada com base na área dos picos dos compostos identificados pela análise cromatográfica.

Tabela 10: Composição química (%) dos extratos de hortelã obtidos por ESC com 20% de etanol.

| COMPOSTO   | ESC<br>20% Etanol |              |              |              |
|--|-------------------|--------------|--------------|--------------|
|  | 150 bar/40°C      | 200 bar/40°C | 200 bar/50°C | 230 bar/50°C |
| Cineol   | -                 | 0,428        | -            | -            |
| Dihidrocarveol                                   | 3,533             | 2,090        | 3,081        | 1,754        |
| Carveol  | 3,029             | 2,568        | 3,749        | 2,524        |
| Pulegona   | 6,900             | 4,268        | 5,020        | 3,965        |
| Carvona  | 49,762            | 27,547       | 41,390       | 29,211       |
| Ácido benzenopropanóico                          | -                 | -            | 0,651        | -            |
| Benzenopropanoato de Etil                        | -                 | -            | -            | -            |
| β-Bourboneno                                     | 1,736             | 1,016        | 1,583        | 1,067        |
| β-Elemento                                       | -                 | -            | -            | -            |
| Humuleno   | 2,801             | 1,289        | 2,031        | 1,409        |
| (+)-Epi-biciclosesquifelandreno                  | -                 | 0,909        | 1,239        | 0,931        |
| τ-Muroleno                                       | -                 | -            | -            | -            |
| Calameneno                                       | 2,387             | 0,925        | 1,478        | 1,131        |
| β-Cariofileno                                    | -                 | -            | -            | -            |
| Espatuleno                                       | 2,069             | 1,473        | 2,610        | 1,256        |
| Óxido de Cariofileno                             | -                 | 0,725        | 1,270        | 0,705        |
| Cubenol  | -                 | 1,030        | 1,231        | 0,902        |
| Ácido Benzenobutanóico, 2,5-dimetil-gamma-oxo    | -                 | -            | 0,748        | -            |
| α-Cadinol  | -                 | 1,225        | 1,289        | 0,661        |
| n-Butil Benzenosulfonamida                       | 5,514             | 2,125        | 4,253        | 2,424        |
| 1-Eicoseno                                       | 3,969             | 1,602        | -            | 1,252        |
| 9- Eicoseno                                      | -                 | -            | -            | 1,017        |
| Ácido Palmítico                                  | -                 | 8,809        | 4,147        | 1,213        |
| Palmitato de Etil                                | -                 | 0,576        | 1,308        | 0,984        |
| Fenantreno, 9-butiril-1,2,3,4,5,6,7,8-octahidro- | -                 | -            | -            | 0,898        |
| Fitol  | 2,647             | 4,723        | 4,157        | 11,132       |
| 6,9,12,15-Ácido Docosatetraenoico, metil ester   | 13,835            | 33,401       | 18,766       | 17,495       |
| Palmitato de Butil                               | -                 | 2,817        | -            | 11,679       |
| % Compostos identificados                        | 98,2              | 99,5         | 100,0        | 93,6         |

Nas extrações com etanol, também é possível se observar o efeito da pressão e temperatura sobre a composição do óleo de hortelã. Segundo a Tabela 10, na temperatura de 40°C, o aumento da pressão prejudicou a extração da maioria dos compostos, indicando que os mesmos são extraídos em maior concentração em pressões mais baixas. No entanto, o aumento da pressão para 200 bar permitiu a extração de compostos que não foram extraídos a 150 bar, como o Óxido de Cariofileno, Cubenol, Pamitato de Etil, Palmitato de Butil, entre outros. Para a temperatura de 50°C, o aumento da pressão também prejudicou a extração da maioria dos compostos, provando mais uma vez que esses compostos são sensíveis ao

aumento da pressão. No entanto, o Fitol e o Palmitato de Butil são melhor extraídos em temperaturas e pressões mais altas.

Além do efeito da temperatura e pressão de operação, avaliamos também o efeito da concentração de CS sobre a extração dos compostos do óleo de hortelã. A Tabela 11 contém a composição química (%) dos extratos em função da concentração de etanol.

Tabela 11: Composição química (%) dos compostos identificados em função da concentração de etanol.

| COMPOSTO   | 200 bar/40°C            |        |
|--|-------------------------|--------|
|  | CONCENTRAÇÃO ETANOL 15% | 20%    |
| Cineol   | 1,278                   | 0,428  |
| Dihidrocarveol                                   | 3,285                   | 2,090  |
| Carveol  | 3,817                   | 2,568  |
| Pulegona   | 7,726                   | 4,268  |
| Carvona  | 46,575                  | 27,547 |
| Ácido benzenopropanóico                          | 1,234                   | -      |
| Benzenopropanoato de Etil                        | -                       | -      |
| β-Bourboneno                                     | 1,696                   | 1,016  |
| β-Elemeno  | 0,730                   | -      |
| Humuleno   | 2,340                   | 1,289  |
| (+)-Epi-biciclosesquifelandreno                  | 1,304                   | 0,909  |
| τ-Muroleno                                       | -                       | -      |
| Calameneno                                       | 1,276                   | 0,925  |
| β-Cariofileno                                    | -                       | -      |
| Espatulenol                                      | 1,645                   | 1,473  |
| Óxido de Cariofileno                             | 0,898                   | 0,725  |
| Cubenol  | 1,103                   | 1,030  |
| Ácido Benzenobutanóico, 2,5-dimetil-gamma-oxo    | -                       | -      |
| α-Cadinol  | 1,136                   | 1,225  |
| n-Butil Benzenosulfonamida                       | 1,551                   | 2,125  |
| 1-Eicoseno                                       | 1,711                   | 1,602  |
| 9-Eicoseno                                       | -                       | -      |
| Ácido Palmítico                                  | 4,478                   | 8,809  |
| Palmitato de Etil                                | -                       | 0,576  |
| Fenantreno, 9-butiril-1,2,3,4,5,6,7,8-octahidro- | -                       | -      |
| Fitol  | 2,437                   | 4,723  |
| 6,9,12,15-Ácido Docosatetraenoico, metil ester   | 13,781                  | 33,401 |
| Palmitato de Butil                               | -                       | 2,817  |
| Linolenato de Etil                               | -                       | -      |
| 4-Octadecenal                                    | -                       | -      |

Para a maioria dos compostos, o aumento na concentração de etanol prejudicou a extração dos compostos, com exceção apenas do Ácido Palmítico, Palmitato de Etil, Fitol, Palmitato de Butil, n-Butil Benzenosulfonamida e o 6, 9, 12, 15- Ácido Docosatetraenoico, que foram mais extraídos na concentração de 20% de etanol. O aumento na porcentagem de etanol aumentou o rendimento da ESC devido ao aumento da solubilidade dos compostos no solvente, no entanto prejudicou a extração de alguns compostos polares.

### 5.7.3 Influência do tempo de extração na composição dos extratos

Através da análise das curvas de extração foi possível selecionar uma amostra representativa de cada uma das etapas (CER, FER e difusional) para a realização da análise cromatográfica.

Alguns compostos presentes na amostra podem se esgotar com o decorrer da extração, podendo também ocorrer a solubilização de outras substâncias presentes no sólido com o aumento do tempo de contato entre as fases. Para analisar a influência do tempo de extração na composição dos extratos de hortelã, foram realizadas duas extrações na condição de 200 bar e 40°C, uma com CO<sub>2</sub> supercrítico puro e outra com 20% de etanol. Foram coletadas amostras nos intervalos de tempo: 0-60 min, 60-120 min e 120-240 min.

A Tabela 12 contém a composição química (%) dos principais componentes identificados nos extratos de hortelã obtidos por ESC a 200 bar e 40°C e 20% de etanol, em função do tempo de extração. A composição foi determinada com base na área dos picos dos compostos identificados pela análise cromatográfica.

Tabela 12: Composição química (%) dos principais componentes identificados nos extratos de hortelã obtidos por ESC a 200 bar e 40°C e 20% de etanol, em função do tempo de extração.

| COMPOSTO                        | ESC 200 bar 40°C     |        |         |                              |        |         |
|---------------------------------|----------------------|--------|---------|------------------------------|--------|---------|
|                                 | CO <sub>2</sub> puro |        |         | CO <sub>2</sub> + 20% Etanol |        |         |
|                                 | 0-60                 | 60-120 | 120-180 | 0-60                         | 60-120 | 120-180 |
| Cineol                          | -                    | -      | -       | -                            | 1,493  | -       |
| Carveol                         | 4,977                | 5,491  | 4,080   | 4,377                        | 4,897  | 3,299   |
| Pulegona                        | 8,632                | 6,738  | 5,534   | 10,422                       | 10,477 | 6,709   |
| Carvona                         | 60,849               | 52,027 | 39,419  | 69,465                       | 72,284 | 56,649  |
| β-Bourboneno                    | 1,959                | 3,690  | 1,722   | 1,807                        | 1,245  | -       |
| (+)-Epi-biciclosesquifelandreno | 1,741                | 1,839  | 1,601   | 1,186                        | -      | -       |
| Calameneno                      | 1,934                | 2,399  | 1,798   | 1,372                        | -      | -       |
| Espatulenol                     | 3,343                | 3,769  | 3,589   | -                            | 1,329  | 2,523   |
| Fitol                           | -                    | 1,673  | 5,066   | -                            | -      | 2,466   |

Analisando a Tabela 12 observa-se que a maioria dos compostos são extraídos nas três frações de tempo, embora sejam extraídos em maior concentração no primeiro e segundo intervalos de tempo (0-60 min e 60-120 min). Nas ESC com CO<sub>2</sub> puro, o Fitol só foi extraído nos segundo e terceiro intervalo de tempo, enquanto que na presença do etanol o mesmo só foi extraído no terceiro intervalo, na etapa de taxa quase nula de extração. Nas extrações com CS,

os compostos (+) Epi- biciclosesquefelandreno e Calameneno se esgotam logo no primeiro intervalo, enquanto que o  $\beta$ -Bourboneno se esgota no segundo intervalo de tempo. O Epatulenol só é extraído a partir do segundo intervalo e o Cineol é somente extraído na presença do CS.

Alguns compostos como a Carvona e a Pulegona tiveram sua concentração aumentada na presença do CS, enquanto outros se mantiveram mais ou menos na mesma concentração e outros até diminuíram em relação à ESC com CO<sub>2</sub> puro, em cada intervalo de tempo. No entanto, o tempo de extração mostra que a maioria dos componentes são mais extraídos nos dois primeiros intervalos de extração, tendo sua quantidade diminuída no terceiro intervalo de tempo (120-180 min). As Figuras 34, 35 e 36 mostram a variação no comportamento dos compostos Carvona, Pulegona e Epatulenol, respectivamente, com o tempo de extração.

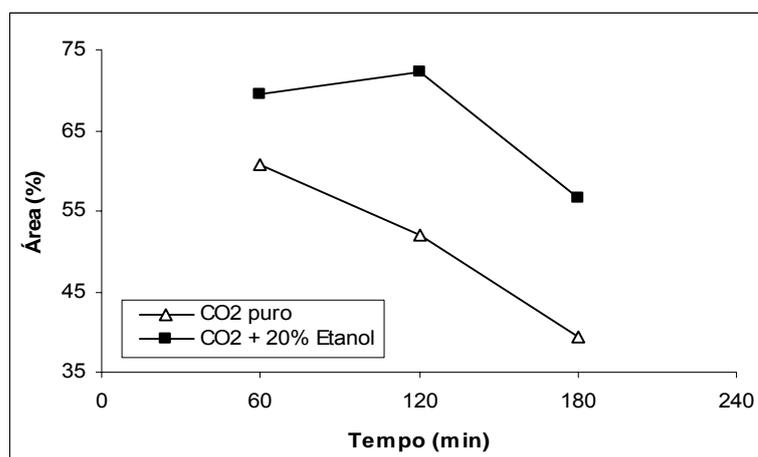


Figura 34: Extração do composto Carvona, em função do tempo de extração.

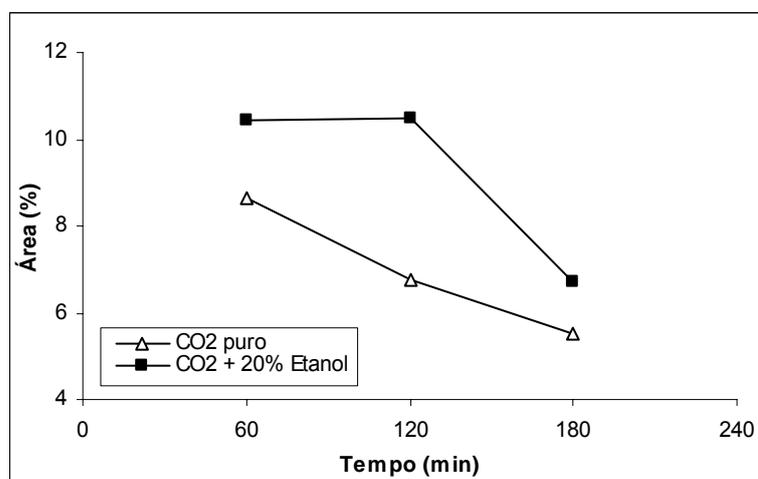


Figura 35: Extração do composto Pulegona, em função do tempo de extração.

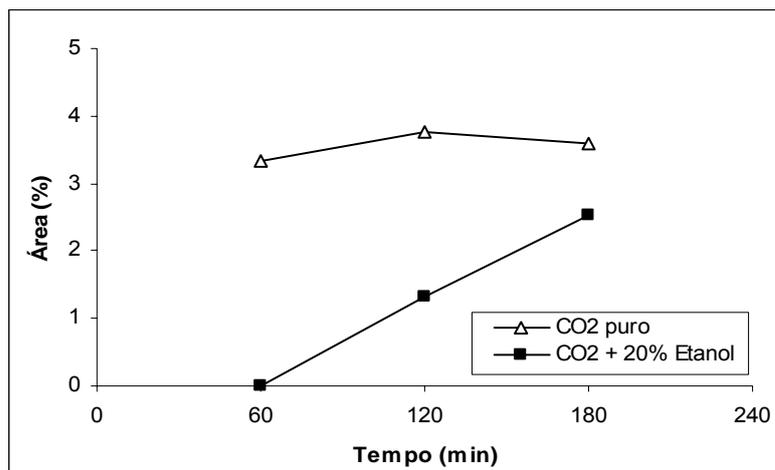


Figura 36: Extração do composto Espatulenoil, em função do tempo de extração

Pela análise das Figuras acima, verificamos que para a Carvona e Pulegona, a presença do CS aumentou a concentração dos compostos, em relação à ESC com CO<sub>2</sub> puro, ao contrário do Espatulenoil. Além disso, esses compostos tiveram suas concentrações diminuídas com o tempo, enquanto o Espatulenoil só foi extraído a partir do segundo intervalo de tempo (60-120 min). Assim verificamos a importância da avaliação do comportamento de compostos de interesse econômico, não somente com as condições de processo, mas também em função do tempo de extração. Além disto é importante levar em consideração os outros compostos não detectados nesta análise e que podem interferir na extração de compostos de interesse.

## 5.8 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

A atividade antioxidante do óleo de hortelã foi avaliada pelo método do DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil) conforme descrito no item 4.8.1. Os resultados de atividade antioxidante (AA%) dos extratos foram comparados entre as diferentes técnicas de extração empregadas: extração Soxhlet, hidrodestilação e extração supercrítica com e sem co-solvente.

### 5.8.1 Método do DPPH

O DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil) é um radical livre que, quando recebe um elétron (ou hidrogênio) na presença de um antioxidante, torna-se um composto mais estável,

diminuindo sua absorvância. Este processo pode ser notado visualmente pela descoloração da solução etanólica de DPPH com extrato.

Quanto maior o decréscimo da absorvância, mais potente é a atividade antiradical do composto. A Tabela 13 apresenta os resultados de atividade antioxidante (AA%) máxima e os valores de EC<sub>50</sub> (µg/ml) dos extratos de hortelã, obtidos para as condições de extração supercrítica com e sem co-solvente e extração convencional. Os valores de EC<sub>50</sub> representam a concentração de extrato na qual uma atividade antioxidante (antiradical) de 50% é observada.

Tabela 13: Dados de atividade antioxidante máxima (AA%) e EC<sub>50</sub> (µg/ml) obtidos nas extrações supercrítica e convencional.

|                       |           | Extração Supercrítica       |                           |                 |                             | Extração Convencional |           |                             |
|-----------------------|-----------|-----------------------------|---------------------------|-----------------|-----------------------------|-----------------------|-----------|-----------------------------|
|                       |           | Sem co-solvente             |                           | Com co-solvente |                             |                       |           |                             |
| Condição<br>(bar/ °C) | AA<br>(%) | EC <sub>50</sub><br>(µg/ml) | Condição<br>(bar/ °C/%CS) | AA<br>(%)       | EC <sub>50</sub><br>(µg/ml) | Solvente              | AA<br>(%) | EC <sub>50</sub><br>(µg/ml) |
| 100/30                | 15,0      | > 250,0                     | 200/40/10%                | 70,3            | 123,4                       | Hidrodestilação       |           |                             |
| 100/40                | 26,7      | > 250,0                     | 200/40/15%                | 49,3            | > 250,0                     | Água                  | 20,3      | > 250,0                     |
| 100/50                | 18,7      | > 250,0                     | 200/40/20%                | 71,4            | 108,9                       | Extração Soxhlet      |           |                             |
| 200/30                | 20,9      | > 250,0                     | 150/40/20%                | 38,2            | > 250,0                     | n-Hexano              | 30,5      | > 250,0                     |
| 200/40                | 28,7      | > 250,0                     | 150/50/20%                | 84,4            | 43,35                       | Diclorometano         | 86,3      | 48,1                        |
| 200/50                | 14,2      | > 250,0                     | 200/40/20%                | 71,4            | 108,9                       | Acetato de etila      | 92,9      | 40,6                        |
| 300/30                | 22,6      | > 250,0                     | 200/50/20%                | 24,5            | > 250,0                     | Butanol               | 94,0      | 28,5                        |
| 300/40                | 24,9      | > 250,0                     | 230/40/20%                | 78,6            | 111,4                       | Etanol                | 95,2      | 27,4                        |
| 300/50                | 24,2      | > 250,0                     | 230/50/20%                | 35,3            | > 250,0                     | -                     | -         | -                           |

Segundo a Tabela 13, as atividades antioxidantes dos extratos obtidos por ESC com CO<sub>2</sub> puro foram maiores na temperatura de 40°C, a pressão constante, em relação às temperaturas de 30° e 50°C. Isso indica que provavelmente os compostos com maior atividade antioxidante são melhor extraídos na temperatura de 40°C. A tendência no aumento da atividade antioxidante em temperaturas menores sugere que os compostos dos extratos são termosensíveis (HU et al, 2005).

O efeito da temperatura sobre esses resultados parece ter exercido mais influência do que o da pressão, visto que a 100 bar e 40°C (26,7%), a atividade antioxidante foi maior do que em todas as outras condições, com exceção da condição de 200 bar e 40°C, que apresentou atividade antioxidante de 28,7%. Com relação aos valores de EC<sub>50</sub>, observa-se que

todas as condições apresentaram valores acima de 250µg/ml de extrato, ou seja, para inibir em 50% a atividade dos radicais livres, a quantidade de extrato necessária é superior a 250µg/ml.

Nas extrações convencionais, o resultado de atividade antioxidante da hidrodestilação (20,3%) está compreendido entre os resultados obtidos na ESC com CO<sub>2</sub> puro, que variaram do mínimo 14,2% para a condição de 200 bar e 50°C ao máximo 28,7% para a condição de 200 bar e 40°C. Já os resultados de atividade antioxidante dos extratos obtidos por extração Soxhlet foram maiores do que na hidrodestilação e na ESC sem e com co-solvente, nas diferentes condições e concentrações de etanol, com exceção da fração n-hexano, que é apolar, comprovando que a atividade antioxidante do óleo de hortelã se deve, principalmente, aos compostos polares. Isso se deve à maior quantidade de solvente e tempo de extração praticados na extração Soxhlet, que proporcionam uma maior solubilização de compostos polares presentes na matéria-prima, com maior atividade antioxidante que os compostos apolares. A quantidade de solvente utilizada nessa extração chega a ser 5 vezes maior que a utilizada na ESC com 20% de etanol.

Uma vez que o acetato de etila possui uma polaridade maior do que a do butanol, era de se esperar que sua AA % também fosse maior. Uma possível explicação para isto é a alta temperatura utilizada na extração Soxhlet, que pode ter degradado compostos com atividade antioxidante durante a evaporação com acetato de etila. Os compostos antioxidantes são termosensíveis, necessitando de um controle muito rígido da temperatura de extração para evitar sua degradação.

Com relação aos valores de EC<sub>50</sub> apresentados pelas extrações convencionais, observa-se que, com exceção do n-hexano e da água, os demais solventes apresentaram valores abaixo de 50µg/ml de extrato, ou seja, para inibir em 50% a atividade dos radicais livres, a quantidade de extrato necessária é inferior a 50µg/ml. Dessa forma, pode-se concluir que os antioxidantes ativos nesse teste são preferencialmente polares e, portanto, com maior afinidade pelos solventes polares. Comparando esses valores com os obtidos por ESC, conclui-se que os extratos obtidos por extração convencional são antioxidantes mais potentes.

Existe uma grande variação entre os diferentes compostos na sua efetividade como antioxidantes. Em vista da grande diversidade entre o número de ensaios (metodologias) antioxidantes disponíveis, os resultados de um único ensaio podem apenas sugerir a propriedade antioxidante do extrato. Logo, vários ensaios são necessários para assegurar uma melhor comparação de resultados e provar assim a propriedade antioxidante de um extrato (KANATT et al, 2005).

A Figura 37 mostra as curvas de AA% da hidrodestilação e extração Soxhlet para diferentes concentrações de extrato.

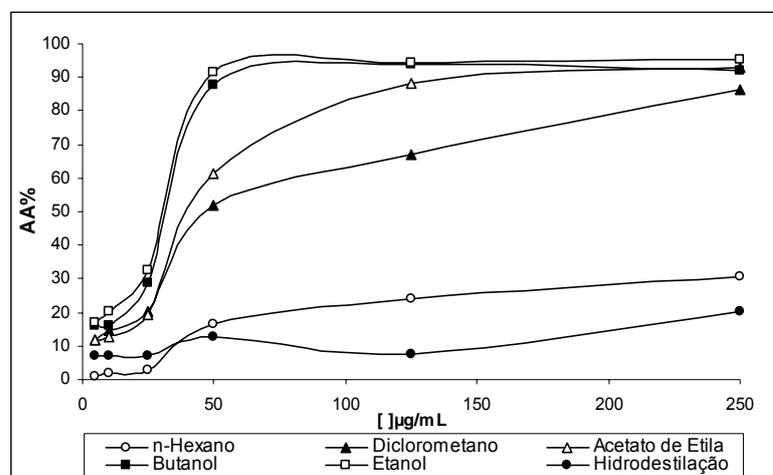


Figura 37: Atividade antioxidante do óleo de hortelã para hidrodestilação e extração Soxhlet.

As extrações com etanol, butanol e acetato de etila apresentaram os maiores valores de atividade antioxidante na extração Soxhlet, 95,2%, 94,0% e 92,9%, respectivamente. A família *Lamiaceae*, a qual pertence a *Mentha spicata* L, é rica em compostos fenólicos, daí suas propriedades antioxidantes (KANATT et al, 2005). Os extratos obtidos com etanol e butanol apresentaram uma atividade antioxidante máxima já na concentração de 50 µg/ml, se estabilizando em seguida, indicando que um aumento na concentração da solução não aumentará a sua atividade antioxidante. Já com o acetato de etila e o diclorometano, seus extratos obtiveram um aumento de atividade antioxidante gradativo até alcançarem os valores de 92,9% e 86,3%, respectivamente, na concentração de 250 µg/ml. Os extratos obtidos por n-hexano na extração Soxhlet e por hidrodestilação apresentarem as menores atividades antioxidantes. Embora a água seja altamente polar, ela não foi capaz de extrair os compostos com atividade antioxidante expressiva. A alta temperatura utilizada nessa extração (temperatura de ebulição da água, 100°C) por um longo tempo (240 min) pode ter degradado os compostos de interesse. O aquecimento prolongado em contato com a água pode ter conduzido à hidrólise de ésteres, polimerização de aldeídos ou decomposição de outros compostos (SANTOS et al, 2004).

A Figura 38 mostra as curvas de atividade antioxidante dos extratos obtidos com ESC sem o uso de CS. Os demais gráficos de concentração de extrato versus AA% para cada condição estão apresentados no Apêndice V.

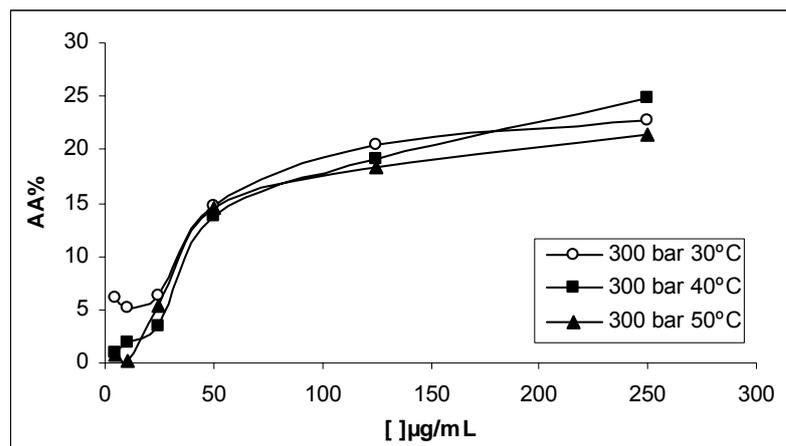


Figura 38: Atividade antioxidante do óleo de hortelã a 300 bar e 40° e 50°C

A presença de componentes diferentes com propriedades antioxidantes nas plantas dificulta a quantificação da atividade antioxidante de cada componente separadamente. Conseqüentemente, alguns estudos fazem uso de extrações intermediárias no processo para assegurar a máxima extração de antioxidantes de interesse (DJERIDANE et al, 2006).

A presença de etanol como co-solvente provocou um aumento na atividade antioxidante, em relação à ESC sem co-solvente. Esse aumento provocado pela adição do co-solvente indica que os compostos de maior atividade antioxidante são de natureza polar (HU et al, 2005). Baseado no mecanismo de redução da molécula de DPPH, como descrito na literatura, e no conhecimento prévio da química de algumas plantas, é possível dizer que a grande atividade antioxidante de alguns extratos polares se deve, pelo menos em parte, a presença de substâncias com o grupo hidroxila (-OH), como os flavonóides (SILVA et al, 2005).

As espécies de oxigênio reativo, como o radical superóxido ( $O_2^{\bullet-}$ ), o radical hidroxila ( $OH^{\bullet}$ ) e radicais instáveis induzem um processo oxidativo às biomoléculas, como os lipídios, ácidos nucleicos, proteínas e carboidratos. Está provado que a hortelã possui constituintes orgânicos ativos, como o Carveol, que apresenta propriedades benéficas devido à sua atividade antioxidante. Logo, compostos contendo grupos alcoólicos parecem ser os responsáveis pela atividade antioxidante dos extratos de hortelã (CHOUDHURY et al, 2006).

Os valores de  $EC_{50}$  apresentados pelos extratos obtidos com co-solvente foram menores a temperaturas e pressões mais baixas. A presença do co-solvente permitiu o aumento do poder antioxidante de determinados extratos devido à extração de compostos polares não extraídos na ESC com  $CO_2$  puro.

Pela Figura 39, podemos observar que a atividade antioxidante a 15% de etanol é menor do que a 10 e 20% de etanol, ou seja, inicialmente ela diminui com o aumento da concentração de co-solvente.

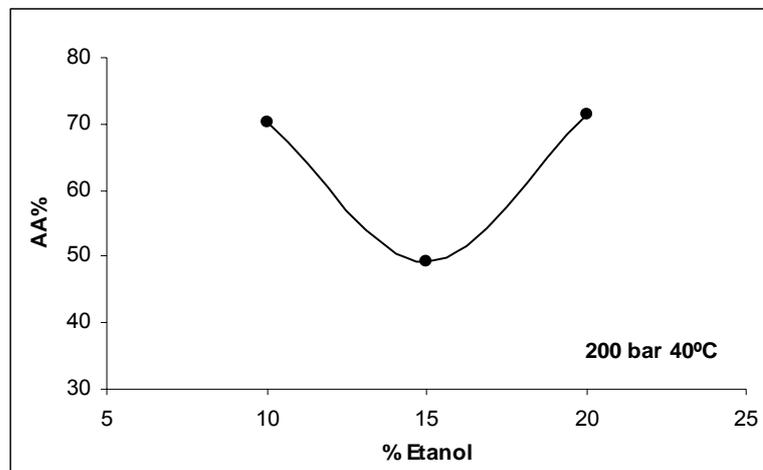


Figura 39: Atividade antioxidante do óleo de hortelã a 200 bar e 40°C e 10, 15 e 20% de etanol.

O efeito do co-solvente pode não variar linearmente com a sua concentração, o que mostra a importância das interações específicas entre o co-solvente e o soluto. Essas interações são, qualitativamente, entre parâmetros de solubilidade do co-solvente e os grupos funcionais do soluto (SAUCEAU et al, 2004). Nesse caso, as interações entre co-solvente e soluto foram capazes de aumentar o rendimento com a presença de CS, no entanto os compostos com maiores atividades antioxidantes não foram extraídos na concentração de 15% de etanol, diminuindo assim a atividade antioxidante do óleo de hortelã, nessa concentração, em relação ao emprego de 10 e 20% de etanol com CS.

A Figura 40 mostra a curva de atividade antioxidante dos extratos de hortelã obtidos a 200 bar e 40°C e concentrações de 10, 15 e 20% de etanol.

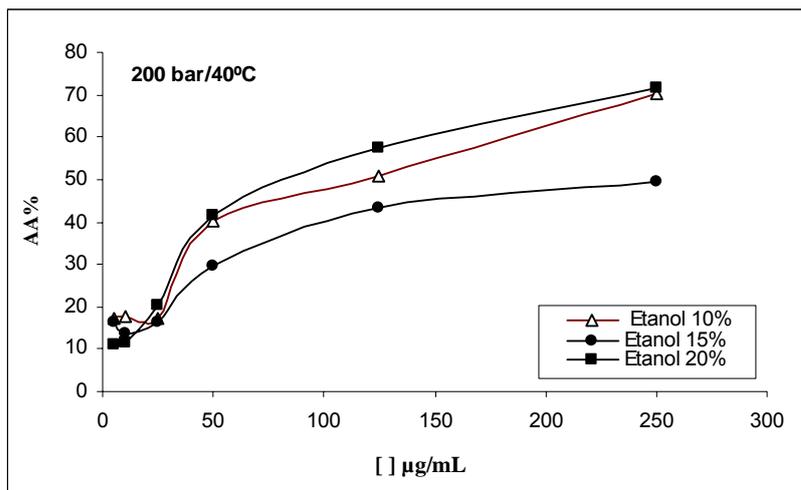


Figura 40: Curva de atividade antioxidante do extrato de hortelã segundo a concentração de co-solvente.

A relação entre atividade antioxidante e fenólicos totais mostra que estes não são os únicos responsáveis pela atividade antioxidante de um extrato. A diversidade e complexidade das misturas nos extratos das plantas dificultam a caracterização dos compostos e a determinação da sua atividade antioxidante. Cada erva contém diferentes compostos fenólicos com diferentes atividades antioxidantes. O sinergismo entre os antioxidantes numa mistura torna a atividade antioxidante dependente da concentração, bem como da estrutura e interação entre os mesmos (DJERIDANE et al, 2006).

Ainda segundo a Tabela 13, podemos avaliar o efeito da pressão e da temperatura sobre a atividade antioxidante dos extratos obtidos com 20% de etanol em diferentes condições de T e P. O aumento na temperatura a pressão constante resulta num aumento da atividade antioxidante a pressões mais baixas (150 bar) e uma diminuição da atividade antioxidante a pressões mais altas (200 e 230 bar). Já com relação à pressão, um aumento da mesma a temperatura constante e mais baixa (40°C) provoca um aumento na atividade antioxidante e uma diminuição desta a temperaturas mais altas (50°C), ou seja, a atividade antioxidante foi maior a pressões e temperaturas mais baixas quando utilizado 20% de etanol como co-solvente, o que significa que os compostos com atividade antioxidante são muito suscetíveis às variações de pressão e temperatura, e um aumento nas mesmas pode degradar compostos de interesse com atividade antioxidante.

A complexidade química dos óleos essenciais, uma mistura de dezenas de compostos com grupos funcionais, polaridade e comportamento químico diferentes pode levar a resultados de atividade antioxidante muito diferentes, dependendo do teste empregado. O

método do DPPH é usado para determinar a atividade antioxidante de espécies hidrofílicas e lipofílicas e tenta garantir uma boa comparação dos resultados de atividade antioxidante dos extratos (SACCHETTI et al, 2005).

### 5.9 MODELAGEM MATEMÁTICA

Para modelagem das curvas de extração do óleo de hortelã foram empregados três modelos, dois modelos baseados na equação de balanço de massa diferencial: (1) o modelo de SOVOVÁ (1994) e (2) o modelo Logístico (LM), apresentado por MARTÍNEZ et al. (2003), e um modelo baseado na analogia a transferência de calor: (3) o modelo de Difusão, proposto por CRANK (1975) e apresentado por REVERCHON (1997).

Para a aplicação dos modelos é necessário o conhecimento de algumas variáveis de processo como, por exemplo, densidade do solvente, densidade do sólido, diâmetro de partícula, porosidade do leito, altura e raio do extrator, solubilidade ( $Y^*$ ) e conteúdo de óleo extraível ( $x_0$ ). Na modelagem de todas as curvas de extração o valor de  $Y^*$  (item 5.6) utilizado foi de  $9,09 \times 10^{-3}$  ( $\text{g}_{\text{óleo}}/\text{g}_{\text{CO}_2}$ ), obtido para a condição de 200 bar e 40°C.

As condições experimentais utilizadas para a modelagem das curvas de extração são apresentadas na Tabela 14.

Tabela 14: Condições experimentais para modelagem da ESC do óleo de hortelã.

| Pressão<br>(bar) | Temperatura<br>(°C) | $\rho \text{ CO}_2^*$<br>( $\text{kg}/\text{cm}^3$ ) |
|------------------|---------------------|--|
| 100              | 30                  | 772,09   |
| 100              | 40                  | 629,37   |
| 100              | 50                  | 392,94   |
| 300              | 30                  | 948,47   |
| 300              | 40                  | 910,59   |
| 300              | 50                  | 871,45   |

\* ANGUS (1976)

As equações dos modelos utilizados foram solucionadas com a ajuda do programa DELPHI, Versão 7.0. Os parâmetros ajustados para o modelo de SOVOVÁ (1994) estão apresentados na Tabela 15 e foram obtidos a partir dos dados experimentais e das equações listadas no capítulo 3, com o auxílio do software estatístico SAS 8.2. E os parâmetros

ajustáveis para os modelos LM (b e  $t_m$ ) e o modelo de difusão (D) são apresentados na Tabela 16.

Tabela 15: Parâmetros ajustados para o modelo de SOVOVÁ (1994).

| Condição<br>(bar/°C) | $M_{CER} \times 10^3$<br>(g/min) | $Y_{CER} \times 10^4$<br>(g/g) | $t_{CER}$<br>(min) | $x_k \times 10^2$<br>(g/g) | $k_{ya} \times 10^3$<br>(min <sup>-1</sup> ) | $k_{xa} \times 10^3$<br>(min <sup>-1</sup> ) |
|----------------------|----------------------------------|--------------------------------|--------------------|----------------------------|--|--|
| 100/30               | 2,72                             | 5,44                           | 73,94              | 1,13                       | 3,64   | 1,93   |
| 100/40               | 1,63                             | 3,26                           | 134,70             | 0,22                       | 2,61   | 1,3  |
| 100/50               | 2,58                             | 5,16                           | 75,15              | 0,34                       | 6,83   | 2,11   |
| 300/30               | 2,48                             | 4,96                           | 66,91              | 1,15                       | 2,69   | 1,43   |
| 300/40               | 2,99                             | 5,98                           | 58,88              | 1,00                       | 3,40   | 1,79   |
| 300/50               | 3,41                             | 7,01                           | 48,61              | 1,24                       | 4,08   | 1,88   |

Para o cálculo do conteúdo de óleo extraível ( $x_0$ ) utilizado no modelo de SOVOVÁ (1994) considerou-se, para cada condição, os valores de rendimento global de extração ( $X_0$ ), apresentados na Tabela 3, como sendo correspondente a 90% do total de soluto presente na matriz sólida no início do processo. Esta consideração é baseada na observação das curvas de extração, que indicam que a etapa de taxa de extração quase nula foi praticamente alcançada. Assim, a partir dos valores da Tabela 3 encontrou-se o equivalente a 100% (O).

Pela análise da Tabela 15, nota-se que para todas as condições 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 ( $k_{ya}$ ), em alguns casos até 3 vezes menor, indicando uma maior influência do processo convectivo na extração do óleo de hortelã.

Tabela 16: Parâmetros ajustáveis para os modelos LM (b e  $t_m$ ) e o modelo de difusão (D).

| Condição<br>(bar/°C) | $b \times 10^3$<br>(min <sup>-1</sup> ) | $t_m \times 10^{-2}$<br>(min) | $D \times 10^5$<br>(m <sup>2</sup> /min) |
|----------------------|---|-------------------------------|--|
| 100/30               | 6,73                                    | -61,12                        | 1,18                                     |
| 100/40               | 15,8                                    | -25,98                        | 2,17                                     |
| 100/50               | 14,42                                   | -28,39                        | 2,18                                     |
| 300/30               | 9,85                                    | -41,74                        | 1,48                                     |
| 300/40               | 11,91                                   | -33,39                        | 1,98                                     |
| 300/50               | 19,18                                   | -32,85                        | 1,99                                     |

No modelo LM, 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. Isso significa que 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).

A Tabela 17 apresenta os erros médios entre os dados experimentais e os dados obtidos pelos modelos avaliados, para as diferentes condições estudadas.

Tabela 17: Erros médios entre os dados experimentais e modelados das curvas de extração do óleo de hortelã.

| Condição<br>(bar/°C) | Sovová<br>x103 | LM<br>x103 | Difusão<br>x103 |
|----------------------|----------------|------------|-----------------|
| 100/30               | 4,16           | 1,34       | 0,32            |
| 100/40               | 1,09           | 0,06       | 0,37            |
| 100/50               | 0,46           | 0,05       | 0,20            |
| 300/30               | 3,79           | 0,01       | 1,06            |
| 300/40               | 3,59           | 0,006      | 0,72            |
| 300/50               | 3,57           | 0,004      | 0,69            |

De acordo com a Tabela 18, o menor erro médio para todas as condições foi obtido com o modelo LM, provavelmente porque este modelo possui dois parâmetros ajustáveis ( $b$  e  $t_m$ ) ao contrário do modelo de Difusão, que apresenta um parâmetro ajustável ( $D$ ). O modelo baseado na analogia à transferência de calor apresentou um bom ajuste aos dados experimentais apesar de considerar que o processo de extração é controlado unicamente pela difusão, enquanto que o modelo de Sovová considera as três etapas distintas da extração. O modelo de Sovová apresentou um maior erro para a condição de 100 bar e 30°C, conforme apresentado na Figura 41. Como pode ser observado nessa e nas Figuras do Apêndice VI, o modelo Logístico e de Difusão se ajustaram melhor aos dados experimentais que o modelo de Sovová.

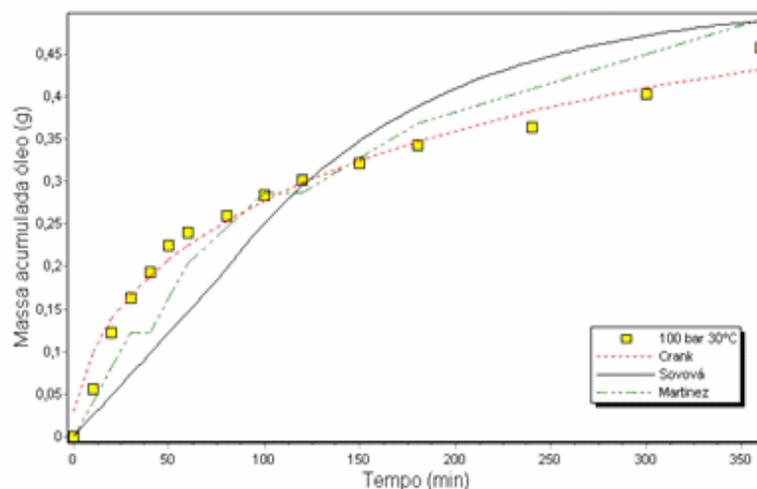


Figura 41: Curvas de extração experimental e modeladas para o óleo de hortelã para a condição de 100bar e 30°C.

De uma maneira geral, pode-se concluir que o modelo LM foi o que melhor se ajustou aos dados experimentais da extração de óleo de hortelã com CO<sub>2</sub> supercrítico para todos os ensaios. Para a aplicação do modelo de Sovová alguns parâmetros de extração como  $Y^*$  e  $x_0$  devem estar muito bem definidos, pois eles influenciam diretamente na modelagem das curvas de extração, e apesar deste modelo descrever melhor o processo de ESC (representa em suas equações os diferentes mecanismos de transferência de massa - convecção e difusão), se esses parâmetros não tiverem sido corretamente determinados, a curva do modelo não vai se ajustar às curvas experimentais.

A modelagem das curvas de extração dos dados experimentais do óleo de hortelã é importante para a otimização de projetos como a definição do volume do extrator e também para a predição do comportamento da extração ao longo do processo, como o tempo total da extração para uma condição de operação específica (T, P). Além disso, a modelagem das curvas de extração fornece informações a respeito do sistema estudado e como a extração irá se comportar dependendo do fenômeno predominante na transferência de massa do sistema óleo de hortelã/CO<sub>2</sub> supercrítico (fenômenos convectivos e difusivos).

## **6 CONCLUSÕES**

Os resultados obtidos neste trabalho para a extração do óleo de hortelã (*Mentha spicata* L) por diferentes técnicas e condições de processo permitiram concluir que:

- A ESC permitiu a extração do óleo essencial de hortelã (*Mentha spicata* L) e a obtenção de um extrato rico em compostos com atividades terapêuticas comprovadas;
- A determinação do ponto de inversão das isotermas na ESC com e sem co-solvente permitiram avaliar quantitativa e qualitativamente o processo de ESC, permitindo a identificação do efeito dominante no processo (densidade do solvente ou pressão de vapor do soluto) em determinada condição e como isso afeta o rendimento da extração e a composição do extrato.
- O emprego do CS na ESC permitiu o aumento do rendimento da extração, devido a extração de compostos não extraídos pela ESC com CO<sub>2</sub> puro. A concentração ótima para obtenção do maior rendimento foi a de 20% para ambos os co-solventes utilizados.
- Em alguns casos o tipo de co-solvente tem mais efeito na eficiência da extração do que sua concentração. O etanol apresentou melhores resultados ( $8,95 \pm 0,01\%$  para o etanol e  $2,88 \pm 0,02\%$  para o acetato de etila, na concentração de 20%) do que o acetato de etila, em todas as concentrações utilizadas (10, 15 e 20%), em função do seu grupo funcional –OH, que permite a formação de ligações do tipo ponte de hidrogênio com os compostos polares do óleo, o que o torna um co-solvente atraente para aplicações industriais e extração de compostos polares com propriedades terapêuticas, entre outras. A vantagem do uso de CS na ESC está relacionada com o aumento da faixa de compostos extraídos, devido ao aumento da polaridade da mistura de solventes.
- A técnica de CG-EM permitiu a identificação de vários compostos de interesse industrial no óleo de hortelã, como a Carvona, o Cineol, a Pulegona, entre outros. No

entanto, esta técnica não permitiu a identificação de todos os compostos presentes no óleo, logo outras técnicas, como HPLC, seriam indicadas para esse tipo de análise.

- Os extratos de hortelã obtidos por diferentes técnicas de extração apresentaram boa atividade antioxidante de até 95,2% (Extração Soxhlet-fração Etanol), e os extratos obtidos por ESC com co-solvente apresentaram uma atividade antioxidante maior em relação a ESC sem co-solvente (máximo 78,6% com 20% de etanol e 28,7%, respectivamente). Embora os extratos obtidos por extração Soxhlet tenham apresentado atividade antioxidante maior que a AA% da ESC com co-solvente, deve-se considerar a maior quantidade de solvente utilizado e o maior tempo de contato do solvente com o soluto na Soxhlet. Esses resultados provam que os compostos de maior atividade antioxidante presentes no óleo de hortelã são de caráter polar.
- Dentre os modelos utilizados, os modelos de Difusão e Logístico se ajustaram melhor aos dados experimentais do que o modelo de Sovová. As considerações adequadas para o sistema em estudo e o conhecimento do comportamento das curvas de extração ao longo do processo são de primordial importância para a escolha do modelo mais adequado para representar o processo.

## **7 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS**

- Utilização de outros co-solventes (por exemplo diclorometano, metanol, butanol) e avaliação do seu efeito na eficiência da extração, bem como no ponto de inversão das isotermas;
- ESC do óleo de hortelã (*Mentha spicata* L) com etanol em pressões acima de 230 bar para identificação do ponto de inversão das isotermas;
- Análise da atividade antioxidante dos extratos de hortelã por outros métodos, por exemplo Folin-Denis ou Folin-Ciocalteu, para determinação de fenólicos totais, entre outros.
- Avaliação da composição química dos extratos de hortelã por outros métodos de análise;
- Análise da atividade antimicrobiana (antibacteriana e antifúngica) dos extratos de hortelã;
- Estudo da solubilidade do óleo de hortelã (*Mentha spicata* L) no solvente supercrítico.
- Estudo da variação dos parâmetros ajustados pelos modelos, em função das condições de ESC.

**REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

ABOISSA ÓLEOS VEGETAIS. Disponível em: <[www.aboissa.com.br](http://www.aboissa.com.br)>. Acesso em 14/01/06.

ABRAROMA . Disponível em < [www.cassie.de.lyra.nom.br](http://www.cassie.de.lyra.nom.br)> Acesso em 14/01/2006.

AGHEL, N.; YAMINI, Y.; HADJIAKHOONDI, A.; POURMORTAZAVI, S.M. Supercritical carbon dioxide extraction of *Mentha pulegium* L. essential oil. **Talanta** 62 (2004) 407-411.

AGOSTINHO, M; NOGUEIRA, K. R. **Manual de Aromaterapia Básica**, 2003.

ALMEIDA, L. P; FERRI, P. H; PAULA, J. R; SANTIAGO, M. F. Biotransformação do 1,8-cineol por bactérias livres e imobilizadas. **Revista Eletrônica de Farmácia** Vol 2 (1), 1-5, 2005.

ANGUS, S.; ARMSTRONG, B.; REUCK, K.M. Internacional Thermodynamic Tables of the Fluid State. v.3. **Carbon Dioxide**. Pergamon Press, 1976.

ANTUNES, O. A. C. Interfaces com a indústria. **Química Nova**, Vol. 28, Suplemento, S64-S75, 2005.

ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE *Pilocarpus riedelianus*. Disponível em: <[www.s bq.org.br](http://www.s bq.org.br)>. Acesso em 15/01/2006.

ATOUI, A. K.; MANSOURI, A.; BOSKOU, G.; KEFALAS, P. Tea and herbal infusions: Their antioxidant activity and phenolic profile. **Food Chemistry** 89 (2005) 27–36.

BERNARDO-GIL, M. G.; RIBEIRO, M. A.; ESQUÍVEL, M. M. Produção de extratos para a indústria alimentar: uso de fluidos supercríticos. **Boletim de Biotecnologia**. Centro de Engenharia Biológica e Química, DEQ, IST, Lisboa, Portugal. 2002.

BESSLER, K, E; NEDER, A. V. F. **Química em Tubos de Ensaio – uma abordagem para iniciantes**. Laboratório de Química Orgânica, Instituto de Química, Universidade de Brasília. Editora Edgard Blücher, 2004.

BRUNNER, G. **Gas extraction: An introduction to Fundamentals of Supercritical Fluids and the Application to Separation Processes**. 1 Ed. Darmstadt, Alemanha: Steinkopff, 387p, 1994.

CAMPOS, L. M. A. S. **Obtenção de extratos de bagaço de uva Cabernet Sauvignon (*Vitis vinifera*): parâmetros de processo e modelagem matemática**. Tese de Mestrado. Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis – SC, 2005.

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** 34 (2005) 163–170.

CARVALHO Jr, R. N; MOURA, L. S; ROSA, P. T. V; MEIRELES, M. A. A. Supercritical fluid extraction from rosemary (*Rosmarinus officinalis*): Kinetic data, extract's global yield, composition, and antioxidant activity. **Journal of Supercritical Fluids** 35 (2005) 197–204.

CARVALHO, C. C. C. R; FONSECA, M. M R. Carvone: Why and how should one bother to produce this terpene. **Food Chemistry** 95 (2006) 413–422.

CATCHPOLE, O. J; PERRY, N. B; SILVA, B. M. T; GREY, J. B; SMALLFIELD, B. M. Supercritical extraction of herbs I: Saw Palmetto, St John's Wort, Kava Root, and Echinacea. **Journal of Supercritical Fluids** 22 (2002) 129–138.

CHOUHDURY, R. P; KUMAR, A; GARG, A. N. Analysis of Indian mint (*Mentha spicata*) for essential, trace and toxic elements and its antioxidant behaviour. In press. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, (2006).

CORRÊA, N. C. F.; ARAÚJO, M. E.; MACHADO, N. T.; FRANÇA, L. F. Mass transfer Modeling Supercritical Extraction from Solid Material, In: 2nd INTERNATIONAL MEETING ON HIGH PRESSURE CHEMICAL ENGINEERING, 2001, Hamburg. **Proceedings of the 2nd International Meeting on High Pressure Chemical Engineering**. Hamburg, Germany, 2001.

CRANK, J. **The Mathematics of Diffusion**. Clarendon Press, Oxford, 1975, p. 85.

DANIELSKI, L. **Solubilidade das Oleoresinas de Calêndula (*Calendula officinalis* L) e Cavalinha (*Equisetum arvense*) em CO<sub>2</sub> supercrítico**. Florianópolis, 2002. Tese de Mestrado em Engenharia de Alimentos – Departamento de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, 2002.

DEL CASTILLO, M. L. R.; BLANCH, G. P.; HERRAIZ, M. Natural variability of enantiomeric composition of bioactive chiral terpenes in *Mentha piperita*. **Journal of Chromatography A**, 2004.

DEMO, A.; PETRAKIS, C.; KEFALAS, P.; BOSKOU, D. Nutrient antioxidants in some herbs and Mediterranean plant leaves. **Food Research International**, Vol. 31, No. 5, pp. 351-354, 1998.

DIAZ-MAROTO, M. C; PEREZ-COELLO, M. S; CABEZUDO, M. D. Supercritical carbon dioxide extraction of volatiles from spices. Comparison with simultaneous distillation–extraction. **Journal of Chromatography A**, 947 (2002) 23–29.

DJERIDANE, A; YOUSFI, M; NADJEMI, B; BOUTASSOUNA, D; STOCKER, P; VIDAL, N. Antioxidant activity of some algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds **Food Chemistry** 97 (2006) 654–660.

DORMAN, H. J. D.; KOSAR, M.; KAHLOS, K.; HOLM, Y.; HILTUNEN, R. Antioxidant Properties and composition of Aqueous Extracts from Mentha Species, hybrids, Varieties, and Cultivars. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**. (2003), 51, 4563-4569.

ETNO-BOTÂNICA – Extração de óleos essenciais. Disponível em: <pensologosou.no.sapo.pt >. Acesso em 10/07/05.

FALKENBERG, M. B; SANTOS, R. I; SIMÕES, C. M. O. **Introdução a análise fitoquímica. In: Farmacognosia: da planta ao medicamento.** 3.ed.ver. – Porto Alegre/Florianópolis: Ed. Universidade/UFRGS/ Ed. Da UFSC, 2001, capítulo 10.

FARIAS, M. R. **Avaliação da qualidade de matérias-primas vegetais. In: Farmacognosia: da planta ao medicamento.** 3.ed.ver. – Porto Alegre/Florianópolis: Ed. Universidade/UFRGS/ Ed. Da UFSC, 2001, capítulo 12.

FARMACOPÉIA BRASILEIRA, 4ª ed., Atheneu. Ed. São Paulo, 1988, parte I, cap. V.2.9

FERREIRA, S. R. S. **Extração com dióxido de carbono líquido subcrítico de óleo essencial de pimenta-do-reino.** Tese de Mestrado em Engenharia de Alimentos – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1991.

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** 14 (1999) 235–245.

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**, Volume 54, Issue 4, October 2002, Pages 263-269.

FILIPPI, R. P. CO<sub>2</sub> as a solvent: application to fats, oils and other materials. **Chemical Industry**, 19(6): 390-394, 1982.

GENENA, A. K. **Estudo da extração e caracterização do extrato de alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) quanto a sua ação antioxidante.** Tese de Mestrado. Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis – SC, 2005.

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. Tese de doutorado em Ciência dos Alimentos – Área de Bromatologia – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2003.

GÜÇLÜ-ÜSTÜNDAG, O; TEMELLI, F. Correlating the solubility behavior of minor lipid components in supercritical carbon dioxide. **The Journal of Supercritical Fluids**, Volume 31, Issue 3, November 2004, Pages 235-253

GUERRA, M. P; NODARI, R. O. **Biodiversidade: aspectos biológicos, geográficos, legais e éticos. In: Farmacognosia: da planta ao medicamento.** 3.ed.ver. – Porto Alegre/Florianópolis: Ed. Universidade/UFRGS/ Ed. Da UFSC, 2001, capítulo 1.

HOLLENDER, J.; SHNEINE, J.; DOTT, W.; HEINZEL, M.; HAGEMANN, H. W.; GOTZ, G.K.E. Extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons from polluted soils with binary and ternary supercritical phases. **Journal of Chromatography A**, 776 (1997) 233-243.

HRAS, A. R; HADOLIN, M; KNEZ, Z; BAUMAN, D. Comparison of antioxidative and synergistic effects of rosemary extract with  $\alpha$ -tocopherol, ascorbyl palmitate and citric acid in sunflower oil. **Food Chemistry**, Volume 71, Issue 2, November 2000, Pages 229-233.

HU, Q; HU, Y; XU, J. Free radical-scavenging activity of Aloe vera (*Aloe barbadensis Miller*) extracts by supercritical carbon dioxide extraction. **Food Chemistry** 91 (2005) 85–90.

JEONG, M. L; CHESNEY, D. J. Investigation of modifier effects in supercritical CO<sub>2</sub> extraction from various solid matrices. **Journal of Supercritical Fluids** 16 (1999) 33–42.

KANATT, S. R; CHANDER, R; SHARMA, A. Antioxidant potential of mint (*Mentha spicata* L.) in radiation-processed lamb meat. In Press, **Food Chemistry**, (2005).

KE, J; HAN, B; YAN, H. Hydrogen bonding of some organic acid in supercritical CO<sub>2</sub> with polar cosolvents. **Journal of Supercritical Fluids** 11 (1997) 53–60.

KHAJEH, M; YAMINI, Y; SEFIDKON, F; BAHRAMIFAR, N. Comparison of essential oil composition of *Carum copticum* obtained by supercritical carbon dioxide extraction and hydrodistillation methods. **Food Chemistry** 86 (2004) 587–591.

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. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**. 2003, 51, 2520-2525.

LEE, W. Y; CHO, Y. J; OH, S. L; PARK, J. H; CHA, W. S; JUNG, J. Y; CHOI, Y. H. Extraction of Grape seed oil by supercritical CO<sub>2</sub> and ethanol modifier. **Food Science Biotechnology**. Vol. 9, n° 3, pp. 174-178 (2000).

LILEY, P. E; THOMSON, G. H; FRIEND, D. G; DAUBERT, T. E; BUCK, E. Physical and Chemical Data. **Perry's Chemical Engineers Handbook**, 7<sup>a</sup> ed, cap.2, 1997. McGraw-Hill Companies.

LIMBERGER, R. P; SOBRAL, M; HENRIQUES, A T. Óleos voláteis de espécies de *Myrcia* nativas do Rio Grande do Sul. **Química Nova**, Vol. 27, No. 6, 916-919, 2004.

LÓPEZ, M.; ARCE, L.; GARRIDO, J.; RÍOS, A.; VALCÁRCEL, M.. Selective extraction of astaxanthin from crustaceans by use of supercritical carbon dioxide. **Talanta**. v.64, n.3, p.726-731, 2004.

LOULI, V; FOLAS, G; VOUTSAS, E.; MAGOULAS, K. Extraction of parsley seed oil by supercritical CO<sub>2</sub>. **Journal of Supercritical Fluids** 30 (2004) 163-174.

LUCCHESI, M. E; CHEMAT, F; SMADJA, J. Solvent-free microwave extraction of essential oil from aromatic herbs: comparison with conventional hydro-distillation. **Journal of Chromatography A**, 1043 (2004) 323–327.

LUENGTHANAPHOL, S; MONGKHOLKHAJORN SILP, D; DOUGLAS, S; DOUGLAS, P. L; PENG SOPA, L; PONGAMPHAI, S. Extraction of antioxidants from sweet Thai tamarind seed coat – preliminary experiments. **Journal of Food Engineering** 63 (2004) 247-252.

LUTERMANN, C; WILLEMS, E; DOTT, W; HOLLENDER, J. Effects on various binary and ternary supercritical phases on the extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons from contaminated soils. **Journal of Chromatography A**, 816 (1998) 201-211.

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. **Industrial and Engineering Chemical Research**. v. 42, n.5, p.1057-1063, 2003.

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.

MENAKER, A.; KRAVETS, M.; KOEL, M.; ORAV, A. Identification and characterization of supercritical fluid extracts from herbs. **C. R. Chimie** 7 (2004) 629–633.

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.

MENTZ, L. A; BORDIGNON, S. A. L. **Nomenclatura botânica, classificação e identificação de plantas medicinais**. In: **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 3.ed.ver. – Porto Alegre/Florianópolis: Ed. Universidade/UFRGS/ Ed. Da UFSC, 2001, capítulo 9.

MICHIELIN, E. M. Z. **Avaliação do processo de extração com fluido supercrítico da oleoresina de cavalinha (*Equisetum arvense*)**. Florianópolis, 2002. Tese de mestrado em Engenharia de Alimentos – Programa de Pós-graduação em Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina - UFSC, 2002.

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** 33 (2005) 131–138.

MORRISON, R.; BOYD, R. **Química orgânica**. 7.ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1981. 1510p.

ÓLEOS ESSENCIAIS CÍTRICOS. Disponível em: <[www.jardimdeflores.com.br](http://www.jardimdeflores.com.br)> Acesso em 14/01/2006.

OLSEN, M. H.N; SALOMÃO, G. C; FERNANDES, C; DRAGO, V; HORN Jr, A; FILHO, L. C; ANTUNES, O A C. Estudo da oxidação do limoneno utilizando catalisadores metaloporfirínicos com variação do sistema solvente/oxidante. **Maringá**, v. 26, no. 1, p. 1-6, 2004.

OZCAN, A; OZCAN, A. S. Comparison of supercritical fluid and Soxhlet extractions for the quantification of hydrocarbons from *Euphorbia macrolada*. In press, **Talanta** (2004).

PHENOMENEX. Solvent Miscibility Table. Disponível em < [www.phenomenex.com](http://www.phenomenex.com)> Acesso em 15/06/2005.

PHYTOMÉDICA. Disponível em: <[www.ache.com.br](http://www.ache.com.br)> Acesso em 14/01/2006.

POSER, G. L. V; MENTZ, L. A. **Diversidade biológica e sistemas de classificação. In: Farmacognosia: da planta ao medicamento.** 3.ed.ver. – Porto Alegre/Florianópolis: Ed. Universidade/UFRGS/ Ed. Da UFSC, 2001, capítulo 4.

POVH, N. P.; MARQUES, M. O. M; MEIRELES, M. A. A. Supercritical CO<sub>2</sub> extraction of essential oil and oleoresin from chamomile (*Chamomilla recutita* [L.] Rauschert). **Journal of Supercritical Fluids** 21 (2001) 245–256.

QUISPE-CONDORI, S; SANCHEZ, D; FOGGIO, M. A; ROSA, P. T. V; ZETZL, C; BRUNNER, G; MEIRELES, M. A. A. Global yield isotherms and kinetic of artemisinin extraction from *Artemisia annua* L leaves using supercritical carbon dioxide. **Journal of Supercritical Fluids** 36 (2005) 40–48.

REIS, M. S; MARIOT, A. **Diversidade natural e aspectos agrônômicos de plantas medicinais. In: Farmacognosia: da planta ao medicamento.** 3.ed.ver. – Porto Alegre/Florianópolis: Ed. Universidade/UFRGS/ Ed. Da UFSC, 2001, capítulo 3.

REVERCHON, E.; DONSI, G.; OSSEO, L. S. Modeling of supercritical fluid extraction from herbaceous matrices. **Industrial Engineering Chemistry Research.**, v. 32, n. 11, p. 2721-2726, 1993.

REVERCHON, E. Supercritical desorption of limonene and linalool from silica gel: experiments and modelling. **Chemical Engineering Science**, Volume 52, Issue 6, March 1997, Pages 1019-1027.

REVERCHON, E.; MARRONE, C. Supercritical extraction of clove bud essential oil: isolation and mathematical modeling. **Chemical Engineering Science.** V. 52. n. 20, p.3421-3428, 1997.

RIZVI, S. S. H; BENADO, A. L; ZOLLWEG, J. A; DANIELS, J. A. Supercritical fluid extraction: fundamental principles and modeling methods. **Food Technology**, 40 (6): 55-64, 1986.

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 CO<sub>2</sub>: solubility, kinetics, and composition data. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, n. 6, p. 1518-1523, 2003.

SACCHETTI, G; MAIETTI, S; MUZZOLI, M; SCAGLIANTI, M; MANFREDINI, S; RADICE, M; BRUNI, R. Comparative evaluation of 11 essential oils of different origin as functional antioxidants, antiradicals and antimicrobial in foods. **Food Chemistry** 91 (2005) 621-632.

SANTOS, A. S; ALVES, S. M; FIGUEIREDO, F. J. C; NETO, O. G. R. Descrição de sistema e de métodos de extração de óleos essenciais e determinação de umidade de biomassa em laboratório. ISSN 1517-2244 , novembro 2004, Belém, PA. **EMBRAPA**, 2004.

SAUCEAU, M.; LETOURNEAU, J. J.; FREISS, B.; RICHON, D.; FAGES, J. Solubility of eflucimible in supercritical carbon dioxide with and without a co-solvent. **Journal of Supercritical Fluids** 31 (2004) 133-140.

SCHENKEL, E. P; GOSMANN, G; PETROVICK, P. R. **Produtos de origem vegetal e o desenvolvimento de medicamentos. In: Farmacognosia: da planta ao medicamento.** 3.ed.ver. – Porto Alegre/Florianópolis: Ed. Universidade/UFRGS/ Ed. Da UFSC, 2001, capítulo 15.

SILVA, C. G; HERDEIRO, R. S; MATHIAS, C. J; PANEK, A. D; SILVEIRA, C. S; RODRIGUES, V. P; RENNO, M. N; FALCÃO, D. Q; CERQUEIRA, D. M; MINTO, A. B. M; NOGUEIRA, F. L. P; QUARESMA, C. H; SILVA, J. F. M; MENEZES, F. S; ELEUTHERIO, E. C. A. Evaluation of antioxidant activity of Brazilian plants. **Pharmacological Research** 52 (2005) 229–233.

SILVA, D. C. M. N. **Determinação experimental de parâmetros de processo na extração supercrítica de óleo essencial de carqueja (*Baccharis trimera* Less).** Tese de Mestrado. Universidade federal de Santa Catarina, 2004.

SIMÕES, C. M. O; SPITZER, V. **Óleos voláteis. In: Farmacognosia: da planta ao medicamento.** 3.ed.ver. – Porto Alegre/Florianópolis: Ed. Universidade/UFRGS/ Ed. Da UFSC, 2001, capítulo 19.

SIQUEIRA, D. S; PEREIRA, A S; NETO, F. R. A.A; CABRAL, J. A; FERREIRA, C. <sup>a</sup> C; SIMONEIT, B. R. T; ELIAS, V. O .Determinação de compostos de massa molecular alta em folhas de plantas da Amazônia. **Química Nova**, Vol. 26, No. 5, 633-640, 2003.

SMITH, J. M; VAN NESS, H. C; ABBOTT, M. M. **Introduction to Chemical Engineering Thermodynamics.** 5<sup>a</sup> edição. McGraw-Hill International editions, 1996.

SOVOVÁ, H. Rate of the vegetable oil extraction with supercritical CO<sub>2</sub>—I. Modelling of extraction curves. **Chemical Engineering Science**, Volume 49, Issue 3, 1994, Pages 409-414.

SOVOVA, H; RAT, V; KHACHATURYAN, M; VLCEK, D. Solubility of squalane and dinonyl phthalate in CO<sub>2</sub> with entrainers. **Journal of Supercritical Fluids** 14 (1999) 145–149.

SUTTER, L. E. D. N. Extração supercrítica - uma nova tecnologia industrial. **Ciência e Tecnologia de Alimentos.** v.14, n. [s/n], p. 3-10, 1994.

TONTHUBTHIMTHONG, P; DOUGLAS, P. L; DOUGLAS, S; LUEWISUTTHICHAT, W; TEPPAITOON, W; PENGSOA, L. Extraction of nimbin from neem seeds using supercritical CO<sub>2</sub> and a supercritical CO<sub>2</sub>–methanol mixture. **Journal of Supercritical Fluids** 30 (2004) 287–301.

VALLILO, M. I; GARBELOTTI, M. L; OLIVEIRA, E; LAMARDO, L. C. A . Características físicas e químicas dos frutos do cambucizeiro (*Campomanesia phaea*). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal - SP, v. 27, n. 2, p. 241-244, Agosto 2005.

WONG, V; WYLLIE, G; CORNWELL, C. P; TRONSON, D. Supercritical fluid extraction (SFE) of monoterpenes from the leaves of *Melaleuca alternifolia* (Tea Tree). **Molecules** **2001**, 6, 92-103.

WOOD, J. A; BERNARDS, M. A; WAN, W; CHARPENTIER, P. A. Extraction of ginsenosides from North American ginseng using modified supercritical carbon dioxide. In press. **Journal of Supercritical Fluids**, (2006).

YODA, S. K. **Estudo da cinética da extração dos glicosídeos da *Stevia rebaudiana bertonii* com mistura CO<sub>2</sub> + água**. Campinas, 2001. (Dissertação de Mestrado em Engenharia de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, UNICAMP.

## APÊNDICE I

### EQUAÇÕES DOS MODELOS

- **MODELO DE CRANK (1975)**

De acordo com a segunda Lei de Fick, restrita para o caso de difusão unicamente radial, com o coeficiente de difusão constante, a concentração de soluto na fase sólida é dada por:

$$\frac{\partial x}{\partial t} = D_{AB} \nabla^2 x = D_{AB} \frac{\partial^2 x}{\partial r^2}$$

Essa equação é análoga à equação de transferência de calor dada por:

$$\frac{\partial T}{\partial t} = \alpha \nabla^2 T = \alpha \frac{\partial^2 T}{\partial r^2}$$

Onde:  $D_{AB}$  é o coeficiente de difusão da segunda Lei de Fick ( $m^2/min$ ),  $r$  é a direção radial (m) e  $\alpha$  é o coeficiente de transferência de calor.

- **MODELO DE SOVOVÁ (1994)**

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 de  $Y$  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 condições de balanço de massa para a fase sólida e fluida são respectivamente:

$$\text{Fase sólida: } -\rho_s(1-\varepsilon)\frac{\partial x}{\partial t} = J(x, y)$$

$$\text{Fase fluida: } \rho_f U \frac{\partial y}{\partial h} = J(x, y)$$

onde:  $x$  ( $\text{g}_{\text{óleo}}/\text{g}_{\text{sólido}}$ ) e  $y$  ( $\text{g}_{\text{óleo}}/\text{g}_{\text{solvente}}$ ) são as razões mássicas de soluto nas fases sólida e fluida, respectivamente;  $\varepsilon$  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),  $\rho_s$  ( $\text{kg}_{\text{sólido}}/\text{m}^3$ ) e  $\rho_f$  ( $\text{kg}_{\text{solvente}}/\text{m}^3$ ) são as densidades da fase sólida e fluida respectivamente e  $J(X,Y)$  é a taxa de transferência de massa interfacial ( $\text{kg}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$ ).

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

$$x(h, t=0) = x_0 \quad (\text{C.I 1})$$

$$y(h=0, t) = 0 \quad (\text{C.I 2})$$

$$y(h, t=0) = 0 \quad (\text{C.C})$$

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 (g/g).

Este modelo assume que o conteúdo de óleo extraível ( $x_0$ ) é dividido em duas partes: óleo de fácil acesso ( $x_p$ ) e óleo de difícil acesso ( $x_k$ ). A força motriz para a 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. Isto possibilita a obtenção de curvas de extração que descrevem as diferentes etapas do processo.

Com base nas equações acima referentes às equações de balanço de massa na fase sólida e fluida e nas 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 à 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 a equação:

$$O = P + K$$

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:

$$x_0 = \frac{O}{N}; \quad x_K = \frac{K}{N}; \quad x_P = \frac{P}{N}$$

Nas equações do modelo de SOVOVÁ pode-se dizer que a quantidade  $Z$  é um parâmetro para o período CER porque esta quantidade ( $Z$ ) é diretamente proporcional ao coeficiente de transferência de massa na fase fluida ( $k_{Ya}$ ) e este coeficiente controla a taxa de extração no período CER:

$$Z = \frac{N \cdot k_{Ya} \cdot \rho_{CO_2}}{Q_{CO_2} \cdot (1 - \varepsilon) \cdot \rho_s}$$

Para a solução do modelo de SOVOVÁ, é necessário o conhecimento dos seguintes parâmetros (POVH et al.; MICHIELIN; CAMPOS et al.; 2001; 2002; 2005):

- $M_{CER}$ : Taxa de extração na etapa CER (g/min);
- $Y_{CER}$ : Razão mássica do soluto na fase supercrítica na saída da coluna na etapa CER ( $g_{extrato}/g_{CO_2}$ );
- $t_{CER}$ : Duração da etapa CER (min).

Esses parâmetros podem ser obtidos pelo ajuste simultâneo de duas retas sob a curva de extração (massa de óleo acumulada versus tempo de extração) com o auxílio do pacote estatístico SAS. O parâmetro  $M_{CER}$  é o valor da tangente referente ao período CER e a partir do mesmo obtêm-se o valor de  $Y_{CER}$  através da equação:

$$Y_{CER} = \frac{M_{CER}}{Q_{CO_2}}$$

As demais restrições e definições são descritas a seguir:

$$t_{CER} = \frac{x_0 - x_k}{Y^* Z} \frac{N}{Q_{CO_2}}$$

$$\frac{z_w}{Z} = \frac{Y^*}{W \cdot x_0} \ln \left\{ \frac{x_0 \cdot \exp\left[\left(\frac{W \cdot Q_{CO_2}}{N}\right)(t - t_{CER})\right] - x_k}{x_0 - x_k} \right\}$$

$$W = \frac{Nk_{Xa}}{Q_{CO_2}(1 - \varepsilon)} = k \frac{ZY^*}{x_k}$$

$$t_{FER} = t_{CER} + \frac{N}{Q_{CO_2}W} \ln \left[ \frac{x_k + (x_0 - x_k) \exp(Wx_0/Y^*)}{x_0} \right]$$

O parâmetro  $k_{Ya}$  que é o coeficiente de transferência de massa na fase fluida pode ser definido pela seguinte equação (FERREIRA & MEIRELES, 2002) :

$$k_{Ya} = \frac{M_{CER}}{\rho_{CO_2}SH\Delta\bar{Y}}$$

Sendo:

$$\Delta\bar{Y} = \frac{Y_{CER}}{\ln\left[Y^*/(Y^* - Y_{CER})\right]}$$

onde:  $\Delta\bar{Y}$  é a concentração média logarítmica na fase fluida, (g/g), S é a área de seção transversal do leito (m<sup>2</sup>), H é o comprimento do leito (m).

POVH et al. (2001) modelaram o processo de extração de oleoresina de camomila, fazendo uma modificação no modelo de Sovová. POVH et al. (2001) definiram o coeficiente de transferência de massa na fase sólida ( $k_{Xa}$ ) segundo a equação:

$$k_{Xa} = \frac{k_{Ya}\rho_{CO_2}\Delta\bar{Y}}{\rho_s\Delta X}$$

Sendo:

$$\Delta X = \frac{(x_p + x_K)}{2}$$

onde:  $\Delta X$  é a concentração média na fase sólida (g/g).

- **MODELO DE MARTINEZ et al (2003)**

O balanço de massa no leito de extração, na fase fluida, pode ser simplificado e apresenta-se da seguinte forma:

$$U \frac{\partial y}{\partial h} = \frac{J(x, y)}{\rho_f}$$

onde:  $x$  ( $\text{g}_{\text{óleo}}/\text{g}_{\text{sólido}}$ ) e  $y$  ( $\text{g}_{\text{óleo}}/\text{g}_{\text{solvente}}$ ) são as razões mássicas de soluto (concentração) nas fases sólida e fluida respectivamente,  $h$  é a coordenada axial (m),  $U$  é a velocidade superficial do solvente (m/s),  $\rho_f$  ( $\text{kg}_{\text{solvente}}/\text{m}^3$ ) é a densidade da fase fluida e  $J(x,y)$  é a taxa de transferência de massa interfacial ( $\text{kg}/\text{m}^3 \cdot \text{s}$ ).

A condição de contorno é dada pela seguinte equação:

$$y(h = 0, t) = 0 \quad (\text{C.C})$$

O termo de transferência de massa interfacial  $J(x,y)$  foi definido como uma função  $S$  que depende da composição do extrato ao longo do processo, representado pela equação:

$$J(x, y) = S = \sum_{i=1}^n S_i$$

Sendo:

$$S_i(t) = \frac{A_i b_i \exp[b_i(t_{mi} - t)]}{\{1 + \exp[b_i(t_{mi} - t)]\}^2}$$

onde:  $A$ ,  $b$  e  $t_m$  são parâmetros do modelo e o subscrito  $i$  corresponde a um único composto do soluto ou grupo de compostos com características semelhantes.

Integrando a equação inicial e utilizando a condição de contorno, tem-se para a saída do extrator:

$$y(h = H, t) = \frac{H}{u\varepsilon} \sum_{i=1}^n S_i$$

onde: H é o comprimento total do leito de extração, u é a velocidade intersticial do solvente (m3/s) e  $\varepsilon$  é a porosidade total do leito de extração.

A curva de extração total, representando a massa de óleo em função do tempo, pode ser obtida equação:

$$m(h = H, t) = 0$$

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

A curva obtida é a soma das curvas de extração de cada grupo de compostos, que pode ser representada pela seguinte equação:

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

A princípio o modelo logístico (LM) possui, para cada grupo de compostos, três parâmetros ajustáveis:  $A_i$ ,  $b_i$  e  $t_{mi}$ . Se a composição do óleo tiver sido determinada experimentalmente, é possível obter o valor aproximado da massa total de cada grupo de compostos:

$$m_{totali} = \frac{\%m_t}{100} = x_{0i} m_t$$

onde:  $m_t$  é a massa total de sólidos na coluna de extração,  $x_0$  é a razão mássica inicial de soluto extraível e  $m_{totali}$  é a massa total de cada grupo de composto.

Desta forma, o modelo pode ser reduzido a dois parâmetros ajustáveis, b e  $t_m$ , e a massa de cada grupo de compostos representada pela equação:

$$m_i(h = H, t) = \frac{x_{0i} m_t}{\exp(b_i t_{mi})} \left\{ \frac{1 + \exp(b_i t_{mi})}{1 + \exp[b_i(t_{mi} - t)]} - 1 \right\}$$

**APÊNDICE II**

(1)



(2)

Figura II - I: Foto das unidades de extração a alta pressão 1 e 2, disponíveis no LATESC.

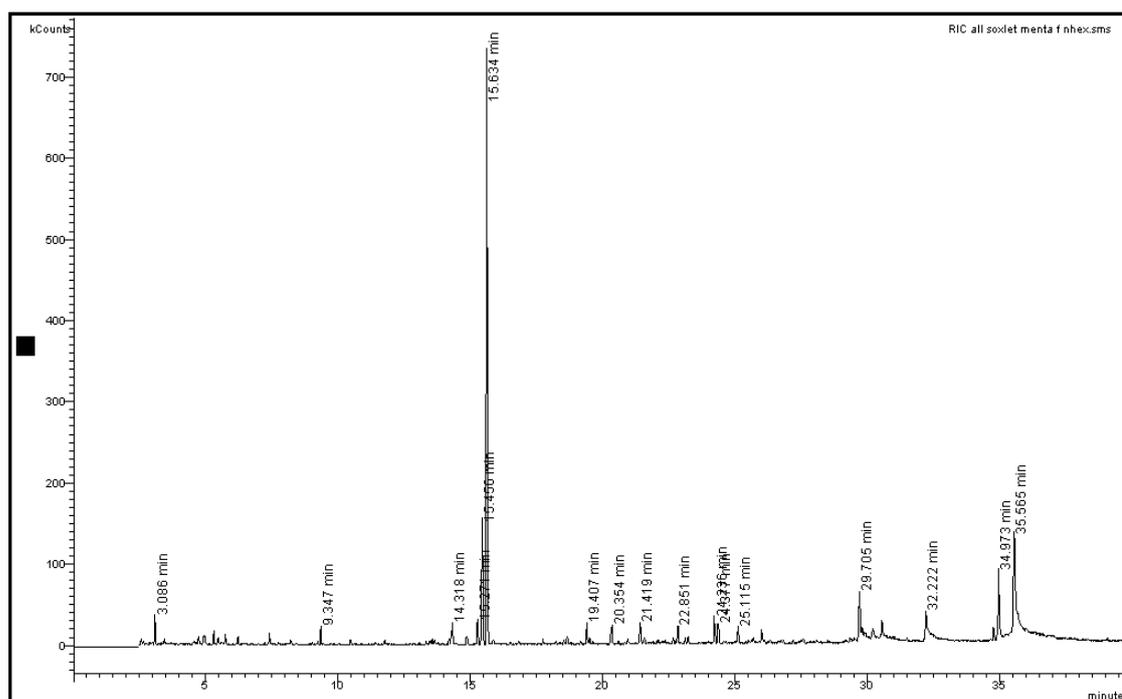
**APÊNDICE III****CROMATOGRAMAS OBTIDOS PARA AMOSTRAS DE ÓLEO DE HORTELÃ EM  
DIFERENTES TÉCNICAS E CONDIÇÕES DE PROCESSO**

Figura III-I: Cromatograma do óleo de hortelã obtido por Soxhlet – fração n-hexano.

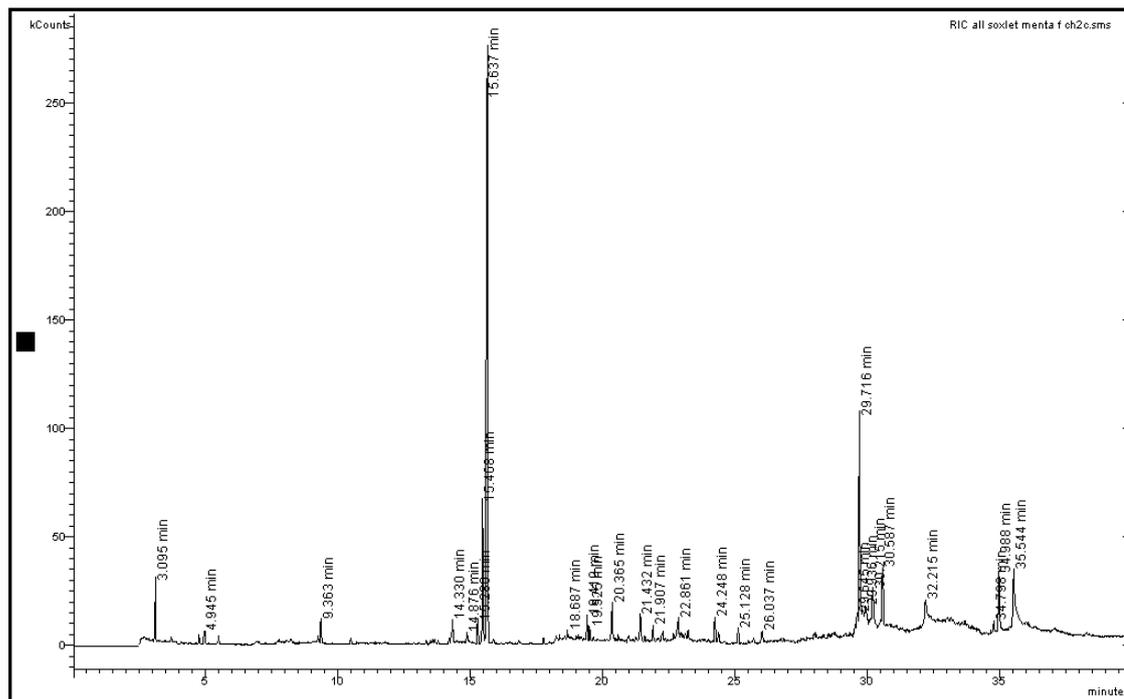


Figura III-II: Cromatograma do óleo de hortelã obtido por Soxhlet – fração diclorometano.

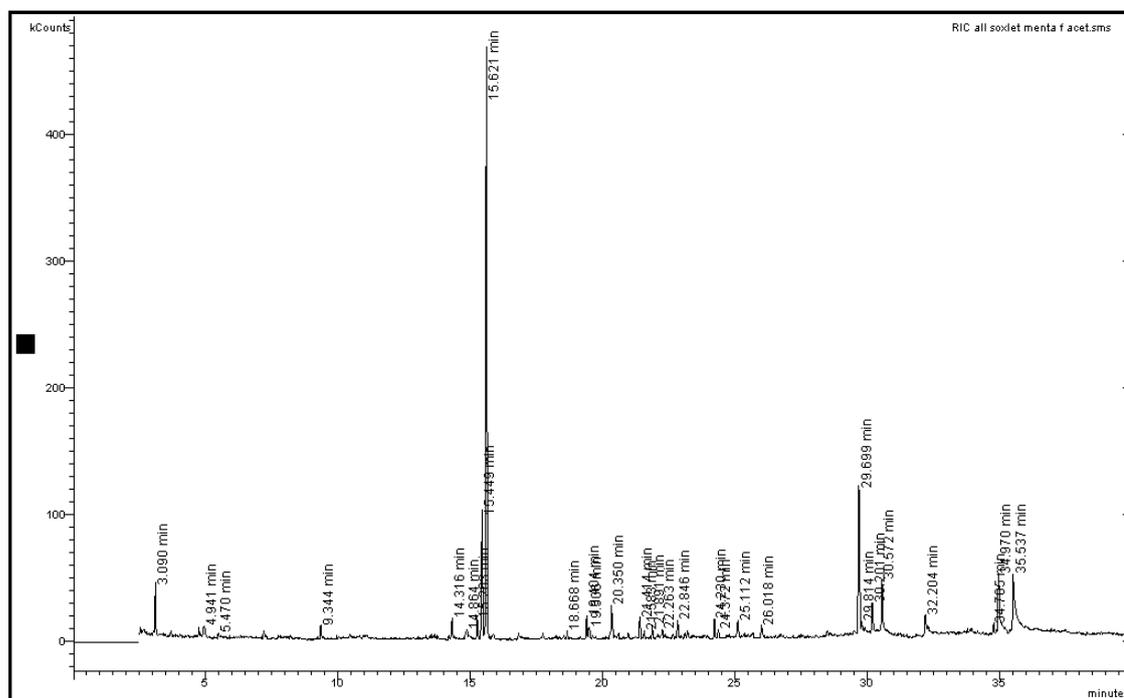


Figura III-III: Cromatograma do óleo de hortelã obtido por Soxhlet – fração acetato de etila

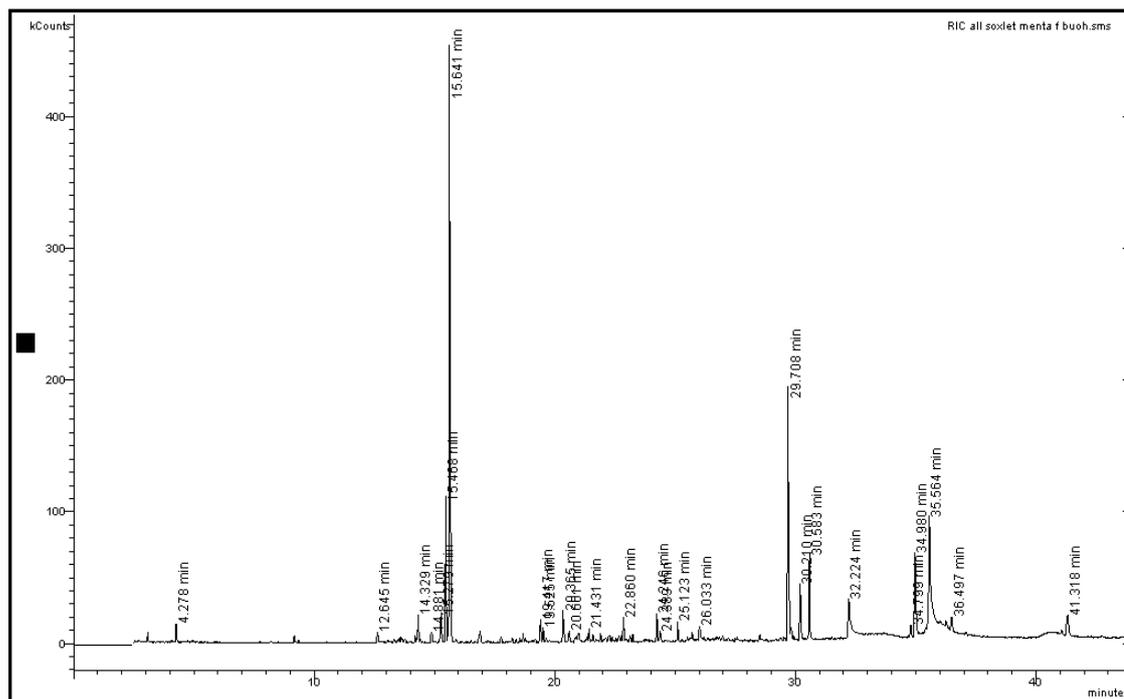


Figura III-IV: Cromatograma do óleo de hortelã obtido por Soxhlet – fração butanol.

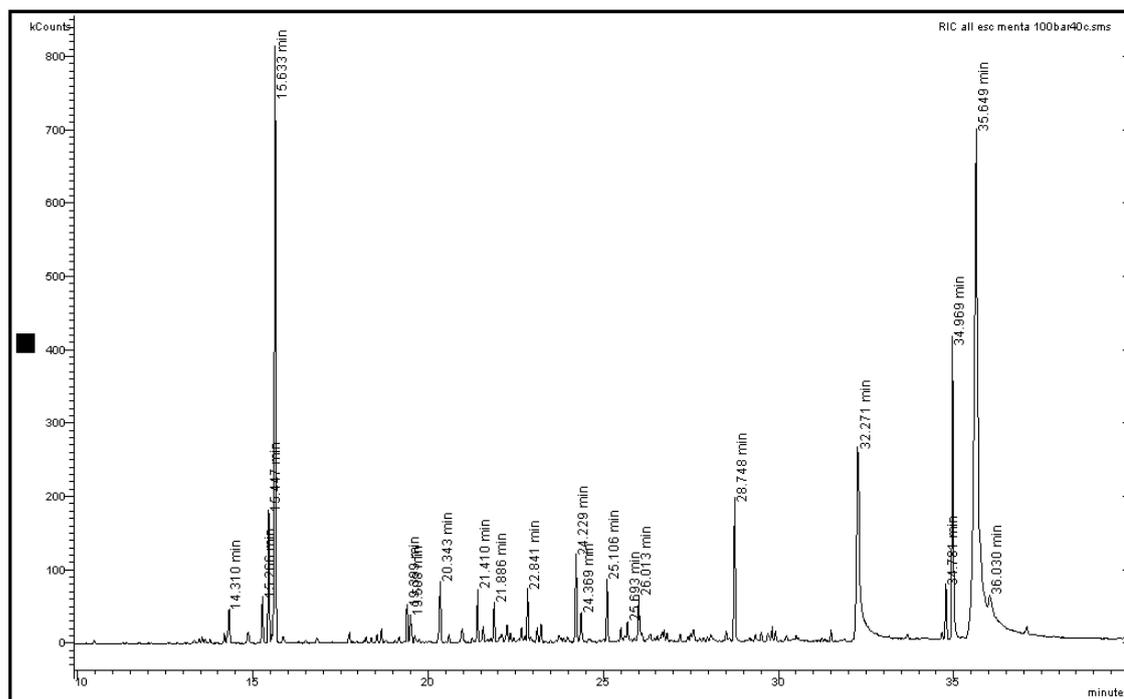


Figura III-V: Cromatograma do óleo de hortelã obtido por ESC a 100 bar e 40°C

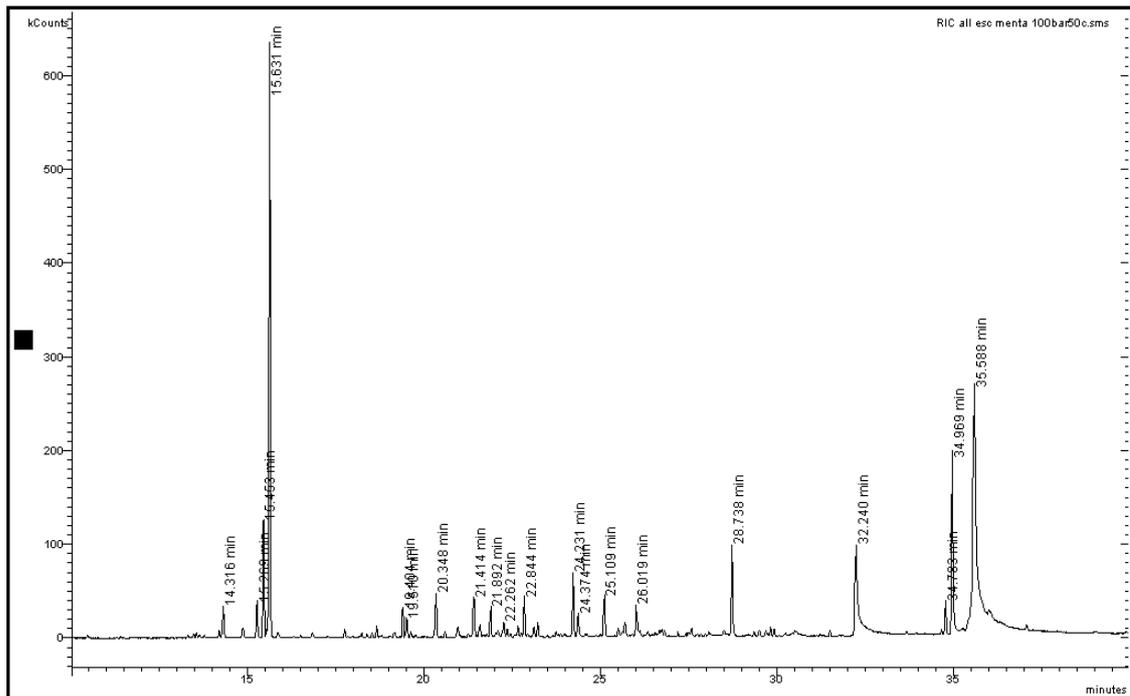


Figura III-VI: Cromatograma do óleo de hortelã obtido por ESC a 100 bar e 50°C

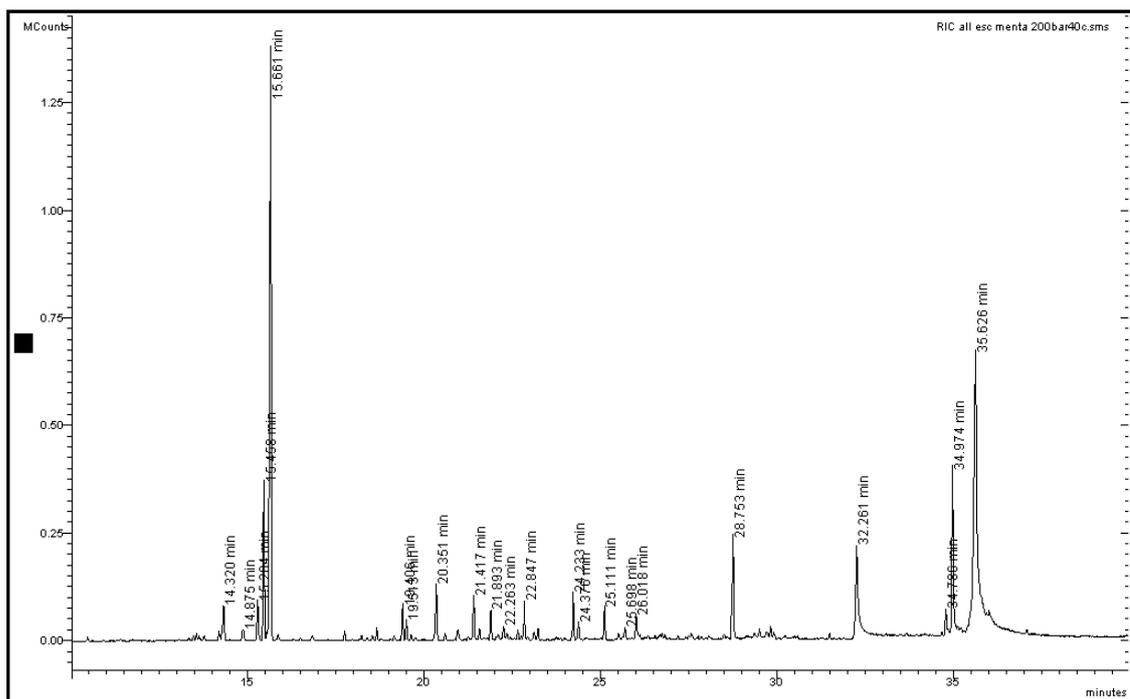


Figura III-VII: Cromatograma do óleo de hortelã obtido por ESC a 200 bar e 40°C

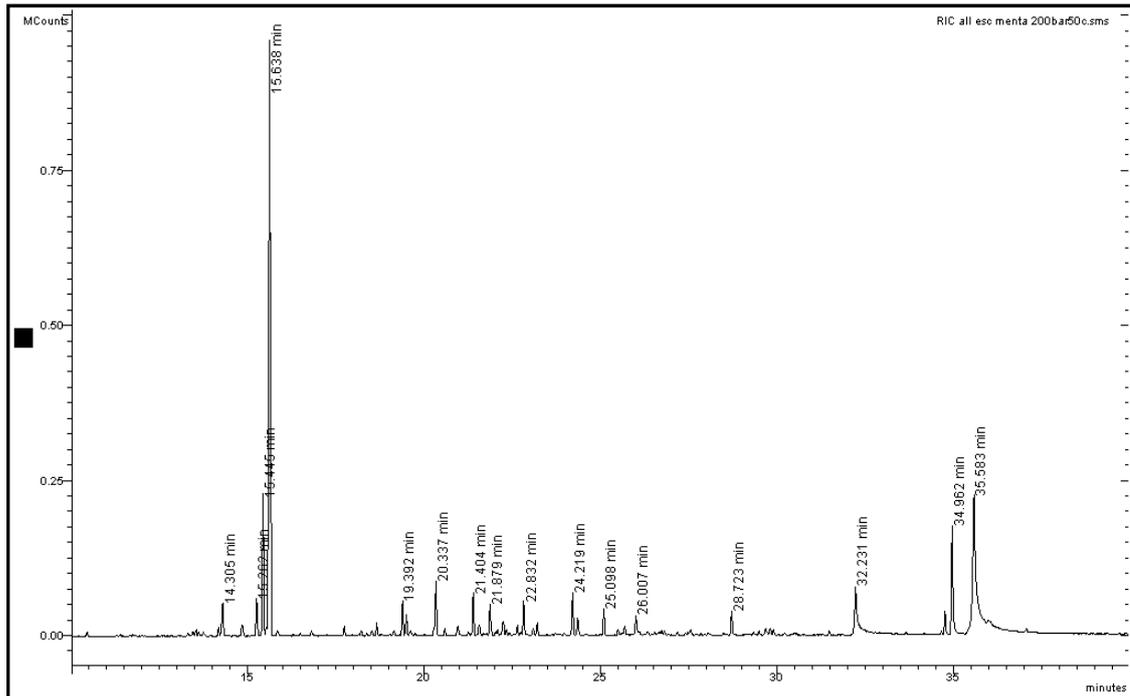


Figura III-VIII: Cromatograma do óleo de hortelã obtido por ESC a 200 bar e 50°C

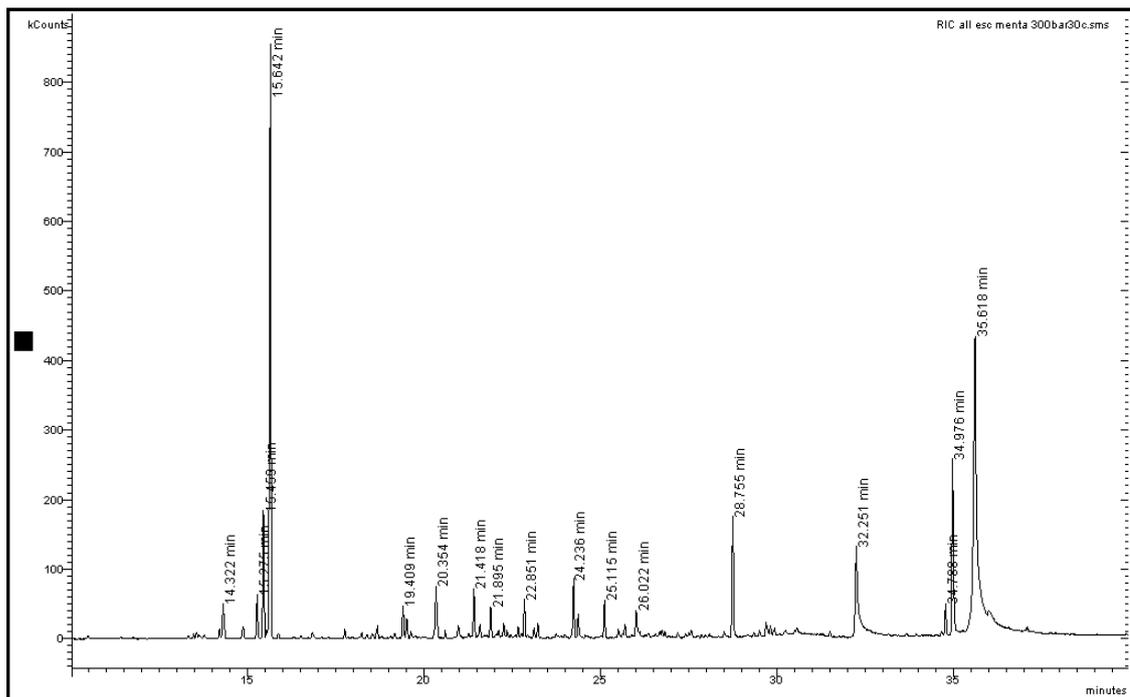


Figura III-IX: Cromatograma do óleo de hortelã obtido por ESC a 300 bar e 30°C

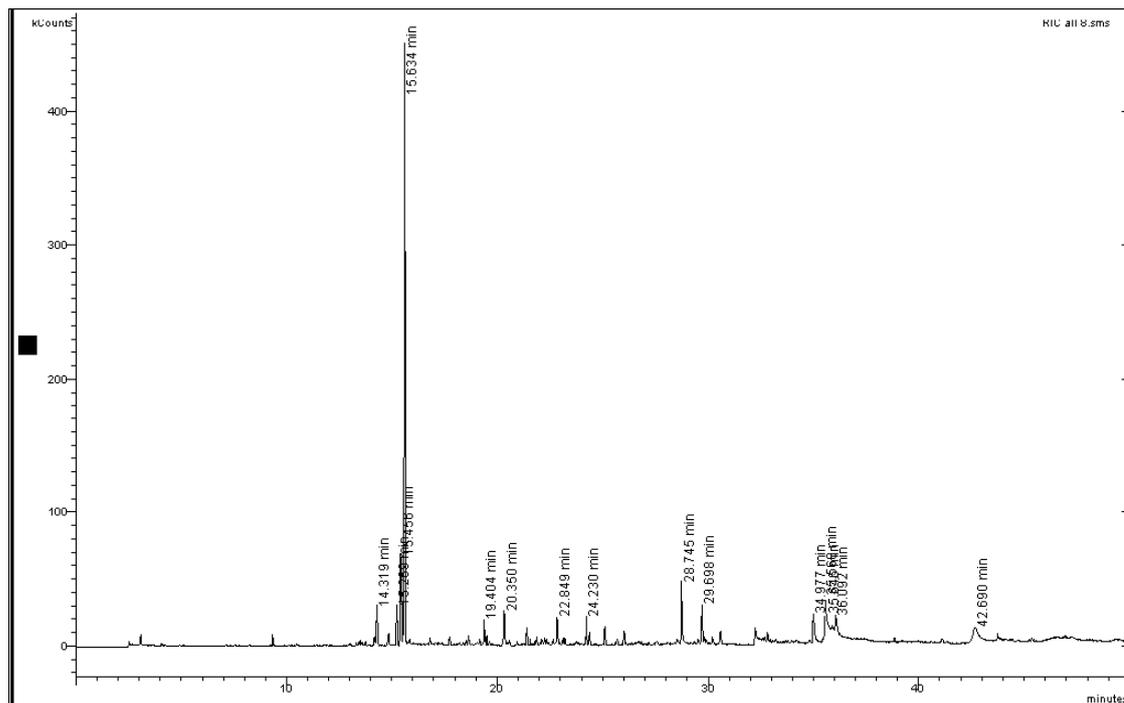


Figura III-X: Cromatograma do óleo de hortelã obtido por ESC a 150 bar, 40°C e 20% Etanol

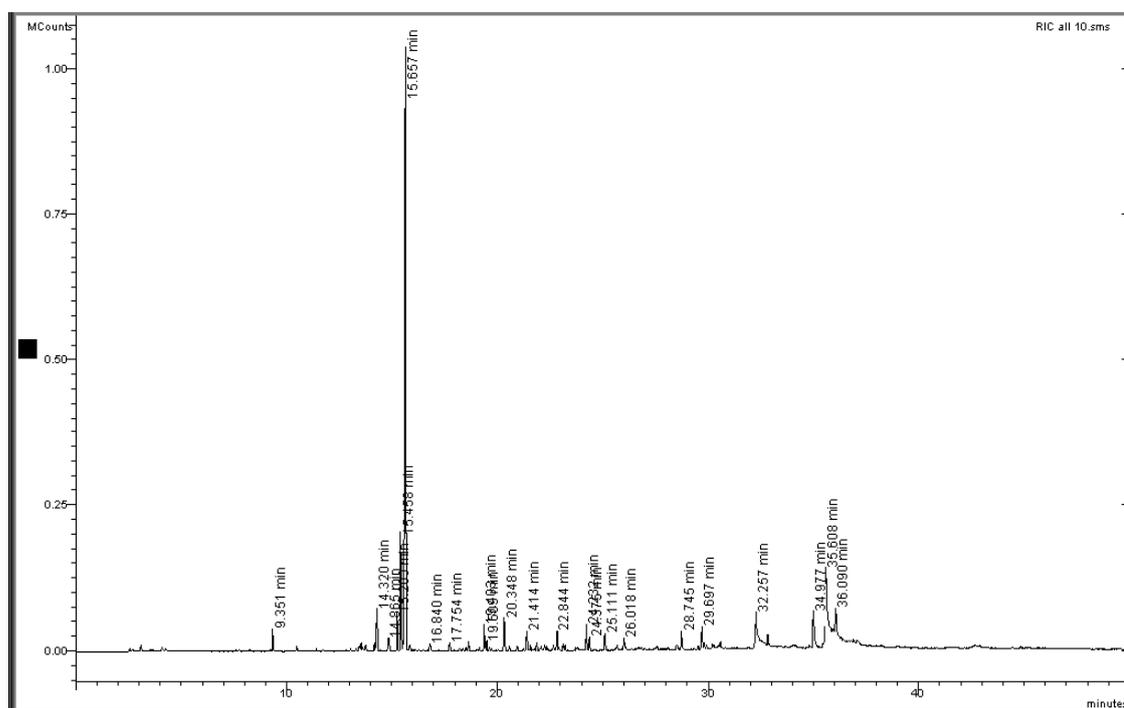


Figura III-XI: Cromatograma do óleo de hortelã obtido por ESC a 200 bar, 40°C e 15% Etanol

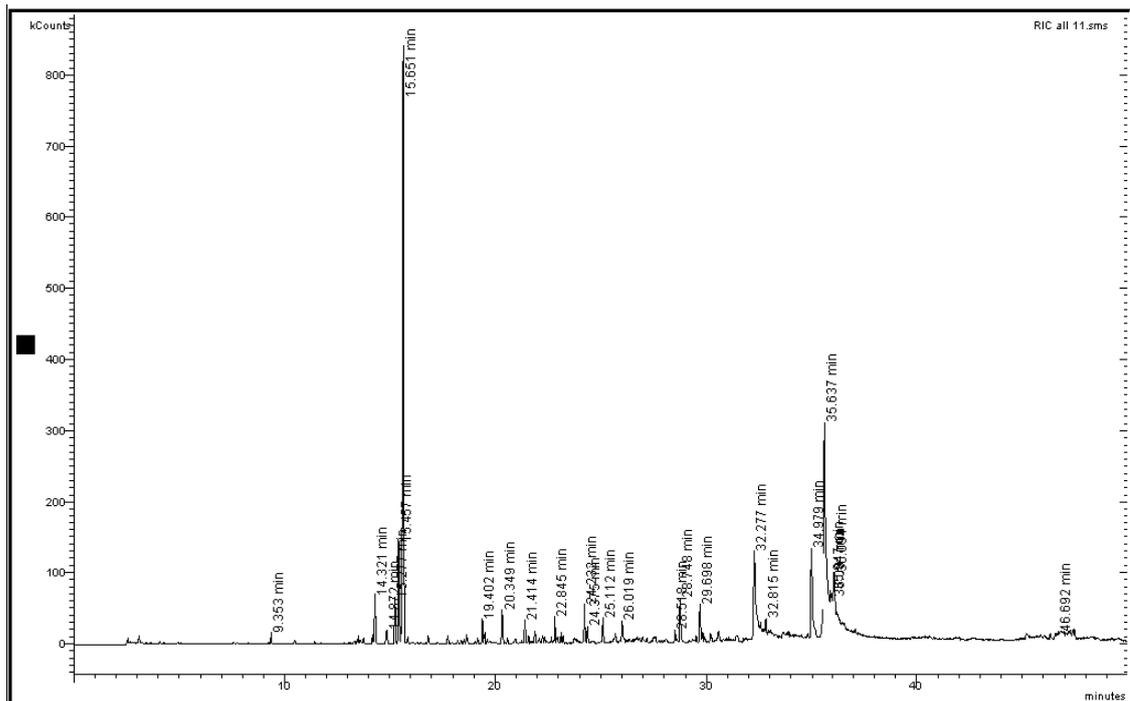


Figura III-XII: Cromatograma do óleo de hortelã obtido por ESC a 200 bar, 40°C e 20% Etanol

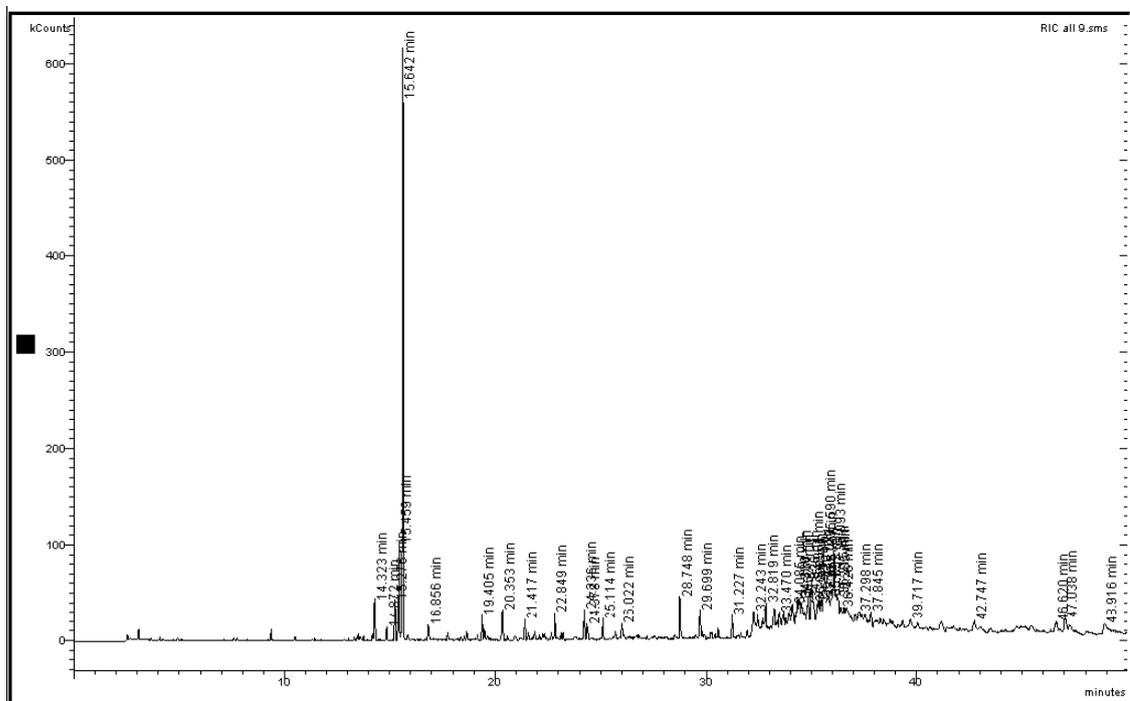
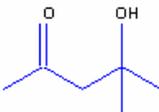
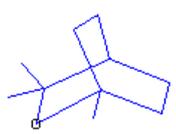
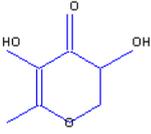
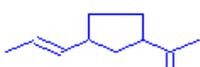
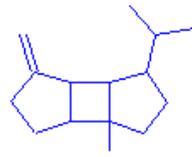
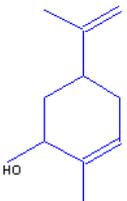
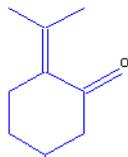
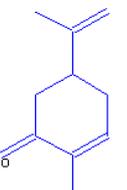
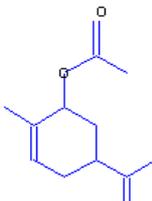
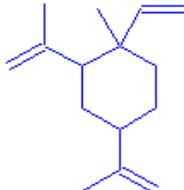
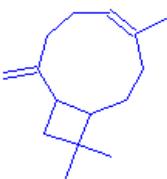
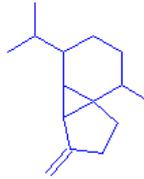
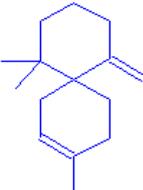
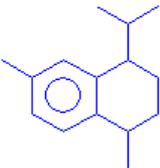
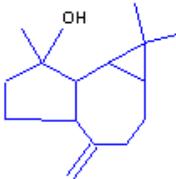
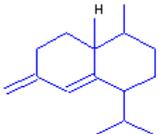
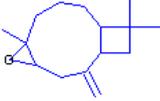
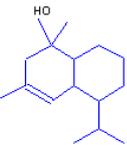
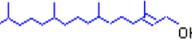
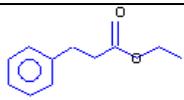
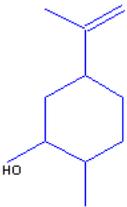
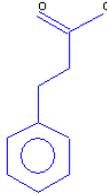
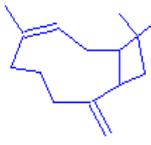
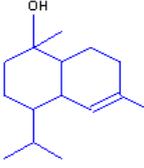
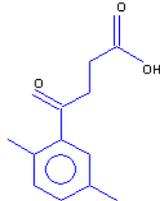
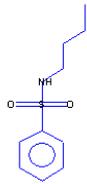
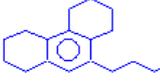


Figura III-XIII: Cromatograma do óleo de hortelã obtido por ESC a 230 bar, 40°C e 20% Etanol

## APÊNDICE IV

Tabela IV-I: Fórmulas estruturais dos compostos obtidos na extração de óleo de hortelã por diferentes técnicas e condições de processo

|  |   |  |  |  |
|--|---|--|--|--|
| <br>Diacetona                         | <br>Cineol                 | <br>Piranona              | <br>1-Isopropenil-3-propenilciclopentano | <br>$\beta$ -Bourboneno       |
| <br>Carveol                           | <br>Pulegona               | <br>Carvona               | <br>Acetato de Carveol                  | <br>$\beta$ -Elemeno          |
| <br>$\beta$ -Cariofileno            | <br>$\beta$ -Cubeneno    | <br>$\beta$ -Chamigreno | <br>Calameneno                         | <br>Espatuleno              |
| <br>(+)Epi-biciclo sesquifelandreno | <br>Óxido de Cariofileno | <br>$\tau$ -Muuroleno   | <br>1-Eicoseno                         | <br>3-Eicoseno              |
| <br>9-Eicoseno                      | <br>Ácido Palmítico      | <br>Palmitato de Etil   | <br>3-Heptadecen-5-ino,(Z)             | <br>Fitol                   |
| <br>Ácido Hexadecatrienico          | <br>Palmitato de Butil   | <br>Linolenato de Etil  | <br>4-Octadecenal                      | <br>Benzenopropoato de Etil |

|   |  |  |  |  |
|---|--|--|--|--|
|  <p>Dihidrocarveol</p>             |  <p>Ácido Benzeno-propanóico</p>                      |  <p>Humuleno</p>  |  <p>α-Cadinol</p> |  <p>Ácido Benzeno-butanóico,2,5-dimetil-gamma-oxo</p> |
|  <p>n-Butil Benzenosulfonamida</p> |  <p>Fenantreno, 9-butil-1,2,3,4,5,6,7,8-octahidro</p> |  <p>6,9,12,15 Ácido Docosatetra-enóico, metil ester</p> |  |  |

### APÊNDICE V

#### CURVAS DE ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DO ÓLEO DE HORTELÃ OBTIDAS POR DIFERENTES TÉCNICAS E CONDIÇÕES DE PROCESSO

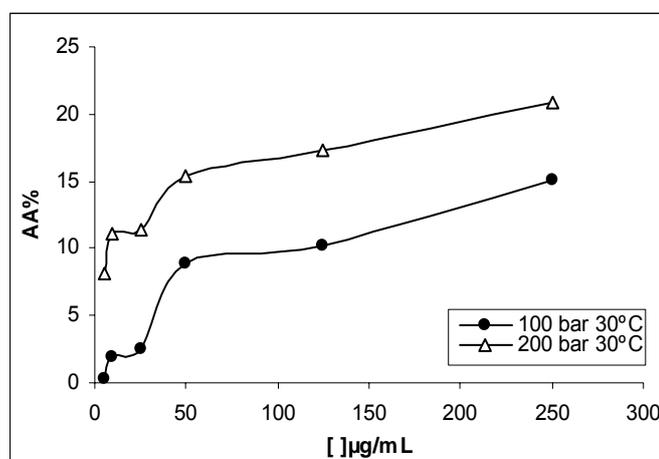


Figura V-I: Atividade antioxidante do óleo de hortelã a 100 bar e 200 bar e 30°C

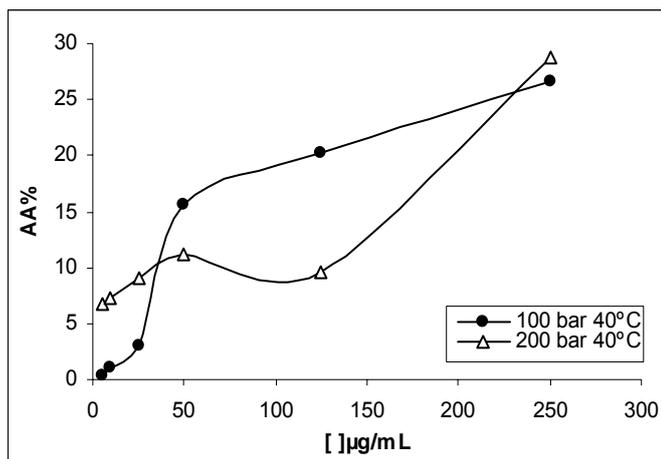


Figura V-II: Atividade antioxidante do óleo de hortelã a 100 bar e 200 bar e 40°C

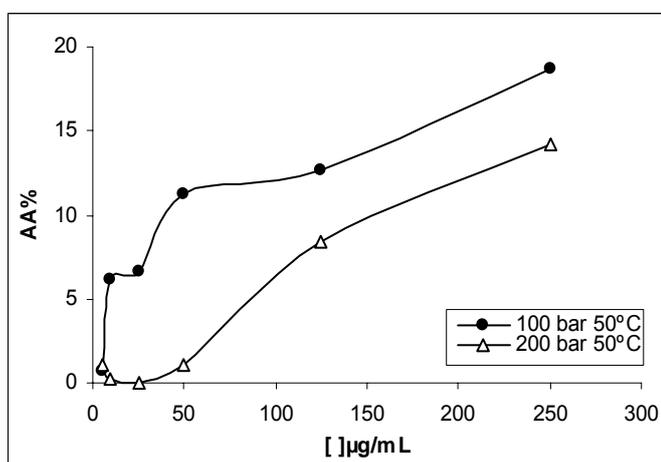


Figura V-III: Atividade antioxidante do óleo de hortelã a 100 bar e 200 bar e 50°C

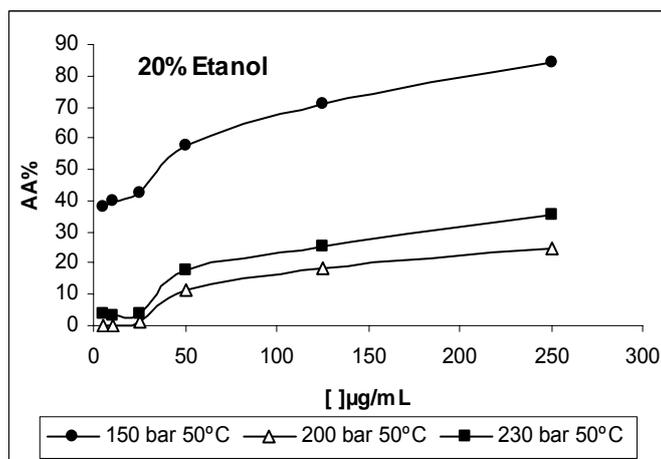


Figura V-IV: Atividade antioxidante do óleo de hortelã a 100 bar, 200 bar, 300 bar e 50°C e 20% Etanol

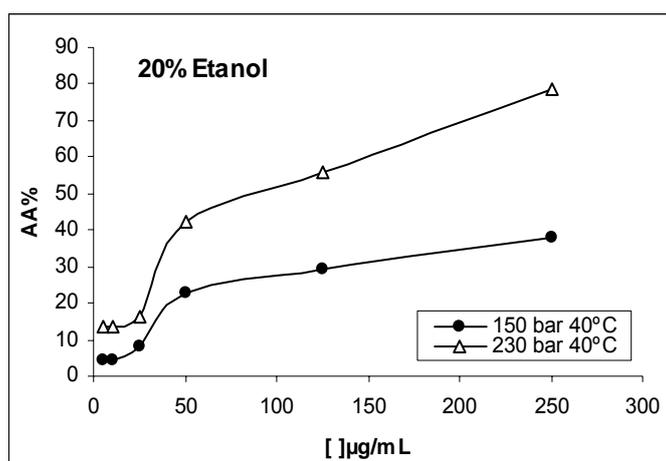


Figura V-V: Atividade antioxidante do óleo de hortelã a 150 bar e 230 bar, 40°C e 20% Etanol

## APÊNDICE VI

### COMPARAÇÃO ENTRE AS CURVAS DE EXTRAÇÃO EXPERIMENTAIS E MODELADAS PARA OS MODELOS ESTUDADOS

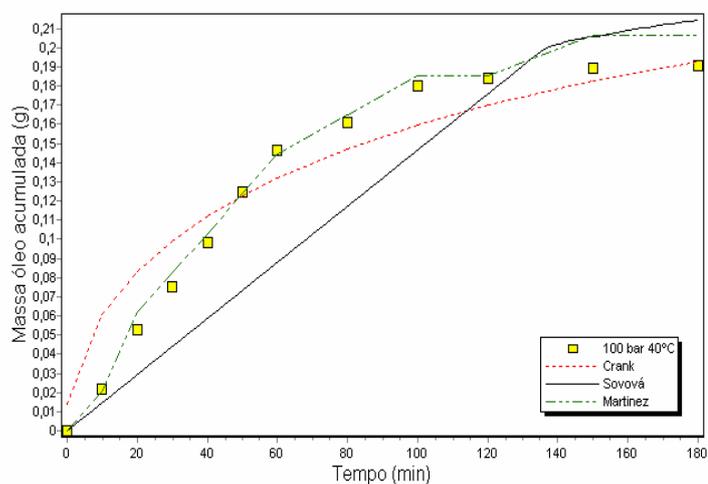


Figura VI-I: Curvas de extração experimental e modeladas para o óleo de hortelã para a condição de 100bar e 40°C

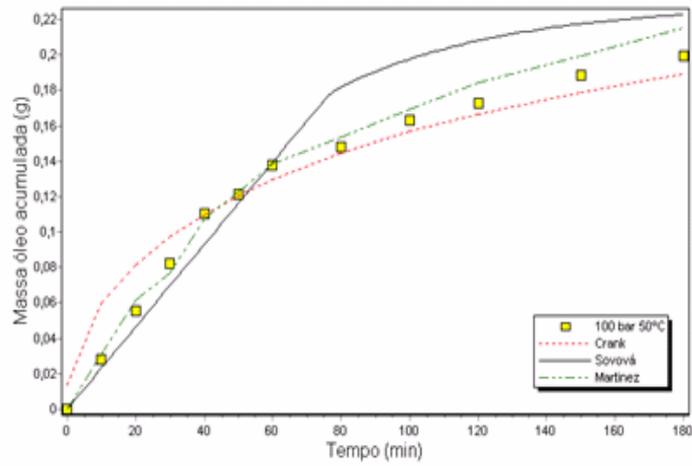


Figura VI-II: Curvas de extração experimental e modeladas para o óleo de hortelã para a condição de 100bar e 50°C

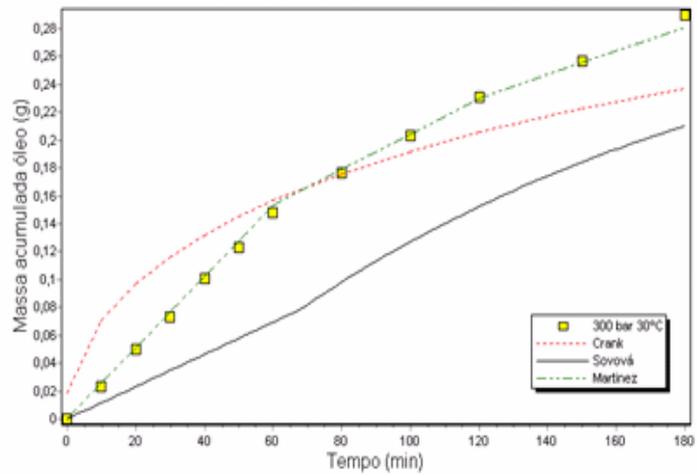


Figura VI-III: Curvas de extração experimental e modeladas para o óleo de hortelã para a condição de 300bar e 30°C

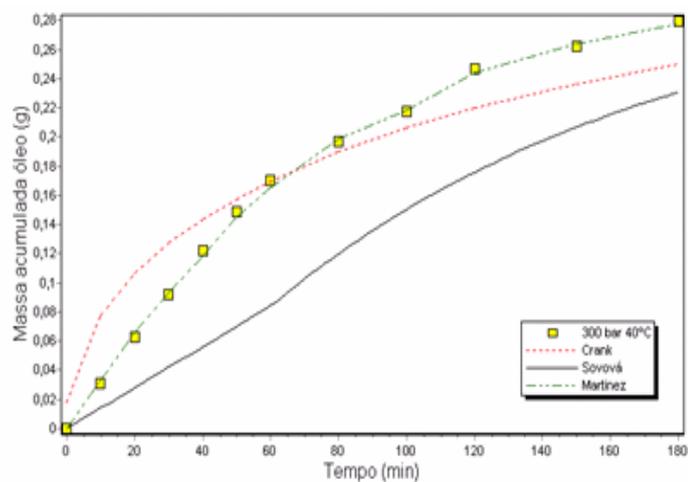


Figura VI-IV: Curvas de extração experimental e modeladas para o óleo de hortelã para a condição de 300bar e 40°C

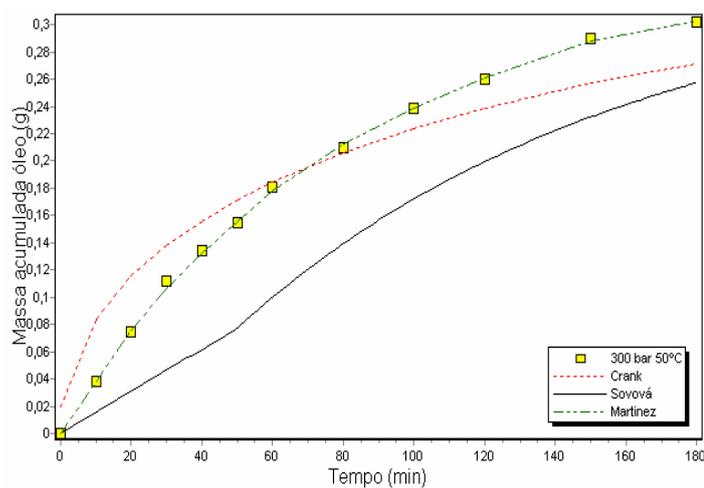


Figura VI-V: Curvas de extração experimental e modeladas para o óleo de hortelã para a condição de 300bar e 50°C

