

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA**  
**CENTRO TECNOLÓGICO**  
**Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química**

**FRACIONAMENTO DO ÓLEO ESSENCIAL DE  
PATCHOULI [*Pogostemon cablin* (Blanco) Benth.]  
OBTIDO POR EXTRAÇÃO SUPERCRÍTICA**

Dissertação submetida ao Curso de Pós-Graduação em Engenharia Química como requisito parcial para obtenção do Grau de Mestre em Engenharia Química.

**Alex Copetti de Araujo**

Orientador: Prof. Dr. Ariovaldo Bolzan

Co-Orientador: Prof. Dr. Ricardo Antonio Francisco Machado

Florianópolis, 2008.

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA**  
**CENTRO TECNOLÓGICO**  
**Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química**

**Alex Copetti de Araujo**

**FRACIONAMENTO DO ÓLEO ESSENCIAL DE  
PATCHOULI [*Pogostemon cablin* (Blanco)  
Benth.] OBTIDO POR EXTRAÇÃO  
SUPERCRÍTICA**

**Florianópolis, 2008.**

**“Fracionamento do óleo essencial de patchouli [*Pogostemon cablin* (Blanco) Benth.] obtido por extração supercrítica”**

Por

Alex Copetti de Araujo

Dissertação julgada para obtenção do título de **Mestre em Engenharia Química**, área de concentração de **Desenvolvimento de Processos Químicos e Biotecnológico**, aprovada em sua forma final pelo Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química da Universidade Federal de Santa Catarina.

---

Prof. Dr. Ariovaldo Bolzan  
**Orientador**

---

Prof. Dr. Agenor Furigo Jr.  
**Coordenador do CPGENQ**

**Banca Examinadora:**

---

Prof. Dr. Ricardo Antonio Francisco Machado

---

Prof. Dr. Haiko Hense

---

Prof. Dr. Luiz Alberto Vieira Sarmiento

**Florianópolis, 2008.**

“À minha querida Janaina...”

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus, causa primária de todas as coisas, a saúde e força para concluir este trabalho.

Ao Prof. Dr. Arioaldo Bolzan, meu orientador, pela confiança, incentivo, orientações e amizade.

Ao Prof. Dr. Ricardo Antonio Francisco Machado, meu co-orientador, pelos conselhos, lições e confiança.

Ao Prof. Dr. Haiko Hense, por participar da banca examinadora e pelas dicas sempre muito pertinentes.

Ao Prof. Dr. Luiz Alberto Vieira Sarmiento, primeiramente, por participar da banca examinadora. E, na qualidade de ex-colega de laboratório, obrigado pela acolhida, conselhos e ajuda.

Aos professores do Laboratório de Controle de Processos (LCP), Prof. Dr. Marinho Bastos Quadri e Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Mara Gabriela Novy Quadri, pelas orientações e dicas; Prof. Dr. Pedro Henrique Hermes de Araujo e Prof. Dr<sup>a</sup>. Claudia Sayer, pela companhia e incentivo.

Aos colegas de LCP, especialmente: Alessandra Marangoni, pela companhia, amizade, incentivo e dedicação; Julio Cesar, André Zibetti, Rafael Dias, Joana, Gustavo, André Nogueira, Caio, Ronny, Thais, Magda, José Eduardo (Zeca), Joel, Fernanda, Odinei, Patrícia, Ana Paula, Neusa, Letícia, Ledir, Marco, Gabriel, pela amizade, auxílio, risadas, tristezas e alegrias, isso tudo foi importante para a realização deste trabalho.

À prestativa orientação quanto às análises cromatográficas dos colegas M. Sc. João Renato Strelau e M. Sc. Alberto Wisniewski Junior.

E, em especial, a José de Araujo e Ioná Copetti de Araujo, meus pais, que me ensinaram tudo o que sei e que me deixaram de herança o caráter, a educação e o respeito ao próximo. Muito Obrigado!

Aos demais familiares, que sempre incentivam e sempre estão presentes, muito obrigado.

Ao CNPq pelo apoio financeiro.

E ao querido “Nanni”, por sempre estar comigo!

*“Na medida em que as leis da matemática referem-se à realidade, elas não são exatas; e na medida em que elas são exatas, elas não se referem à realidade. A imaginação é mais importante que o conhecimento”.*

*Albert Einstein*

## SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS .....	VIII
LISTA DE FIGURAS .....	X
RESUMO.....	XII
ABSTRACT .....	XIII
INTRODUÇÃO .....	1
1. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	4
1.1 Matriz Vegetal: Patchouli .....	4
1.2 Óleos Essenciais e o Óleo Essencial de Patchouli .....	6
1.3 Pré-tratamento da Matriz Vegetal .....	10
1.4 Fluidos Supercríticos.....	13
1.5 Extração Supercrítica .....	16
1.5.1 O Processo de Extração com CO <sub>2</sub> Supercrítico .....	17
1.5.2 Mecanismos de Transporte .....	21
1.5.3 Modelagem Matemática .....	22
1.5.4 Fracionamento de Óleos Essenciais e Substâncias.....	24
1.5.5 Aplicações da Extração Supercrítica .....	26
1.6 Composição Química dos Óleos Essenciais.....	29
2. MATERIAL E MÉTODOS .....	34
2.1 Preparação da Matriz Vegetal.....	34
2.2 Descrição do Equipamento e do Processo .....	36
2.3 Análises de Composição Química do Óleo Essencial de Patchouli.....	40
2.4 Determinação dos Parâmetros da ESC do Óleo Essencial de Patchouli....	41
2.4.1 Cálculo da Porosidade do Leito ( $\epsilon$ ).....	41
2.4.2 Cálculo da Densidade Aparente do Patchouli ( $\rho_a$ ).....	41
2.4.3 Cálculo da Densidade Real do Patchouli ( $\rho$ ).....	42
2.4.5 Cálculo do Rendimento da ESC do Óleo Essencial de Patchouli ( $\eta$ ).....	42
2.4.6 Determinação e Escolha do Tamanho Médio da Partícula de Patchouli	42
2.5 Experimentos Realizados .....	43
2.5.1 Estudo do rendimento do processo variando o tempo de extração.....	44
2.5.2 Estudo do “Tamanho Médio de Partícula” para aumento do rendimento do processo .....	44

2.5.3 Estudo da época de colheita .....	45
2.5.4 Estudo da composição química do óleo essencial de patchouli: compostos de interesse versus tempo de processo .....	45
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	46
3.1 Rendimento versus Tempo de Processo .....	46
3.2 Influência do Tamanho Médio de Partícula no Rendimento do Processo...	53
3.3 As Diferentes Épocas de Colheita.....	58
3.4 Análise da Composição Química do Óleo Essencial de Patchouli com o Tempo .....	62
3.5 Parâmetros da Extração Supercrítica do Óleo Essencial de Patchouli.....	71
3.5.1 Porosidade do Leito .....	71
3.5.2 Determinação do Tamanho “Médio” de Partícula.....	72
CONCLUSÃO.....	73
SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS .....	74
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	75
ANEXOS .....	82
Anexo I – Dados Experimentais .....	82
Anexo II – Relatório de Análises Cromatográficas.....	92
Anexo III – Publicações Resultantes desta Dissertação .....	102

**LISTA DE TABELAS**

Tabela 1 - Valores máximos de resíduos permitidos em extratos naturais .....	7
Tabela 2 - Propriedades terapêuticas do patchouli e de seu óleo essencial .....	9
Tabela 3 - Funções fisiológicas do óleo essencial de patchouli .....	10
Tabela 4 - Dados críticos para alguns componentes puros .....	15
Tabela 5 - Lotes de patchouli utilizados nesta dissertação .....	35
Tabela 6 – Rendimento das ESC realizadas à vazão de 1,2 L/min para os tamanhos de partícula estudados .....	55
Tabela 7 - Rendimento das ESC realizadas à vazão de 3,0 L/min para os tamanhos de partícula estudados .....	57
Tabela 8 - Dados comparativos entre as colheitas feitas em diferentes épocas do ano .....	62
Tabela 9 – Compostos identificados na análise de GC-MS da primeira amostra da extração de 20 minutos de tempo estático .....	65
Tabela 10 - Compostos identificados na análise de GC-MS da primeira amostra da extração de 50 minutos de tempo estático .....	66
Tabela 11 – Dados experimentais da extração supercrítica de 10 minutos de tempo estático .....	82
Tabela 12 – Dados experimentais da extração supercrítica de 20 minutos de tempo estático .....	82
Tabela 13 - Dados experimentais da extração supercrítica de 30 minutos de tempo estático .....	83
Tabela 14 - Dados experimentais da extração supercrítica de 40 minutos de tempo estático .....	84
Tabela 15 - Dados experimentais da extração supercrítica de 50 minutos de tempo estático .....	84
Tabela 16 - Dados experimentais da extração supercrítica de 60 minutos de tempo estático .....	85
Tabela 17 – Dados experimentais das extrações supercríticas realizadas no estudo comparativo de tamanho “médio” de partícula. Partícula 0,172 mm .....	85
Tabela 18 - Dados experimentais das extrações supercríticas realizadas no estudo comparativo de tamanho “médio” de partícula. Partícula 0,346 mm .....	87

Tabela 19 - Dados experimentais das extrações supercríticas realizadas no estudo comparativo de tamanho “médio” de partícula. Partícula 0,555 mm .....	88
Tabela 20 – Dados experimentais das extrações supercríticas realizadas para avaliação da influência da época de colheita .....	90

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Exemplar de [ <i>Pogostemon cablin</i> (Blanco) Benth.] usado nesta dissertação .....	5
Figura 2 – Detalhe das folhas de patchouli, parte da planta utilizada neste trabalho..	6
Figura 3 - Modelo de uma membrana elementar vegetal .....	11
Figura 4 - Definição do estado supercrítico para um componente puro (CP ponto crítico, TP ponto triplo, Tc temperatura crítica, Pc pressão crítica) .....	13
Figura 5 - Diagrama de fases do CO <sub>2</sub> .....	16
Figura 6 - Modelo esquemático de uma membrana elementar de uma célula vegetal .....	22
Figura 7 - Molécula de patchoulol, principal componente do óleo essencial de patchouli .....	32
Figura 8 - Molécula de $\alpha$ -bulneseno, importante sesquiterpeno do óleo essencial de patchouli .....	33
Figura 9 - Layout da Planta de Extração Supercrítica utilizada neste trabalho .....	38
Figura 10 - Curvas de extração para os diferentes tempos estáticos estudados. ....	47
Figura 11 – Curva de extração integral .....	48
Figura 12 – Curva de extração “ideal” (parte 1).....	49
Figura 13 - Curva de extração “ideal” (parte 2) .....	50
Figura 14 – Curva de extração “ideal” completa.....	51
Figura 15 – Curvas de eficiência para os diferentes tempos estáticos estudados ....	52
Figura 16 – Dados dos rendimentos das extrações supercríticas nos diferentes tempos estáticos.....	53
Figura 17 - Curvas de extração para os diferentes tamanhos de partícula na vazão de 1,2 L/min.....	54
Figura 18 - Curvas de extração para os diferentes tamanhos de partícula na vazão de 3,0 L/min.....	56
Figura 19 - Curvas de eficiência para os diferentes tamanhos de partícula e nas vazões estudadas.....	57
Figura 20 - Curvas de extração para plantas coletadas no inverno .....	58
Figura 21 - Curvas de extração para plantas coletadas no outono .....	60
Figura 22 - Curvas de extração comparativas entre diferentes estações do ano.....	61

Figura 23 – Comparação entre os cromatogramas obtidos por GC-MS para as amostras do início, meio e fim das extrações analisadas.....	654
Figura 24 – Perfil de concentração do patchoulol nas diferentes extrações analisadas .....	68
Figura 25 – Perfil de concentração do $\alpha$ -bulneseno nas diferentes extrações analisadas .....	70

## RESUMO

O fracionamento do óleo essencial de patchouli [*Pogostemon cablin* (Blanco) Benth.] extraído com dióxido de carbono supercrítico (CO<sub>2</sub>\_SC) foi estudado. Este óleo essencial é muito usado pela indústria de cosméticos e perfumaria como excelente fixador de aromas. Adotando-se pressão e temperatura de trabalho em 100 bar e 32°C, respectivamente, foram estudados alguns parâmetros nunca antes averiguados para o patchouli. O trabalho se dividiu em quatro frentes de estudo: *aumento de rendimento variando o tempo de extração e tempo estático; análise do tamanho ideal de partícula; épocas de colheita; composição química do óleo essencial*. O tempo estático combinado com o tempo de coleta de amostras foi estudado com o objetivo de aumentar o rendimento do processo, resultando em um tempo ideal de 20 minutos de tempo estático e de tempo para coleta de amostras. Três tamanhos “médios” de partículas foram estudados à duas diferentes vazões de solvente. O tamanho de partícula ideal para a extração supercrítica do óleo essencial de patchouli foi de 0,346 mm à vazão de 1,2 L/min de CO<sub>2</sub>. Lotes de folhas de patchouli colhidas em diferentes épocas do ano foram usados para extração de seu óleo essencial. A época do ano nas quais se obtiveram melhores rendimentos foi no inverno. A composição química do óleo essencial de patchouli foi estudada com a intenção de saber a que tempo de processo os principais compostos de interesse (*patchoulol* e *α-bulneseno*) são extraídos. As amostras de óleo essencial analisadas forneceram resultados suficientes para se traçar o perfil de concentração destes compostos com o tempo de extração. Sabendo-se o tempo ideal de coleta de amostras, pode-se estabelecer um método de fracionamento para óleo essencial de patchouli.

## ABSTRACT

*The fractionation of the essential oil of patchouli [Pogostemon cablin (Blanco) Benth.] extracted with supercritical carbon dioxide (CO<sub>2</sub>\_SC) was studied. This oil is widely used by industries of cosmetics and fragrances. Bringing up of work pressure and temperature at 100 bar and 32 ° C, respectively, were studied some parameters never before investigated for the patchouli. The work was divided into four subjects of study: increasing yield varying the static period and the total time of extraction; analysis of the optimal particle size; harvest period; chemical composition of the essential oil. The static period combined with the time of collection of samples was studied with the objective of increasing the yield of the process, resulting in an ideal time of 20 minutes of static period and time for collection of samples. Three "averages" particles sizes were studied for two different flows of solvent. The ideal particle size for the supercritical extraction of essential oil of patchouli was 0.346 mm, at flow rate of 1.2 L / min of CO<sub>2</sub>. Lots of patchouli leaves harvested at different times of the year were used for extraction of its essential oil. The time of the year which it was obtained better yield is the winter. The chemical composition of the essential oil of patchouli was studied with the intention of knowing that process time the main compounds (patchoulol and  $\alpha$ -bulnesene) are extracted. Samples of essential oil analyzed results provided sufficient to trace the profile of concentration of these compounds. Knowing the perfect time of collection of samples, can be possible to establish a method for the fractionation of patchouli essential oil.*

## INTRODUÇÃO

Óleos essenciais são substâncias muito estudadas em vários ramos da ciência. As indústrias de alimentos, farmacêutica e de cosméticos são as maiores beneficiadas pelo uso de tais substâncias. Na primeira, os aromas produzidos pelos óleos essenciais são utilizados na formulação de vários produtos, evidenciando características organolépticas para melhor atrair os consumidores.

O isolamento de princípios ativos de plantas medicinais é um dos principais atrativos dos óleos essenciais, assim como o fracionamento de substâncias com atividades terapêuticas, sendo estes os alvos da indústria farmacêutica.

A indústria de cosméticos talvez seja a maior beneficiada pelo uso dos óleos essenciais. Produtos como cremes, loções hidratantes e, principalmente perfumes são produzidos à base de tais óleos.

O óleo essencial de patchouli é extensivamente utilizado em perfumaria, onde é fixador de aromas e mascara odores desagradáveis e indesejáveis. O principal responsável por esta característica e pela nota típica de seu óleo essencial é o patchoulol ou álcool patchouli, um sesquiterpeno oxigenado. O patchoulol foi isolado pela primeira vez na sua forma cristalina em 1869 e formulado como  $C_{15}H_{26}O$ .

O óleo ainda contém um grande número de outros hidrocarbonetos sesquiterpenos tais como,  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\sigma$  – patchoulenos,  $\alpha$ -bulneseno,  $\alpha$ -guaieno e seicheleno, com estruturas claramente relacionadas ao patchoulol e outros sesquiterpenos.

Aliás, o  $\alpha$ -bulneseno é um sesquiterpenóide isolado do óleo essencial de *Pogostemon cablin*, apresentando um potente efeito inibitório do fator de ativação plaquetária (PAF). Por isso, tem sido usado no combate à trombose e arteriosclerose.

Na última década, muitos estudos de aplicações de fluidos supercríticos têm sido estudados. Dentre eles, o processo de extração supercrítica e fracionamento de óleos essenciais retirados de matrizes vegetais destacam-se como técnicas inovadoras.

A separação fracionada dos extratos supercríticos é um conceito bem conhecido que pode ser útil para melhorar a seletividade do processo de extração supercrítica. Em vários casos, não é possível evitar a co-extração de algumas famílias de compostos (indesejáveis ou não), sendo necessárias etapas sucessivas de separação, seja pela mudança de pressão e temperatura, seja por técnicas de coleta de amostras.

A presença de componentes de alto peso molecular pode ou não ser desejável, dependendo do objetivo de uso deste composto. Sendo o poder solvente do CO<sub>2</sub> supercrítico fortemente dependente da sua densidade, este parâmetro torna-se importante para fracionar componentes. Pela modulação de pressão e/ou temperatura, facilmente consegue-se mudar a densidade deste solvente e, conseqüentemente, extrai-se os compostos de interesse.

A identificação de compostos orgânicos de extratos de plantas é de grande importância. Sendo que estes extratos são uma mistura complexa de compostos orgânicos, requerem técnicas apropriadas de fracionamento que permitam uma melhor análise de seus constituintes individuais.

A cromatografia gasosa é usada quase exclusivamente para a análise qualitativa de voláteis. Os tempos de retenção são utilizados como critério primário para a identificação dos picos. O espectrômetro de massas usado como detector cromatográfico oferece dados adicionais para a identificação dos compostos separados.

Esta dissertação explorou a extração supercrítica do óleo essencial de patchouli utilizando o dióxido de carbono como solvente supercrítico. O fracionamento do óleo essencial é o tema central do trabalho, sendo focado na identificação de dois compostos de grande interesse: o patchoulol, de interesse da indústria de perfumes e o  $\alpha$ -bulneseno, de interesse da área médica.

Foram estudados também outros parâmetros de processo, tais como o tempo de extração e o tamanho de partícula, visto que pressão e temperatura ótimas foram estudadas em trabalho anterior. Outros aspectos importantes foram levados em consideração: as épocas de colheita da planta, muito comentadas em trabalhos de extração supercrítica, bem como o pré-tratamento da matéria-prima.

Os objetivos deste trabalho são:

## Objetivo Geral

Fracionar o óleo essencial de patchouli [*Pogostemon cablin* (Blanco) Benth.] obtido por extração supercrítica, por meio de coleta de amostras a diferentes intervalos de tempo, buscando encontrar dois compostos de interesse: *patchoulol* e  *$\alpha$ -bulneseno*.

## Objetivos Específicos

- i. Avaliar o rendimento da extração supercrítica do óleo essencial de patchouli variando o tempo estático e o tempo de coleta de amostras;
- ii. Avaliar diferentes tamanhos “médios” de partícula de patchouli, extraídos em duas vazões diferentes, objetivando maximizar o rendimento do processo;
- iii. Estudar diferentes épocas de colheita do patchouli, em diferentes estações do ano a fim de avaliar os rendimentos obtidos no processo;
- iv. Estudar a composição química do óleo essencial de patchouli segundo análises de cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas e cromatografia com detector de ionização de chamas.

A organização adotada nesta dissertação está dividida em capítulos na seguinte ordem: introdução, revisão bibliográfica, material e métodos, resultados e discussão, conclusão, referências bibliográficas e anexos.

## 1. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

O Capítulo I desta dissertação refere-se à Revisão Bibliográfica e visa situar e informar sobre o processo de Extração Supercrítica (ESC).

Os temas apresentados neste tópico versam sobre: a matriz vegetal (patchouli); os óleos essenciais de forma geral e, em especial, o óleo essencial de patchouli; preparação do patchouli; os fluidos supercríticos; extração supercrítica; fracionamento de óleos essenciais; composição química dos óleos essenciais e do óleo essencial de patchouli.

### 1.1 MATRIZ VEGETAL: PATCHOULI

Patchouli [*Pogostemon cablin* (Blanco) Benth.] é uma planta da espécie da família das *Lamiaceae* ou “lip-flower” (hortelã). A planta é uma erva tropical perene que se originou no sudeste da Ásia e agora cresce principalmente na Malásia, Indonésia, Filipinas, China, Índia, Seychelles e Brasil (HOLMES, 1997).

O patchouli é uma planta arbustiva que tem altura de 0,8 a 1,0 m e que prefere um clima quente e úmido com solos ricos em matéria orgânica. O caule é ereto, grosso, quadrangular e ramificado na parte superior. As folhas, de onde se obtém seu óleo essencial, são lisas, aveludadas, cobertas com glândulas de óleo em ambas as faces, fortemente aromáticas, medindo de 5 a 10 cm de comprimento por 3 a 7 cm de largura (SILVA JÚNIOR, 2003 *apud* DONELIAN, 2004).

Originário da Ásia, em algum lugar entre a Índia e a Malásia, o patchouli tem sido muito usado em casas, em clínicas e em templos. O nome do oeste é derivado do seu nome sul-indiano *Tamil*, *paccizai*. Na Grécia antiga a planta seca importada era conhecida como *Phyllon indikon* (folha indiana) e, às vezes, *Malabathron*. Na China o chamaram de “guang huo xiang” para diferenciá-lo do “huo xiang” do norte, a espécie *Agastache rugosa* (HOLMES, 1997; HU *et al.*, 2006).

Singh *et al.* (2002) realizaram um estudo em relação à influência da irrigação, adubação orgânica e aplicação de nitrogênio sobre a planta, o rendimento e a

qualidade do óleo essencial de patchouli extraído. Utilizaram dois níveis de irrigação [0,8 e 1,0 taxas de IW:CPE (profundidade da água na irrigação: acúmulo diário de evaporação do padrão)], dois níveis de adubação orgânica (0 e 5 t ha<sup>-1</sup>) e três níveis de nitrogênio (0, 100 e 200 kg ha<sup>-1</sup>), sendo feitas colheitas com diferença de um ano. Observaram que houve aumento significativo nas quantidades de plantas e de óleo essencial por hectare quando se aumentou os níveis dos indicadores (cerca de 30% para o nível de irrigação, 82% para o nível de adubação orgânica, 128% quando se aumentou o nível de nitrogênio de 0 para 100 kg ha<sup>-1</sup> e 20% quando se aumentou o nível de nitrogênio de 100 para 200 kg ha<sup>-1</sup>).

Na Figura 1 pode-se ver uma fotografia de um exemplar de patchouli, espécie [*Pogostemon cablin* (Blanco) Benth.], utilizada neste trabalho e na Figura 2, detalhe das folhas, parte utilizada para a extração supercrítica.



**Figura 1 – Exemplar de [*Pogostemon cablin* (Blanco) Benth.] usado nesta dissertação**



**Figura 2 – Detalhe das folhas de patchouli, parte da planta utilizada neste trabalho**

## 1.2 ÓLEOS ESSENCIAIS E O ÓLEO ESSENCIAL DE PATCHOULI

Neste subitem, apresenta-se, primeiramente, definições de óleos essenciais: uma oficial, baseada em uma resolução da ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária), e outra, encontrada em fonte de informação pública, mais comumente na rede mundial de computadores. Posteriormente, são apresentados aspectos gerais dos óleos essenciais e, especificamente, sobre o óleo essencial de patchouli.

Segundo a Resolução RDC nº 2 de 15 de janeiro de 2007 da ANVISA, que dispõe sobre o Regulamento Técnico sobre Aditivos Aromatizantes, os óleos essenciais estão classificados na classe de “Aromatizantes Naturais” sob a seguinte definição:

*“São produtos voláteis de origem vegetal obtidos por processo físico (destilação por arraste com vapor de água, destilação a pressão reduzida ou outro método adequado). Os óleos essenciais podem se apresentar isoladamente ou misturados entre si, retificados, desterpenados ou concentrados. Entende-se por retificados, os produtos que tenham sido submetidos a um processo de destilação fracionada para concentrar*

*determinados componentes; por concentrados, os que tenham sido parcialmente desterpenados; por desterpenados, aqueles dos quais tenha sido retirada a quase totalidade dos terpenos”.*

Ainda, na mesma resolução, pode-se encontrar a seguinte afirmação:

*“Fica autorizado o uso dos seguintes solventes para a obtenção de extratos naturais. A concentração de resíduos destes solventes no alimento pronto para consumo não deve superar os valores indicados na tabela seguinte:”*

**Tabela 1 - Valores máximos de resíduos permitidos em extratos naturais**

<b>Solventes de Extração</b>	<b>Concentração máxima de resíduos (mg/kg)</b>
Acetato de etila	10,0
Acetona	2,0
Butano	1,0
1-Butanol	1,0
Ciclohexano	1,0
Diclorometano	0,1
Dióxido de Carbono	Limite não especificado
Éter de Petróleo	1,0
Éter Dibutílico	2,0
Éter Dietílico	2,0
Éter Metil terc-butílico	2,0
Éter Metil Cetona	1,0
Hexano	1,0
Isobutano	1,0
Metanol	10,0

**Tabela 1 - Valores máximos de resíduos permitidos em extratos naturais (continuação)**

Propano	1,0
Tolueno	1,0

Fonte: ANVISA, RDC N°2, 15/01/2007.

É importante salientar que o termo destacado na Tabela 1, dióxido de carbono, o qual é utilizado neste trabalho como solvente supercrítico, não possui nenhuma restrição de uso, pois é facilmente separado por descompressão, como será comentando em itens subseqüentes.

Há também definições populares encontradas na *internet*, entre as quais a seguinte:

*“Óleos essenciais são substâncias voláteis extraídas de plantas aromáticas, constituindo matérias-prima de grande importância para as indústrias cosmética, farmacêutica e alimentícia. Essas substâncias orgânicas, puras e extremamente potentes são consideradas a alma da planta e são os principais componentes bioquímicos de ação terapêutica das plantas medicinais e aromáticas”.*

O **Óleo Essencial de Patchouli** é um líquido viscoso âmbar, de pálido a castanho escuro, produzido por destilação com arraste a vapor de grandes folhas secas (ou outros processos apropriados, como a Extração Supercrítica, por exemplo). Para se obter rendimentos satisfatórios, as paredes celulares das folhas devem ser primeiramente quebradas. O odor do óleo melhora com a idade, tornando-se mais doce e rico. O óleo de patchouli é extensivamente usado em perfumaria onde é uma nota de base importante para acordes amadeirado e de raízes em vários tipos de perfume, incluindo o oriental. A indústria de alimentos também usa comumente o óleo de patchouli em drinks alcoólicos ou não. Em ambas as indústrias de fragrâncias e de aromas o óleo é um bom agente de “mascaramento” de cheiros e gostos indesejáveis (HOLMES, 1997).

Nas Tabelas 2 e 3 podem-se encontrar algumas propriedades tanto da planta como do óleo essencial de patchouli.

**Tabela 2 - Propriedades terapêuticas do patchouli e de seu óleo essencial**

<b>NATUREZA TERAPÊUTICA</b>	
<b>Nota</b>	Nota de base
<b>Aroma</b>	Doce-amadeirado, com uma nota fracamente aromática, com uma dica de verde floral, nota de vinho
<b>Sabor</b>	Amargo, Pungente e Doce
<b>Temperatura</b>	Morno
<b>Umidade</b>	Seco
<b>Efeitos</b>	Estimulante, relaxante, digestivo, respiratório, sistema nervoso, baço, estômago
<b>Toxicidade oral</b>	Nenhuma
<b>Irritação da pele</b>	Não irritante
<b>Sensibilização</b>	Nenhuma

Adaptado de HOLMES, (1997).

**Tabela 3 - Funções fisiológicas do óleo essencial de patchouli**

<b>Funções Fisiológicas</b>	
<b>Ações</b>	
1-	Estimulante gastrointestinal: pungente digestivo, carminativo e antiemético
2-	Anti-infeccioso (bactericida, antifúngico, expectorante), antiinflamatório e anti-séptico
3-	Nervo-sedativo: analgésico e hipnótico
4-	Descongestionante venoso, diurético
5-	Regenerador de tecidos (citofilático e cicratizante), emoliente, antialérgico, adstringente, antiparasita, repelente e desodorante
6-	Regenerador de tecidos
<b>Indicações</b>	
(1 e 2)- Deficiente gastrointestinal com excesso de muco e produção de microrganismos (toxina microbiana) causando dispepsia crônica, fezes, desconforto abdominal ou dor, fadiga, dor de cabeça; intoxicação alimentar, gastroenterite, náuseas	
3- Dores (espasmos musculares, dor de cabeça, cólica, angina de peito), agitação, irritabilidade, insônia, stress crônico, ansiedade	
4- Insuficiência venosa com hemorróidas (interna e externa), varicose venosa	
5- Cicratizante, pele áspera, pele envelhecida, problemas de pele em geral, feridas, chagas, celulite, acne, eczema, dermatite inflamatória (incluindo alérgica) micoses, etc.	

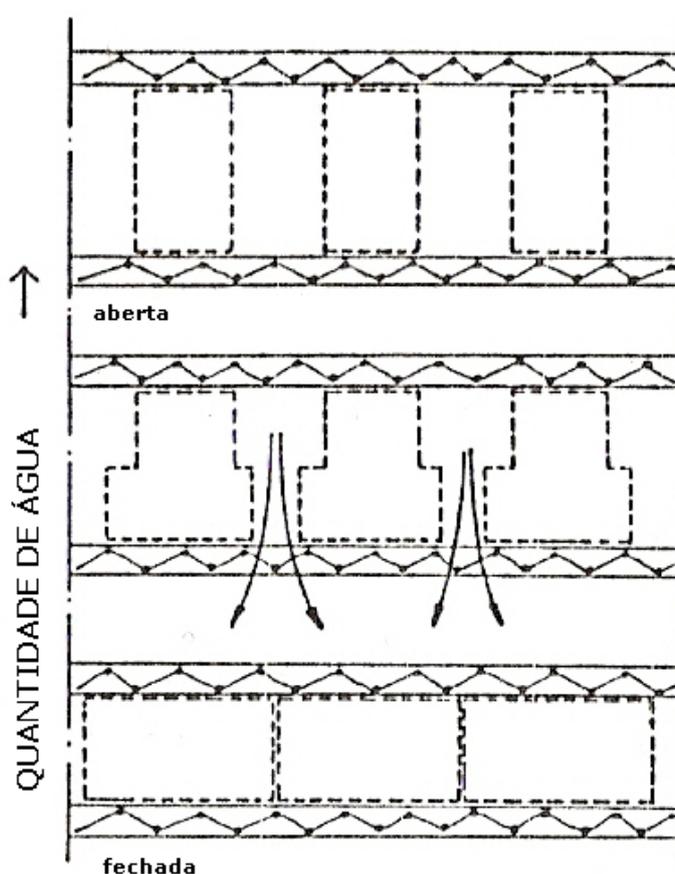
Adaptado de HOLMES, (1997).

### 1.3 PRÉ-TRATAMENTO DA MATRIZ VEGETAL

Independentemente da época de colheita, as plantas devem ser colhidas sempre da mesma forma e, especialmente para a ESC, precisam ser em dias ensolarados, sendo que os dias anteriores à colheita (dois, pelo menos) devem ser

dias em que não houve chuva, de modo que as plantas tenham o mínimo de umidade em suas células.

A membrana elementar das células vegetais tem poros os quais podem ser permeados por água e por lipídeos. Pela dinâmica de tal membrana pode-se explicar o papel da água durante o processo de extração com plantas. Os pilares de lipídeo de uma membrana elementar mudam com o conteúdo de água. Se não há água o bastante no sistema, os pilares fecham a membrana, fazendo-a impermeável. Se água o bastante está disponível, a membrana torna-se permeável (BRUNNER, 1994). Por isso a importância da secagem das plantas antes de serem colocadas no extrator. A Figura 3 apresenta a dinâmica de permeabilidade de uma membrana elementar de celular vegetal.



**Figura 3 - Modelo de uma membrana elementar vegetal**

Adaptado de BRUNNER, (1994).

O transporte de substâncias pode ocorrer dentro de um sólido ou através das fronteiras de sua estrutura, na qual difere de substrato para substrato. Até material

do mesmo tipo de planta é diferente de colheita a colheita, de acordo com as condições e tratamento pós-colheita, de acordo com sua idade e do tratamento anterior à extração (BRUNNER, 1994).

Adicionalmente, a distribuição de chuvas e de foto-período ao longo do ano contribui no desenvolvimento da planta, de modo que a cada estação do ano têm-se composições diferentes do mesmo óleo essencial (SINGH *et al.*, 2002).

A importância do pré-tratamento da matriz vegetal é confirmada pela afirmação de Reverchon e De Marco (2006), onde dizem que o pré-processamento dos sólidos é um parâmetro que pode influenciar muito o desempenho da separação. Por exemplo, a secagem do sólido, moagem e otimização do tamanho médio de partícula têm, geralmente, que serem levados em consideração.

O tamanho médio de partícula assume um papel importante em processos de extração controlados por resistências internas à transferência de massa, sendo que um tamanho de partícula menor reduz o trajeto do solvente. Entretanto, se as partículas forem muito pequenas, elas podem causar problemas de caminhos preferenciais no interior do leito de extração. Parte do solvente flui por canais formados dentro do leito de extração e não há contato com o material a ser extraído, causando assim baixa eficiência e rendimento do processo. Geralmente, partículas com diâmetros médios aproximadamente entre 0,25 e 2,0 mm são utilizadas. A dimensão ótima deve ser escolhida caso a caso considerando o conteúdo de água na matriz vegetal e a quantidade de compostos líquidos extraíveis que podem produzir fenômenos de coalescência entre as partículas, favorecendo assim a extração irregular ao longo do extrator. Adicionalmente, a produção de partículas muito pequenas pela moagem poderia favorecer a perda de compostos voláteis (REVERCHON e DE MARCO, 2006).

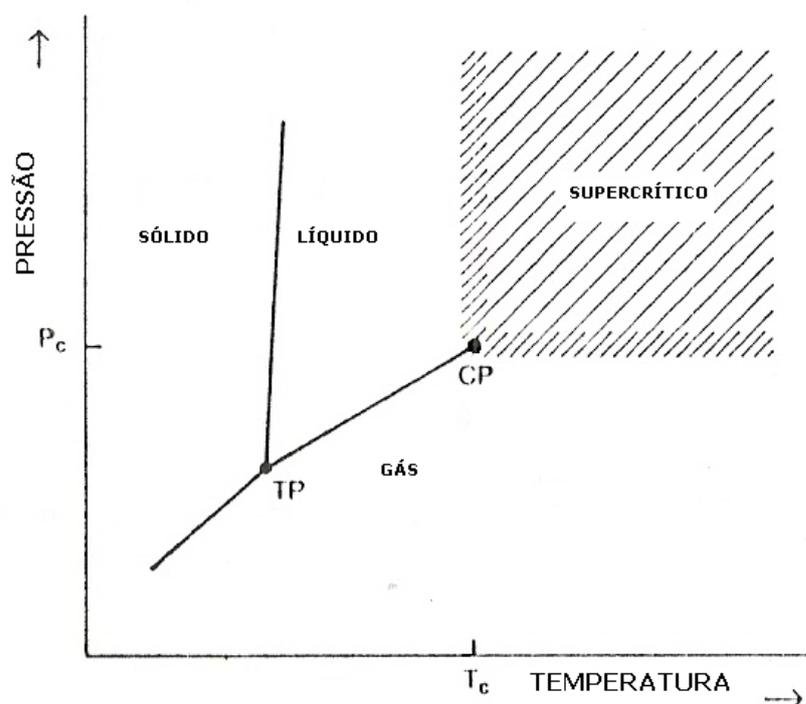
Diante das afirmações citadas neste sub-tópico, sentiu-se a necessidade de estudar a variável “tamanho médio de partícula” e a época de colheita do patchouli, analisando-se, posteriormente, a composição de cada óleo essencial extraído.

## 1.4 FLUIDOS SUPERCRÍTICOS

Um componente puro é considerado em estado supercrítico se suas temperatura e pressão são maiores que os valores críticos. A condições críticas para pressão e temperatura não há nenhuma mudança súbita das propriedades do componente (BRUNNER, 1994).

Um fluido supercrítico (FSC) apresenta boas propriedades de transporte que realçam sua utilização como solvente para extração, entre elas pode-se citar a densidade e a viscosidade. A sua densidade é próxima a do líquido, o que contribui com a grande eficiência no poder de dissolução das partículas da matriz vegetal favorecendo seu uso como solvente em processos de extração. Por outro lado, sua viscosidade é baixa quando comparada ao seu gás (RIZVI, 1994 *apud* CARLSON, 2000).

A Figura 4 mostra um diagrama ilustrativo de pressão *versus* temperatura para componentes puros.



**Figura 4 - Definição do estado supercrítico para um componente puro (CP ponto crítico, TP ponto triplo, Tc temperatura crítica, Pc pressão crítica)**

Adaptado de BRUNNER, (1994).

O dióxido de carbono supercrítico ( $\text{CO}_2\text{_{SC}}$ ) é o solvente mais popular utilizado em aplicações com FSC, pois ele é seguro, prontamente disponível e tem baixo custo. Isto permite operações supercríticas a pressões relativamente baixas e a temperaturas próximas da ambiente (REVERCHON e DE MARCO, 2006).

Comparado a solventes orgânicos, o  $\text{CO}_2\text{_{SC}}$  é um solvente apolar e apresenta vantagens por ser atóxico, não é inflamável e não é corrosivo; é barato e facilmente disponível, com alto grau de pureza. Em termos de processo, o  $\text{CO}_2$  tem pressão e temperatura críticas baixas (73,8 bar e 31,1°C, respectivamente), tornando-se um solvente ideal para produtos naturais, sendo que estes não sofrem degradação térmica durante o processo (GÓMEZ e OSSA, 2002; REVERCHON, 1997).

O  $\text{CO}_2$  é utilizado, nos estados líquido ou supercrítico, como solvente em diversos processos, como pode ser visto no item 1.5.5 desta dissertação. Após serem solubilizados, os solutos devem ser separados do  $\text{CO}_2$ , sendo realizado por meio de uma ou mais etapas consecutivas de separação. Neste caso, o solvente supercrítico é levado a condições de pressão e temperatura em que seu poder solvente é próximo de zero com referência ao soluto em questão. Para compostos muito solúveis em  $\text{CO}_2$ , como é o caso de componentes de óleos essenciais, a precipitação ocorre quando o  $\text{CO}_2$  é despressurizado até o estado gasoso. É na etapa de despressurização do solvente que os processos com gases densos sofrem suas maiores perdas energéticas, necessitando de equipamentos para recomprimir o solvente e recirculá-lo no sistema (SPRICIGO, 2002; BRUNNER, 1994).

A Tabela 4 apresenta outros componentes com suas respectivas temperatura e pressão críticas.

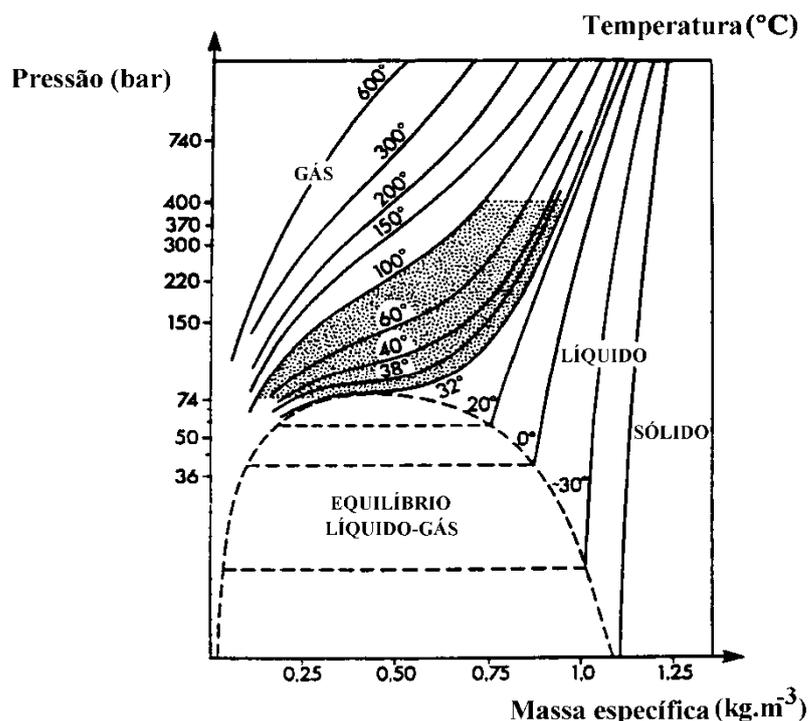
**Tabela 4 - Dados críticos para alguns componentes puros**

<b>Componente</b>	<b>Temperatura crítica [K]</b>	<b>Pressão crítica [MPa]</b>
Hidrogênio	33,0	1,29
Nitrogênio	126,2	3,39
Metano	190,4	4,60
Etano	305,4	4,88
Propano	369,8	4,25
Ciclopropano	397,85	5,49
Amônia	405,55	11,35
Isobutano	408,2	3,65
n-Butano	425,2	3,80
n-Hexano	507,5	3,01
Metanol	512,6	8,09
Etanol	513,9	6,14
Ciclohexano	553,5	4,07
Água	647,3	22,12

Fonte: REID *et al.*, (1989) *apud* BRUNNER, (1994).

O uso de fluidos supercríticos como o CO<sub>2</sub> fornece uma alternativa limpa e efetiva para métodos tradicionais e de processos de obtenção de drogas e polímeros (GINTY *et al.*, 2005).

A Figura 5 apresenta o diagrama de fases para o CO<sub>2</sub>. A área hachurada representa o estado supercrítico.



**Figura 5 - Diagrama de fases do CO<sub>2</sub>**

Fonte: SARRADE, (1994) *apud* SPRICIGO, (2002).

### 1.5 EXTRAÇÃO SUPERCRÍTICA

A extração supercrítica (ESC) é uma alternativa para suplementar ou substituir os sistemas de separação convencionais (destilação ou extração com solventes orgânicos líquidos), porque seu rendimento energético e efetividade de separação são bons (GÓMEZ e OSSA, 2002).

A ESC elimina a desvantagem da extração convencional com solvente orgânico a qual conduz para a degradação de compostos termo sensíveis e deixa traços de solvente tóxico no soluto (ÖZKAL *et al.*, 2005).

Esta operação de alta pressão tem se tornado uma tecnologia confiável nas últimas décadas, particularmente para componentes de plantas medicinais, devido a sua característica única, assim como condições operacionais médias e a obtenção de extratos com alta pureza (DANIELSKI *et al.*, 2007).

A ESC é uma operação unitária de transferência de massa baseada no uso de fluidos a temperaturas e pressões acima dos valores críticos. Estas condições fazem com que o FSC apresente propriedades físico-químicas peculiares entre os estados gás e líquido, a qual concedem-lhes uma excepcional característica solvente. Esta técnica de separação oferece rendimentos de extração muito similares àqueles obtidos por processos de extração convencionais usando solventes orgânicos, mas isto requer certa combinação de pressão e temperatura de operação (GÓMEZ e OSSA, 2002).

A ESC tem muitas vantagens frente outras técnicas de extração: é um processo flexível devido à possibilidade de modulação contínua do poder solvente/seletividade do FSC; permite a eliminação de solventes orgânicos poluentes e de caros pós-processamentos dos extratos pela eliminação do solvente. A única desvantagem séria do processo é o alto custo de investimento se comparado às tradicionais técnicas de extração à pressão atmosférica. Entretanto, o esquema base do processo (extração + separação) é relativamente barato e muito simples de se fazer o *scale up* para a indústria (REVERCHON e DE MARCO, 2006).

#### **Outras vantagens da ESC**

Os solventes usados são gases à pressão atmosférica e temperatura ambiente, seguros e inertes; a separação dos materiais extraídos é normalmente feita à baixa temperatura; o poder solvente é ajustado por compressão mecânica; possibilidade de reutilização do solvente (GENENA, 2005).

#### **Outras Desvantagens da ESC**

Compostos muito polares dificilmente serão extraídos sem a adição de um co-solvente; extração de produtos de baixo rendimento não é economicamente viável de serem extraídos devido ao alto custo de equipamentos (GENENA, 2005).

### **1.5.1 O Processo de Extração com CO<sub>2</sub> Supercrítico**

Freqüentemente, a aplicação mais requerida e estudada em processos de separação com FSC é a extração de uma ou mais famílias de compostos de uma matriz natural sólida (sendo objeto de estudo deste trabalho). O esquema básico de

extração consiste em um vaso de extração carregado com a matriz vegetal a ser extraída. Geralmente, o material é inicialmente seco e moído de modo a favorecer o processo de extração. É carregado em um cesto localizado no interior do extrator que permite rápido carregamento e descarregamento. O FSC escoar pela saída do extrator por meio de uma válvula de despressurização na qual, devido à baixa pressão, os extratos são liberados do meio gasoso e coletados (REVERCHON e DE MARCO, 2006).

A extração gasosa de um sólido consiste em duas etapas: a extração e a separação do extrato do solvente. Na extração, o FSC escoar por um leito fixo de partículas sólidas e dissolve os componentes extraíveis da matriz vegetal. O solvente é alimentado no extrator e distribuído uniformemente para o interior do leito fixo. O solvente carregado de óleo essencial é direcionado do extrator para alimentar o separador, onde ocorre a coleta do óleo essencial pela decompressão do FSC (BRUNNER, 1994).

Os primeiros trabalhos em ESC freqüentemente usam altas pressões (>350 bar), o que permite apenas aprimorar o poder solvente do FSC. Por isso, o conceito de otimização entre poder solvente e seletividade tem sido aplicado e as condições da ESC têm sido escolhidas para obter a extração seletiva de compostos de interesse, reduzindo a um mínimo a co-extração de compostos indesejáveis (REVERCHON, 1997).

Outras possíveis variações no esquema do processo da ESC são: extração em multi-estágios e adição de co-solventes. Operação em multi-estágio é feita variando a pressão e/ou a temperatura em cada etapa do processo. Esta estratégia pode ser usada quando é necessária a extração de muitas famílias de compostos de uma mesma matriz e elas têm diferentes solubilidades em  $\text{CO}_2\text{-SC}$ . É vantajoso pelo fato que o poder solvente deste fluido pode ser continuamente variado com a pressão e a temperatura. Um co-solvente líquido pode ser adicionado ao  $\text{CO}_2\text{-SC}$  para aumentar o poder solvente frente moléculas polares. Esta estratégia tem uma desvantagem que, um poder solvente alto poderia também significar baixa seletividade do processo e sendo que, geralmente, o co-solvente é um líquido à pressão atmosférica, ele será coletado junto com os compostos extraídos no separador. Um subsequente processo para a eliminação do solvente é requerido (REVERCHON e DE MARCO, 2006).

Ao se iniciar um trabalho de ESC, costuma-se fazer uma rápida busca na literatura sobre os compostos presentes na matriz vegetal escolhida ou, antes ainda, uma pesquisa para se encontrar uma planta de interesse. Normalmente, trabalhos em processos com fluidos supercríticos são realizados em escala laboratorial, devido, principalmente, às barreiras financeiras existentes no processo. Ao ser definido o vegetal alvo, inicia-se a pesquisa determinando as melhores condições de pressão e temperatura, dependendo dos objetivos a serem alcançados.

A seleção das condições de operação depende de compostos ou famílias de compostos específicos a serem extraídos. Peso molecular e polaridade devem ser levados em consideração caso a caso, com algumas regras gerais a serem seguidas (REVERCHON e DE MARCO, 2006).

Mas há outros parâmetros importantes a serem determinados no processo de extração supercrítica utilizando matrizes vegetais sólidas.

### **Temperatura**

Primeiramente, a temperatura da ESC para compostos termolábeis deve ser fixada entre 35 e 60°C; o aumento da temperatura reduz a densidade do CO<sub>2</sub>\_SC (à pressão constante), reduzindo assim o poder solvente do FSC, mas aumenta a pressão de vapor dos componentes a serem extraídos. Assim, a tendência destes compostos passarem para a fase fluida é maior. Alta temperatura freqüentemente causa uma alta taxa de extração, se a pressão não é baixa. Uma razão é a dependência do poder solvente da temperatura. Outra razão para uma alta quantidade de extrato por unidade de tempo é o aumento das taxas de transferência de massa com a temperatura (BRUNNER, 1994; REVERCHON e DE MARCO, 2006).

### **Pressão**

É um dos parâmetros mais relevantes da extração, podendo ser usada para ajustar a seletividade do FSC. A regra geral é: quanto mais alta é a pressão, maior é o poder solvente e menor é a seletividade da extração. Freqüentemente, o poder solvente é descrito em termos de densidade do CO<sub>2</sub>\_SC à dada condição de operação. Pode variar entre 0,15 a 1,00 g/cm<sup>3</sup> e está conectada a ambas pressão e temperatura. Entretanto, o conteúdo restante de extrato na matriz vegetal depois de

certo tempo de extração diminuirá na mesma pressão de trabalho (BRUNNER, 1994; REVERCHON e DE MARCO, 2006).

### **Densidade**

Com o aumento da densidade, a taxa de extração aumenta à temperatura constante. A densidade é responsável pela capacidade de um solvente, sendo que a solubilidade de um composto aumenta com o aumento da densidade (BRUNNER, 1994).

### **Vazão e Razão de solvente**

A vazão de CO<sub>2</sub> é um parâmetro relevante se o processo é controlado por uma resistência à transferência de massa ou pelo equilíbrio: a quantidade de solvente supercrítico alimentado no extrator, neste caso, determina a taxa de extração.

A influência da razão de solvente (kg FSC/h /kg matriz vegetal) não pode ser discutida sem considerar conseqüências econômicas. A razão de solvente influencia os custos de produção de duas maneiras: (1) se o carregamento do solvente diminui (ou seja, se o solvente leva consigo pouco óleo essencial após ter passado pelo leito) com o aumento da razão de solvente, a altas razões, resultando em curtos tempos de extração, então os custos operacionais por unidade produzida serão altos; (2) uma alta razão de solvente, por outro lado, aumenta a quantidade de extrato e de material sólido, diminuindo assim o custo de produção por unidade produzida (BRUNNER, 1994; REVERCHON e DE MARCO, 2006).

Uma boa seleção destes parâmetros promove a completa extração dos compostos desejados em curto intervalo de tempo. Eles estão relacionados à termodinâmica (solubilidade) e à cinética de extração em uma específica matriz vegetal (resistências à transferência de massa). A boa seleção depende do mecanismo que controla o processo: o processo mais lento determina a velocidade (REVERCHON e DE MARCO, 2006).

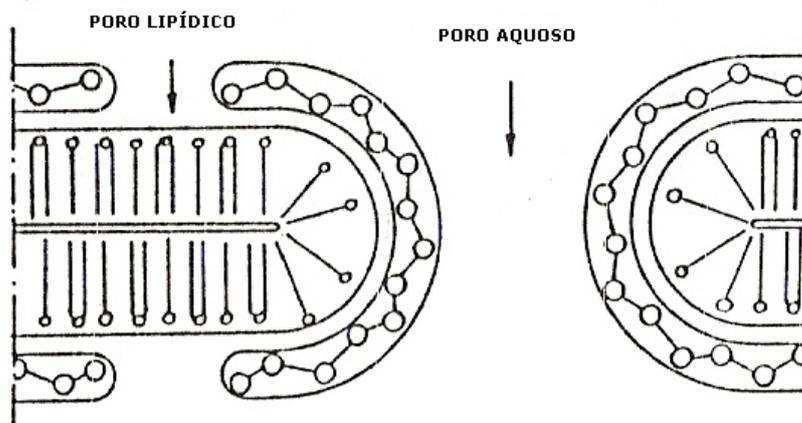
Há que se levar em conta também que, os custos de extração de óleos essenciais podem ser minimizados se o solvente supercrítico for reaproveitado no processo. Para isso é necessário construir uma linha de reciclo do fluido supercrítico a partir do separador de óleos (SPRICIGO, 2002).

### 1.5.2 Mecanismos de Transporte

Para uma extração bem sucedida, não somente a solubilidade dos compostos a serem extraídos e/ou de compostos indesejáveis têm sido levados em consideração; resistências à transferência de massa devido à estrutura da matriz vegetal e da localização específica dos compostos a serem extraídos também são importantes. Uma análise microscópica da estrutura vegetal pode ajudar a entender onde as resistências à transferência de massa se encontram. Experimentos específicos realizados variando o tamanho de partícula e o tempo de residência do solvente supercrítico pode também ser útil neste sentido. A complexa interação entre termodinâmica (solubilidade) e cinética (transferência de massa) precisa ser entendida para se conduzir uma ESC com sucesso (REVERCHON e DE MARCO, 2006).

A transferência de massa em sistemas de extração sempre inclui a interação com a matriz sólida da qual as substâncias são extraídas. Uma grande variedade de parâmetros pode ser relevante para modelagem do transporte de massa de substâncias em substratos sólidos. A maior questão é a distribuição das substâncias do extrato dentro da matriz vegetal. As substâncias podem estar adsorvidas na superfície externa, na superfície dos poros e até mesmo distribuída dentro do sólido ou dentro das células das plantas. Cada uma dessas diferentes distribuições tem alguma influência no curso da extração (BRUNNER, 1994).

O transporte de substâncias passa entre os vários sistemas de membranas da célula vegetal. Parte destes sistemas de membranas são membranas elementares. Um esquema de membrana elementar, que consiste de três camadas de proteínas e lipídeos, pode ser visto na Figura 6.



**Figura 6 - Modelo esquemático de uma membrana elementar de uma célula vegetal**

Adaptado de BRUNNER, (1994).

A membrana elementar de uma célula viva é semipermeável e é composta de um envoltório resistente, a parede celular. Esta consiste de várias camadas fornecendo a estabilidade estrutural necessária. Em certos pontos, a parede celular é reduzida a uma camada média, através da qual ocorre o transporte de componentes. Por outro lado, a transferência de massa é aprimorada se a planta é moída e as células e suas estruturas são destruídas. Assim, as resistências ao transporte através das membranas serão minimizadas. Outros mecanismos de transporte como a difusão no sólido, a dessorção de uma superfície sólida e a difusão em uma camada de fluxo laminar de solvente são importantes (BRUNNER, 1994).

### 1.5.3 Modelagem Matemática

A modelagem matemática permite uma aproximação racional do problema da extração, dando a oportunidade de generalizar os resultados experimentais e obter indicações sobre os diferentes sistemas estudados (simulação). Adicionalmente, é usual no desenvolvimento de procedimentos de *scale-up* do laboratório para escalas piloto e industrial. Um modelo não deve ser um mero instrumento matemático, mas deve refletir a realidade física decorrente do conhecimento da estrutura sólida e das observações experimentais. Atualmente, a modelagem matemática da ESC baseia-

se em três frentes: (1) empírica, (2) baseado em analogias de transferência de calor e massa, e (3) integração de balanços diferenciais de massa. A mais adequada análise é obtida da integração de balanços diferenciais de massa: perfis de concentração dependentes do tempo são obtidos para fase sólida e fluida. Outros aspectos gerais devem ser levados em conta: a estrutura sólida do material, a localização dos compostos a serem extraídos, a interação dos solutos com a matriz vegetal, estruturas celulares quebradas e intactas, a forma das partículas, etc. (REVERCHON e DE MARCO, 2006).

A modelagem da extração permite determinar o tempo de extração, que é importante para uma ótima utilização da planta, e influenciar o curso da extração pelo ajuste dos parâmetros de acordo com os resultados da modelagem do processo.

A extração de compostos solúveis de materiais sólidos da planta se procede em vários passos paralelos consecutivos: 1- a matriz vegetal absorve o solvente supercrítico e outros fluidos os quais são deliberadamente adicionados para influenciar o processo de extração; 2- os compostos do extrato são dissolvidos pelo solvente e uma reação química pode ocorrer antes da solvatação; 3- os compostos dissolvidos são transportados para a superfície externa do sólido, sendo a difusão o mecanismo de transporte governante; 4- os compostos dissolvidos passam através da superfície externa e uma mudança de fase pode ocorrer neste momento; 5- os compostos são transportados da camada da superfície para a fase fluida do solvente supercrítico e são, subseqüentemente, removidos com o solvente que passa através da matriz vegetal (BRUNNER, 1994).

Stefanni (2003) após fazer uma descrição dos trabalhos envolvendo a modelagem matemática da ESC concluiu que os vários modelos publicados diferem entre si não apenas do ponto de vista matemático, mas também pelos mecanismos de transferência de massa que controlam o processo, pois mudam para matrizes vegetais distintas. Como seu trabalho não levou em consideração a microestrutura da planta, propôs modelos baseados em balanços diferenciais de massa aplicados às fases fluida e particulada. E, de forma inédita, modelou a etapa de pressurização do extrator, concluindo que esta “etapa” é de extrema importância para o *scale-up* do processo de extração.

#### 1.5.4 Fracionamento de Óleos Essenciais e Substâncias

Reverchon e De Marco (2006) publicaram uma revisão sobre fracionamento e extração supercrítica de matrizes vegetais afirmando que esta é uma das primeiras e mais estudadas aplicações no campo de fluidos supercríticos; e no período de 1996 a 2006, estudos em extração de compostos clássicos como óleos essenciais de várias fontes: sementes, frutas, folhas, flores, rizomas, etc., com ou sem adição de co-solvente foram publicados.

Uma tecnologia que vêm sendo utilizada para o fracionamento de misturas de CO<sub>2</sub>\_SC e óleos essenciais é a separação por membranas. Trabalhos como o de Spricigo (2002), Carlson (2006), Pokrywiecki (2006) e Sarmento (2007) são exemplos destes.

O transporte através de membranas porosas ocorre de maneira convectiva e/ou difusiva. Em membranas de ultrafiltração, por exemplo, ocorre um gradiente de pressão de maneira fundamentalmente convectiva. No caso da diálise, um gradiente de concentração é aplicado e o transporte através da membrana é predominantemente difusivo (SPRICIGO, 2002).

No campo das tecnologias de separação, os processos com membranas são economicamente preferíveis aos processos clássicos, onde grande parte destes processos pode ser desenvolvida em condições moderadas. Na produção de compostos com alto grau de pureza, a tecnologia de membranas apresenta-se como alternativa viável e promissora (SARMENTO, 2007).

Carlson *et al.* (2005) utilizaram membranas de osmose inversa e de nanofiltração para a separação de D-limoneno de soluções supercríticas e obtiveram resultados satisfatórios com fator de retenção de 0,94.

O fracionamento com CO<sub>2</sub>\_SC foi usado para concentrar terpenos oxigenados do óleo essencial de *Schinus molle* L. produzido por destilação a vapor. Para melhorar a separação entre compostos polares (terpenos oxigenados) e apolares (hidrocarbonetos), o óleo essencial foi adsorvido em sílica gel e, em seguida, desorvido em etapas sucessivas. Análises por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas das frações coletadas a diferentes intervalos de tempo foram realizadas para qualificar e quantificar o óleo essencial extraído. Uma alta

concentração de terpenos oxigenados foi alcançada no segundo processo de dessorção (DAGHERO *et al.*, 2004).

A separação fracionada dos extratos é um conceito bem conhecido que pode ser útil para melhorar a seletividade do processo de ESC. Em vários casos, não é possível evitar a co-extração de algumas famílias de compostos. Nesses casos, é possível fazer uma extração em etapas sucessivas a crescentes pressões para obter uma extração fracionada dos compostos solúveis contidos na matriz orgânica, selecionada pelo decréscimo das solubilidades no solvente supercrítico. Operando a planta com separadores em série a diferentes pressões e temperaturas, obtém-se a separação fracionada que permite o fracionamento dos extratos supercríticos, proporcionando a precipitação de diferentes famílias de compostos em função das suas diferentes condições de saturação no FSC (REVERCHON e DE MARCO, 2006).

A presença de componentes de alto peso molecular pode ou não ser desejável, dependendo do objetivo de uso deste composto. Sendo o poder solvente do CO<sub>2</sub>\_SC fortemente dependente da sua densidade, este parâmetro torna-se importante para fracionar componentes. Por exemplo, dióxido de carbono líquido, com densidade variando entre 0,7 e 1,0 g/ml apresenta alto poder solvente, porém baixa seletividade frente a componentes como flavonas, fenantronas e triterpênicos. Dióxido de carbono supercrítico, com densidades variando entre 0,2 e 0,9 g/ml, é mais seletivo, justamente pela ampla faixa de densidade, permitindo separar mais famílias de compostos (CARLSON *et al.*, 2001).

A identificação de compostos orgânicos de extratos de plantas é de grande importância, principalmente porque podem ser usados como excelente fonte para produtos farmacêuticos para fitoterapia. Sendo que estes extratos são uma mistura complexa de compostos orgânicos, requerem técnicas apropriadas de fracionamento que permitam uma melhor análise de seus constituintes individuais (JACQUES *et al.*, 2007).

A cromatografia gasosa é usada quase que exclusivamente para a análise qualitativa de voláteis. Os tempos de retenção são utilizados como critério primário para a identificação dos picos. Entretanto, a identificação é dificultada na prática porque o composto analisado pode eluir ao mesmo tempo com outros componentes da amostra. O espectrômetro de massas usado como detector cromatográfico

oferece dados adicionais para a identificação de compostos separados. O método de identificação mais freqüente é a comparação dos espectros obtidos com uma biblioteca de espectros e/ou referenciados a um composto padrão (HU *et al.*, 2006).

### **1.5.5 Aplicações da Extração Supercrítica**

A extração supercrítica, atualmente, é uma técnica bem conhecida e não mais se detém em somente extrair componentes de fontes naturais. Inovações no processo, no que diz respeito a custos operacionais, e nos tipos de soluções de problemas têm sido abordadas em vários ramos de aplicação.

A aromaterapia (uso de óleos essenciais) é uma forma de medicina alternativa e complementar que é recomendada para uso em crianças e adolescentes. Embora os óleos essenciais sejam amplamente utilizados em práticas curativas, a investigação científica sobre os benefícios terapêuticos de óleos essenciais específicos é relativamente recente. Em geral, o uso de óleos essenciais é uma forma de tratamento suave, não-invasiva, segura e rentável, podendo ser usada como parte de uma prática integrada e multidisciplinar para aperfeiçoar resultados em crianças frente a uma variedade de desafios na sua saúde (FITZGERALD *et al.*, 2007).

Reverchon e Adami (2006) propõem uma revisão crítica de técnicas supercríticas aplicadas à produção de nanoesferas, nanopartículas, nanofibras, nanotubos, nanofilmes, nanofios e materiais de nanoestruturas. Técnicas como a rápida expansão de solução supercrítica (RESS), a precipitação de anti-solvente supercrítico (SAS) e a atomização supercrítica (SAA) são abordadas e comentadas detalhadamente.

YUE, *et al.* (2004) explicam que por aspectos de processamento, polímeros podem ser fracionados, purificados, impregnados ou 'espumados' usando o CO<sub>2</sub>\_SC como solvente. Uma das mais recentes aplicações é o revestimento de partículas com polímeros via rápida expansão de solução supercrítica (RESS) ou via processo supercrítico de anti-solvente (SAS).

A estratégia de “*drug delivery*”, onde se desenvolve um mecanismo em que o princípio ativo é “entregue” em certa área do corpo humano afetada por uma doença, foca a produção de partículas de droga, com aproximadamente dois terços de produtos usados na indústria farmacêutica na forma de partículas sólidas. O uso de fluidos supercríticos proporciona uma rota mais controlada e ajustável para a produção de diversos sistemas de “*drug delivery*” (GINTY, *et al.*, 2005).

Para demonstrar como esta técnica é difundida, uma breve pesquisa feita na base de dados do “*Science Direct*” no mês de janeiro de 2008, utilizando a palavra chave “*drug delivery*”, resultou em mais de 11000 artigos.

Em trabalhos desta técnica relacionados à extração supercrítica, a referência mais antiga que se encontra é o trabalho de Tom *et al.* (1994) que explorou a técnica de rápida expansão de soluções supercríticas (RESS) como rota inédita na formação de micropartículas e microsferas usadas em aplicações de “*drug delivery*”.

A mais recente referência neste assunto é o estudo feito por Cai *et al.* (2008) onde introduziram um agitador de cavitação hidrodinâmica em um processo de atomização assistida de fluido supercrítico (SAA-HCM) com o objetivo de aumentar a transferência de massa.

Wang e Weller (2006) apresentam as potenciais aplicações da ESC em produtos farmacêuticos. Como por exemplo, prevenindo a oxidação de lipídeos; alcançar alto rendimento e qualidade dos óleos essenciais, *flavors* e aromas naturais comparados à destilação; o uso de co-solvente para aumentar o rendimento da extração de substâncias fenólicas, alcalóides e componentes glicosídicos.

Estudos clássicos em extração supercrítica englobam a extração de óleos essenciais de matrizes vegetais. De sementes, o extrato retirado é comumente chamado de oleoresina. Os trabalhos abordam análise de rendimento de extração, modelagem matemática, determinação de solubilidade e equilíbrio de fases, análise econômica, etc.

A revisão feita por del Valle *et al.* (2005) tenta demonstrar que os esforços de investigação em ESC na América Latina durante os últimos cinco anos, por meio da identificação dos substratos, a seleção de condições de extração e de purificação, a modelagem do processo de ESC, scale up e afins e avaliação da viabilidade técnica

e econômica de alguns processos selecionados, permitiria uma bem sucedida implementação da ESC regional.

Atualmente, existe um crescente interesse nos chamados “alimentos funcionais”, porque eles podem fornecer benefícios além dos nutricionais e energéticos, por exemplo, anti-hipertensão, antioxidante ou antiinflamatório. Também, novos tipos de produtos, derivados de alimentos, chamados nutracêuticos estão sendo desenvolvidos. Fontes marinhas como algas e microalgas recebem muita atenção principalmente porque contêm ingredientes funcionais, como ácidos graxos poliinsaturados,  $\beta$ -caroteno, outros pigmentos (antioxidantes), polissacarídeos sulfatados (antiviral) e esteróis (antimicrobianos) (HERRERO, *et al.*, 2006).

Alguns processos industriais já estão bem estabelecidos como: a extração de extratos de lúpulo, obtenção de café descafeinado e algumas substâncias nutritivas de alimentos que oferecem também alguns aspectos de proteção terapêutica para o corpo humano (nutracêuticos) (BRUNNER, 1994; REVERCHON e DE MARCO, 2006).

Estudos químicos e farmacológicos envolvendo plantas medicinais têm aumentado nas últimas décadas, não somente referente ao isolamento de princípios ativos, mas também na caracterização de novos componentes com atividade terapêutica e características nutracêuticas, importante para o uso em indústrias de alimentos, assim como em cosmetologia e farmacologia (DANIELSKI *et al.*, 2007).

Danielski *et al.* (2007) estudaram a solubilidade da oleoresina de calêndula em dióxido de carbono supercrítico (CO<sub>2</sub>\_SC) e o perfil de composição dos extratos obtidos usando diferentes métodos de extração. O perfil de composição da oleoresina de calêndula obtida por ESC e com solventes orgânicos usando hexano, diclorometano e butanol foram analisados e comparados. Os resultados mostraram diferenças nos perfis de composição obtidos de calêndulas cultivadas no Brasil e na Europa.

## 1.6 COMPOSIÇÃO QUÍMICA DOS ÓLEOS ESSENCIAIS

Óleos essenciais são principalmente formados por hidrocarbonetos e terpenos oxigenados e por hidrocarbonetos e sesquiterpenos oxigenados. Do ponto de vista da ESC, o isolamento de óleos essenciais é um exemplo de extração seguido de uma separação fracionada. Os óleos essenciais estão, no mínimo, localizados no interior da estrutura vegetal; portanto, resistências à transferência de massa precisam também ser consideradas. Às condições de operação previamente estabelecidas, componentes dos óleos essenciais são extraídos juntamente com ceras cuticulares; por exemplo, compostos parafínicos localizados na superfície da matriz vegetal com o objetivo de controlar a transpiração. Assim, a extração de ceras é controlada pela sua solubilidade e a extração do óleo essencial é controlada, pelo menos em parte, pelas resistências internas à transferência de massa na estrutura vegetal. Como resultado destas interações, as duas famílias de compostos (óleo essencial e ceras) são co-extraídas em todas as condições de operação. Para seletivamente extrair o óleo essencial sozinho, é necessário tirar proveito que a baixas temperaturas (de - 5 a 5°C) as ceras são praticamente insolúveis no CO<sub>2</sub>\_SC, considerando que os outros compostos mantêm altas solubilidades (REVERCHON e DE MARCO, 2006).

A composição química dos óleos essenciais está bem relatada na literatura. Diversos trabalhos como o de Carlson *et al.* (2001), Jacques *et al.* (2007), Gomes *et al.* (2007), Marongiu *et al.* (2005) analisam a composição de óleos essenciais por meio de técnicas como a cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (GC-MS).

Análises cromatográficas de extratos de mate obtidos a alta pressão mostraram um perfil altamente complexo, contendo aproximadamente 51 componentes, principalmente ésteres, ácidos graxos, hidrocarbonetos, fitoesteróis, alcoóis, xantinas e vitamina E. Um processo de cromatografia preparativa permitiu a separação de alguns componentes importantes em cada fração, promovendo uma melhor caracterização de cada composto (JACQUES *et al.*, 2007).

Gomes *et al.* (2007) estudaram a extração com CO<sub>2</sub>\_SC de óleo essencial de gerânio-rosa cultivado em Portugal. As análises químicas revelaram que embora os

componentes obtidos por ESC fossem aproximadamente os mesmos que os do óleo essencial obtidos por hidrodestilação, os absolutos supercríticos tiveram uma qualidade organoléptica superior, com caractere natural fresco muito floral e frutado e coloração amarelo escuro, mais adequado para o uso em perfumaria.

Marongiu *et al.* (2005) obtiveram um concentrado volátil de *Pimenta dioica* produzido por ESC onde os principais componentes, analisados por GC-MS, foram: eugenol (77,9%),  $\beta$ -cariofileno (5,1%), esqualeno (4,1%) e  $\alpha$ -humuleno (2,3%). Compararam os seus resultados com o da literatura e concluíram que as diferenças quali e quantitativas do seu óleo frente aos da literatura se devem ao ambiente, condições climáticas e diferentes estágios vegetativos. Concluíram ainda que, com respeito ao clima mediterrâneo, onde a planta cresceu, obtiveram rendimento maior que o esperado e um concentrado volátil de melhor qualidade, visto a alta quantidade de eugenol presente no extrato.

Segundo Holmes (1997), os principais componentes do óleo essencial de patchouli, obtido por extração com arraste à vapor, são: *Sesquiterpenos* 40 a 45% (incluindo guaienos 6,13%, bulnesenos 10 a 26%, patchoulenos, elemenos, seicheleno, cicloseicheleno, cariofileno, humuleno, cadineno; *Alcoóis Sesquiterpenóides* (incluindo patchoulol 35 a 40% (álcool patchoulol), norpatchoulol, pogostol, bulnesol, guaiol); *Sesquiterpenonas* (incluindo patchoulenona); *Epoxisesquiterpenos* (incluindo epoxiguaienos, epoxicariofileno, epoxibulneseno); *Piranonas*; *Alcalóides Sesquiterpenóides* (incluindo patchoulipiridina, guipiridina); *Ácido Carboxi-pentil-ciclopropânico*; traços de *Monoterpenos* (incluindo pinenos e limoneno).

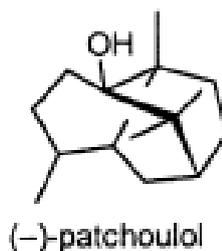
No caso do óleo essencial de patchouli, o principal componente é o patchoulol, um álcool sesquiterpeno, e o segundo mais importante é o  $\alpha$ -patchouleno. Extrações supercríticas conduzidas a 85 bar (40 e 50°C) e a 140 bar (40 e 50°C) foram realizadas e 24 componentes foram identificados, entre os quais, em maior quantidade entre todas as extrações realizadas, patchoulol (32,23%),  $\alpha$ -guaieno (24,16%),  $\sigma$ -guaieno (21,16%) e  $\alpha$ -patchouleno (6,21%). Estes mesmos componentes foram encontrados na extração por destilação com água e vapor, em quantidades de, respectivamente, 19,4%, 20,0%, 23,3% e 5,8% (DONELIAN, 2004).

O controle de qualidade tem sido peça chave no desenvolvimento da medicina natural (utilizando ervas medicinais). A técnica de “*fingerprint*” é uma

potente ferramenta e tem sido aceita largamente como uma aproximação usual para a avaliação e controle de qualidade de multicomponentes de ervas medicinais e seus produtos finais. Na China, o patchouli é cultivado em duas regiões diferentes com os nomes: “*Shipai Huoxiang*” e “*Hainan Huoxiang*”. Tradicionalmente, o primeiro é considerado como erva autêntica e o segundo não é geralmente usado como planta medicinal, pois o rendimento de seu óleo é muito maior. Análises em GC-MS identificaram nove compostos no óleo essencial obtido por extração líquida pressurizada com vários solventes, incluindo, em média,  $\beta$ -patchouleno (1,44%), cariofileno (1,46%),  $\alpha$ -guaieno (6,21%), seicheleno (3,36%),  $\beta$ -guaieno (1,83%),  $\sigma$ -guaieno (8,15%), espatchoulenol (1,23%), patchoulol (66,4%) e pogostenol (14,87%). E assim, a técnica de “*fingerprint*” pode ajudar a distinguir um substituto ou adulterante e ainda avaliar as diferentes espécies de *P. cablin* cultivadas na China e no outras partes do Mundo (HU *et al.*, 2006).

A composição do óleo de patchouli é complexa como muitos óleos essenciais, mas distinta porque se constitui em grande parte de sesquiterpenos. O patchoulol, um sesquiterpeno oxigenado, é o seu maior constituinte e é o principal responsável pela típica nota do patchouli. O óleo contém um grande número de outros hidrocarbonetos sesquiterpenos tais como,  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\sigma$  – patchoulenos,  $\alpha$ -bulneseno,  $\alpha$ -guaieno e seicheleno, com estruturas claramente relacionadas ao patchoulol e outros sesquiterpenos. O acúmulo e a biosíntese do patchoulol e sesquiterpenos relacionados nas folhas de patchouli foi estudada por meio de sua morfologia. Foram encontrados acúmulos de sesquiterpenos em tricomas glandulares típicos de plantas da família das Lamiaceae, família do patchouli (DEGUERRY *et al.*, 2006).

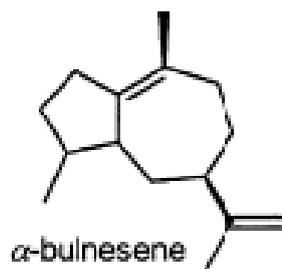
O patchoulol foi isolado pela primeira vez na sua forma cristalina em 1869 e formulado como  $C_{15}H_{26}O$ . As primeiras investigações estruturais estabeleceram que o patchouli álcool é um álcool terciário tricíclico saturado (GAL, 1869; MONTGOLFIER, 1877 *apud* SRIKRISHNA e SATYANARAYANA, 2005).



**Figura 7 - Molécula de patchoulol, principal componente do óleo essencial de patchouli**

Mono e sesquiterpenos, alcalóides e flavonóides têm sido isolados do óleo essencial de *P. cablin*. Baseados em dados históricos sobre plantas medicinais chinesas, encontrou-se no óleo essencial de patchouli, obtido por arraste à vapor, uma significativa atividade inibitória contra a agregação plaquetária induzida pelo fator de ativação plaquetária (PAF), um mediador fosfolipídico inflamatório produzido por várias células e envolvidas em doenças alérgicas, inflamação, asma, renite e doenças cardiovasculares (TSAI *et al.*, 2007).

$\alpha$ -Bulneseno é um sesquiterpenóide isolado do extrato aquoso de *Pogostemon cablin*. Mostrou um potente e concentração-dependente efeito inibitório do fator de ativação plaquetária (PAF) e agregação plaquetária do ácido araquidônico em coelhos. A agregação plaquetária tem um importante papel em trombose e arteriosclerose. A formação de trombos pode restringir o fluxo de sangue para tecidos vitais ou órgãos líderes do sistema nervoso periférico e causar isquemia coronária. Evidências têm indicado que as plaquetas contribuem significativamente para a etiologia e patogênese da síndrome coronária aguda, infrações do miocárdio e acidente vascular cerebral (AVC), os quais são as maiores causas de morte em países desenvolvidos. A ação de muitos antagonistas como o PAF, ácido araquidônico (AA), e outros é de extrema importância. Assim, o  $\alpha$ -bulneseno é um sesquiterpenóide antiplaquetário inédito que age como um inibidor competitivo do receptor PAF. Especificamente, o  $\alpha$ -bulneseno inibe competitivamente a vinculação específica do PAF para seu receptor, inibindo assim o aumento do  $\text{Ca}^{+2}$  intracelular. Isto indica que o  $\alpha$ -bulneseno tem potencial como um agente antiplaquetário e merece estudos mais detalhados (HSU *et al.*, 2006).



**Figura 8 - Molécula de  $\alpha$ -bulneseno, importante sesquiterpeno do óleo essencial de patchouli**

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

Neste capítulo, apresenta-se a descrição dos procedimentos, cálculos, material e métodos utilizados na condução dos experimentos, coleta e tratamento de dados. Inicialmente, são apresentados os procedimentos de preparação da matriz vegetal. Na seqüência, descreve-se o equipamento utilizado, uma análise do processo, a determinação dos parâmetros de operação do processo de extração supercrítica, e da composição do óleo essencial de patchouli.

### 2.1 PREPARAÇÃO DA MATRIZ VEGETAL

Este sub-tópico apresenta os procedimentos realizados para preparar o patchouli da melhor maneira, a fim de proporcionar uma extração o mais eficiente possível.

As plantas foram obtidas da Colônia Penal da cidade de Palhoça – SC, sendo as espécies de *Pogostemon cablin* (Blanco) Benth oriundas da Estação Experimental da EPAGRI de Itajaí - SC. As plantas utilizadas neste trabalho foram cultivadas a pleno sol e receberam irrigação nos períodos mais secos do ano.

Como mencionado no item 1.3, a época do ano influencia os parâmetros do processo de ESC e, por isso, separa-se as plantas coletadas nas diversas épocas do ano por lotes. A Tabela 5 apresenta os lotes utilizados nesta dissertação.

**Tabela 5 - Lotes de patchouli utilizados nesta dissertação**

<b>Lote</b>	<b>Data de Colheita</b>	<b>Estação do Ano</b>
1	Setembro/2006	Inverno
2	Abril/2007	Outono
3	Maio/2007	Outono
4	Junho/2007	Outono
5	Julho/2007 (1 <sup>a</sup> quinzena)	Inverno
6	Julho/2007 (2 <sup>a</sup> quinzena)	Inverno

As plantas foram coletadas manualmente, sempre nas primeiras horas da manhã de dias ensolarados, evitando transpiração excessiva das mesmas. Imediatamente após serem colhidas, as folhas de patchouli foram levadas para o Laboratório de Controle de Processos (LCP), Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos (EQA) da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC).

Em seguida, as folhas de patchouli foram secas em estufa com circulação e renovação de ar (MA035, Marconi, Brasil) a 30°C por aproximadamente 120 h. Objetivando facilitar o processo de extração, procederam-se moagem e classificação das partículas moídas.

A moagem foi realizada imediatamente após o término da secagem. Foi conduzida em moinho de facas (MA580, Marconi, Brasil) e o resultado foi a obtenção de um pó verde escuro fino, característico do patchouli.

Na seqüência, o pó obtido no moinho de facas foi classificado por peneiramento em uma série de peneiras da linha *mesh Tyler*. É importante ressaltar que alguns experimentos foram conduzidos sem a passagem em peneiras, classificando-se as partículas por meio de uma peneira do próprio moinho de facas com abertura de 0,545 mm. Em outros experimentos, determinou-se o tamanho médio de partículas ideal a ser utilizado no processo, como pode ser visto no item 2.4.5.

## 2.2 DESCRIÇÃO DO EQUIPAMENTO E DO PROCESSO

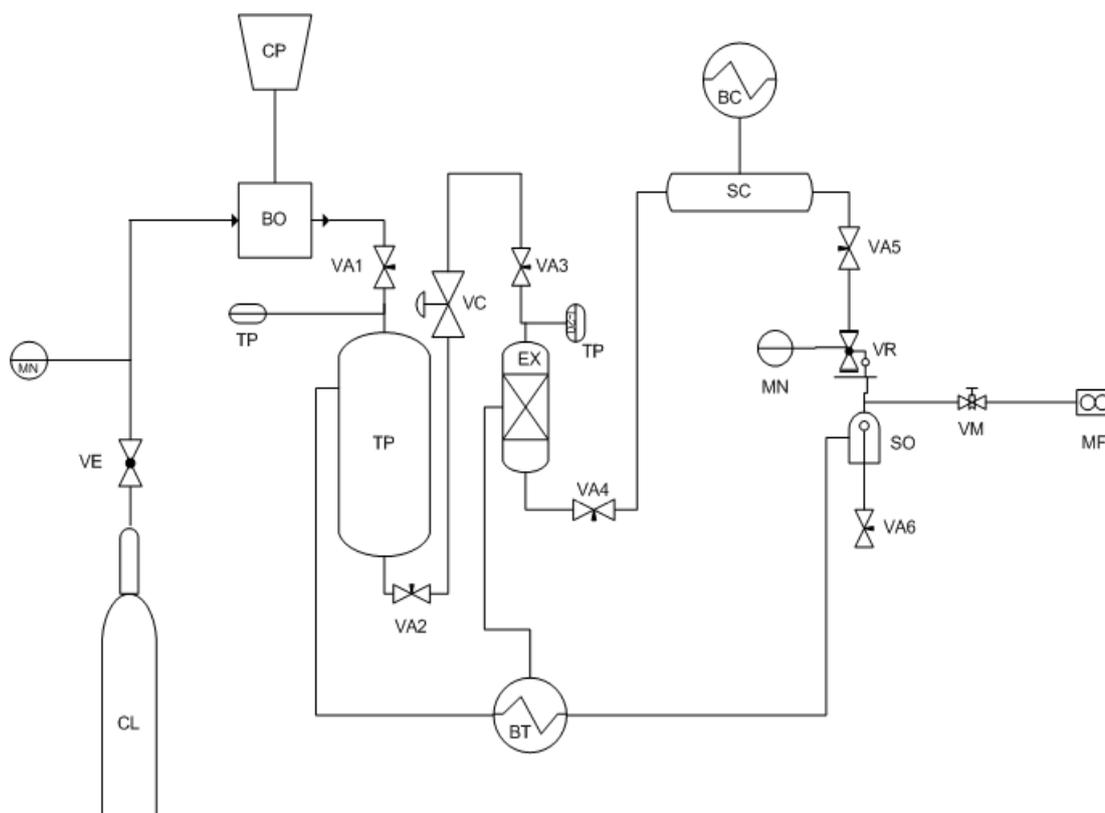
A planta de ESC utilizada neste trabalho está localizada no LCP/EQA/UFSC, onde todos os experimentos e procedimentos foram realizados.

Ao conjunto de vasos de pressão (extratores, tanque pulmão, separadores de óleo e separador de ceras), válvulas, compressor, bomba, banhos termo e criostáticos e instrumentos de controle de processo, tais como transdutores de pressão, válvula com acionamento pneumático, *software*, dá-se o nome de planta de extração supercrítica (PESC). A PESC do LCP possui os seguintes elementos:

- a. **Compressor de ar (CP)** (CSL 20 BR, Schulz, Brasil);
- b. **CO<sub>2</sub> (CL)** (99,9% de pureza, AGA, Brasil);
- c. **Bomba ou *booster* (BO)** (DLE-15, Maxpro Technologies, Alemanha);
- d. **Tanque pulmão (TP)**: construído em aço inox 316L, encamisado, com aproximadamente 0,60 m de comprimento e 0,10 m de diâmetro interno, volume interno de 4,7 L;
- e. **Extrator (EX)**: construído em aço inox 316L, encamisado, com aproximadamente 0,50 m de comprimento e 0,021 m de diâmetro interno, volume interno de 0,175 L;
- f. **Separador de óleos (SO)**: construído em aço inox 316L, encamisado, com aproximadamente 0,15 m de comprimento e 0,075 m de diâmetro interno, volume interno de 0,660 L;
- g. **Separador de ceras (SC)**: construído em aço inox 316L, encamisado, com aproximadamente 1,00 m de comprimento e 0,02 m de diâmetro interno, volume interno de 0,315 L;
- h. **Válvula de controle com acionamento pneumático (VC)** (807, Badger Meter, EUA);
- i. **Válvula redutora de pressão (VR)** (SR-AL, Victor, EUA);
- j. **Válvulas de agulha (VA)**: construídas em aço inox 316L, 344 bar de pressão e 38°C de temperatura (SS-1VS4, Swagelok, EUA);
- k. **Válvulas de esfera (VE)**: construídas em aço inox 316L, 344 bar de pressão e 38°C de temperatura (SS-43S4, Swagelok, EUA);

- l. **Válvula micrométrica (VM):** construídas em aço inox 316L; usada para regular a vazão de solvente supercrítico (SS-21RS4, Swagelok, EUA);
- m. **Medidor de fluxo (MF)** (PV500LPM0CC, Key Instruments, EUA);
- n. **Banho termostático (BT):** construído em alumínio com controle de temperatura (InControl, Brasil);
- o. **Banho termocriostático (BC)** (MQBTC, Microquímica, Brasil);
- p. **Transdutores de pressão (TP)** (RTP12/BE53R, AEP, Itália);
- q. **Manômetros (MN)** (MTR, Brasil).

A Figura 9 apresenta um layout da PESC utilizada neste trabalho. Os transdutores de pressão e a válvula de controle com acionamento pneumático foram operados e ajustados segundo um *software* de controle desenvolvido no LCP, assim como a medida de vazão dada pelo medidor de fluxo.



**Figura 9 - Layout da Planta de Extração Supercrítica utilizada neste trabalho**

CL – cilindro CO<sub>2</sub>; MN – manômetros; TP – transdutores de pressão; BO – booster; CP – compressor; VA – válvulas agulha; VE – válvula esfera; VC – válvula de controle; VR – válvula redutora de pressão; VM – válvula micrométrica; MF – medidor de fluxo; BC e BT – banhos termostáticos; EX – extrator; TP – tanque pulmão; SC – separador de ceras; SO – separador de óleo.

O *modus operandis* da PESCS é o seguinte:

- i. Ajuste dos parâmetros de controle no *software* (pressão, intervalo de ação, etc.);
- ii. Após ligar o compressor, o cilindro alimenta o booster com CO<sub>2</sub> e este, por sua vez, alimenta o tanque pulmão, quando a válvula VA1 é aberta;
- iii. O tanque pulmão, à pressão 5 bar maior que a pressão de trabalho, armazena o CO<sub>2</sub>. O banho BT aquece o tanque pulmão por meio de uma camisa, fornecendo temperatura suficiente para o solvente permanecer no estado supercrítico;
- iv. O mesmo banho BT aquece o extrator (EX) e o separador de óleos (SO), de modo a manter o estado supercrítico do solvente. O banho BT

- resfria o separador de ceras (SC), de modo que estas fiquem retidas ali;
- v. O processo de extração inicia-se no momento em que pressão e temperatura atingem os níveis pré-determinados: pressão de trabalho (100 bar) e temperatura de trabalho (32°C);
  - vi. A válvula VA2 é aberta e a válvula de controle (VC), já ajustada com pressão de 100 bar, controla o fluxo para o extrator por meio de um controlador PID. O extrator é previamente carregado com a matriz vegetal de interesse (neste caso, o patchouli). Ao abrir a válvula VA3, inicia-se o processo de carregamento do extrator e, portanto, a extração propriamente dita;
  - vii. Após permanecer em contato por certo tempo com a matriz vegetal, a solução supercrítica (óleo essencial + CO<sub>2</sub>) é direcionada para o separador de ceras, quando as válvulas VA4 e VA5 estão abertas, chegando à válvula VR, onde acontece a redução da pressão;
  - viii. No separador de óleo ocorre a precipitação do óleo essencial por meio da descompressão realizada pela válvula VR;
  - ix. Ao se abrir a válvula VA6, o óleo essencial de patchouli é coletado em tubos de ensaio, em tempos pré-determinados;
  - x. Por meio da abertura da válvula micrométrica (VM) pode-se medir o fluxo de CO<sub>2</sub> à temperatura ambiente;
  - xi. Após coletadas, as amostras de óleo essencial são pesadas em balança digital (KN500, Digimed, Brasil).

No item 2.5 descrevem-se detalhadamente como os experimentos foram conduzidos.

### 2.3 ANÁLISES DE COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO ÓLEO ESSENCIAL DE PATCHOULI

Para se determinar a qualidade do óleo essencial de patchouli extraído nos diversos experimentos realizados, foram feitas análises de cromatografia gasosa acoplada à espectrômetro de massas. As análises foram realizadas no Instituto de Pesquisas Tecnológicas de Blumenau (IPTB – FURB – Blumenau-SC).

Foi utilizado um cromatógrafo a gás (CP-3800, Variant) acoplado a um espectrômetro de massas (2000, Saturn) para a identificação e fracionamento dos compostos presentes no óleo essencial de patchouli. Foi utilizada a coluna CP-Sil 8-CB Low Bleed/MS (30m de comprimento x 0,25mm de diâmetro x 0,25µm de espessura do filme). O gás de arraste utilizado foi hélio (He) a fluxo constante de 1 ml/min. A temperatura do injetor manteve-se em 250°C e a temperatura do forno foi mantida a 50°C por um minuto e, em seguida, aumentada até 240°C a uma taxa de 3°C/min. No espectrômetro de massas (MS) foram utilizadas as seguintes temperaturas: temperatura de *ion trap* (220°C), temperatura do *manifold* (80°C) e temperatura do *transferline* (190°C). O *software* de gerenciamento utilizado no MS foi o *Workstation 5.51* (Saturn).

Análises de cromatografia gasosa em detector de ionização de chama (GC-FID) também foram realizadas. O cromatógrafo a gás, a coluna e os patamares de temperatura utilizados foram os mesmos usados na cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (GC-MS). O detector de ionização de chama foi mantido a 280°C e o gás de arraste, He, a fluxo constante de 1,2ml/min. Foi utilizado o mesmo *software* de gerenciamento.

A identificação dos compostos obtidos por GC-MS foi analisada por comparação aos espectros de massas contidos na espectroteca NIST na *web*.

## 2.4 DETERMINAÇÃO DOS PARÂMETROS DA ESC DO ÓLEO ESSENCIAL DE PATCHOULI

Parâmetros como pressão e temperatura de extração são essenciais, como citados anteriormente. Porém, dados da geometria do leito fixo utilizado, propriedades físicas da matriz vegetal e cálculos de eficiência do processo são necessários para melhor avaliar o processo.

### 2.4.1 Cálculo da Porosidade do Leito ( $\varepsilon$ )

Relacionando a densidade real do patchouli com sua densidade aparente, é possível calcular a porosidade do leito fixo utilizado nos experimentos, como pode ser visto na equação (1).

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

Onde:

$\rho_a$  é a densidade aparente e  $\rho$  é a densidade real do patchouli, ambas dadas em ( $\text{g}/\text{cm}^3$ ). A porosidade é uma grandeza adimensional.

### 2.4.2 Cálculo da Densidade Aparente do Patchouli ( $\rho_a$ )

Para calcular a densidade aparente do patchouli utilizado nos experimentos, o extrator (EX) foi preenchido com a matriz vegetal pré-tratada, conforme itens 2.1 e 2.2. Este preenchimento foi feito manualmente e, de maneira simples; à medida que era preenchido, o leito era agitado de modo a acomodar perfeitamente as partículas de patchouli. Com o valor do volume do extrator (dado em  $\text{cm}^3$ ) e com a massa utilizada para preencher completamente o extrator (dada em g), foi possível calcular a densidade aparente do patchouli.

### 2.4.3 Cálculo da Densidade Real do Patchouli ( $\rho$ )

Sendo as espécies utilizadas neste trabalho as mesmas utilizadas por Donelian (2004), não houve a necessidade de se repetir a determinação da porosidade, utilizando-se o mesmo valor encontrado por este pesquisador.

Foi utilizado o método de porosimetria por mercúrio, em uma amostra de patchouli seco, moído e peneirado. A técnica utiliza o mercúrio para medir o volume ocupado por uma massa determinada de partículas (DONELIAN, 2004).

### 2.4.5 Cálculo do Rendimento da ESC do Óleo Essencial de Patchouli ( $\eta$ )

O rendimento de uma extração supercrítica é um indicativo importante para a viabilidade econômica do processo. O valor deste parâmetro depende das condições de pré-tratamento da matriz vegetal, de como esta é colocada no extrator e das interações desta com o solvente supercrítico. A equação (2) representa o cálculo do rendimento do processo.

$$\eta = \frac{m_{\text{óleo}}}{m} \times 100 \quad (2)$$

Onde:

$m_{\text{óleo}}$  é a massa de óleo essencial extraída (g),  $m$  é a massa de patchouli carregada no extrator (g) e  $\eta$  é o rendimento da extração (%).

### 2.4.6 Determinação e Escolha do Tamanho Médio da Partícula de Patchouli

O tamanho médio de partícula assume um papel importante em processos de extração controlados por resistências internas à transferência de massa, sendo que um tamanho de partícula menor reduz a difusão do solvente. Geralmente, partículas com diâmetros médios aproximadamente entre 0,25 e 2,0 mm são utilizadas (REVERCHON e DE MARCO, 2006).

Diante das afirmações do parágrafo anterior, citado anteriormente no item 1.3 desta dissertação, foram realizados estudos para se determinar o melhor tamanho médio de partícula do patchouli, a fim de otimizar o rendimento do processo de extração supercrítica de seu óleo essencial.

Utilizando o conjunto de peneiras da série *mesh* Tyler, procedeu-se a classificação dos lotes 4 e 6 de patchouli. Apesar de serem lotes diferentes, o intervalo de colheita foi de apenas um mês.

Observou-se material retido nos seguintes *mesh* de peneiras: 20, 24, 28, 32, 40, 48, 70, 140 e 325. Adotando-se o valor de abertura da malha destas peneiras, foi feita uma média ponderada das massas retidas nestas peneiras, obtendo-se três tamanhos médios de partículas característicos: 0,172; 0,346; 0,555 mm.

O termo “*tamanho médio de partícula*” deve-se ao fato de que uma *média* ponderada foi realizada, e não uma análise precisa do tamanho real das partículas de patchouli, como feito por Donelian (2004). O motivo de se ter escolhido o tamanho de partículas desta maneira é a facilidade e versatilidade do processo, bem como a rapidez com que se obtém o resultado deste procedimento.

## 2.5 EXPERIMENTOS REALIZADOS

Os experimentos realizados nesta dissertação estão divididos em quatro grupos. Cada um com um objetivo específico, mas todos com um objetivo comum: aperfeiçoar o processo de extração supercrítica do óleo essencial de patchouli.

Segundo Donelian (2004), a melhor condição de extração supercrítica do óleo essencial de patchouli obtida foi de 100 bar e 32°C, pois são as menores pressão e temperatura em que se obtém o maior rendimento, ou seja, as condições em que se obtém o maior rendimento com o menor gasto energético.

Donelian (2004) chegou a estas condições de pressão e temperatura após ter realizado uma análise estatística, onde obteve um modelo empírico capaz de prever os parâmetros do processo.

Assim, com pressão e temperatura otimizados, preocupou-se em estudar outros aspectos do processo. Todos os experimentos foram conduzidos a 100 bar e 32°C.

O tempo estático é um período em que não há escoamento de CO<sub>2</sub>\_SC pelo leito fixo, mas o solvente fica em contato com a matriz vegetal. Este tempo é normalmente de uma hora, como pode ser visto nos trabalhos de Barzegar *et al.* (1997) e Monteiro *et al.* (1997).

### **2.5.1 Estudo do rendimento do processo variando o tempo de extração**

**Objetivo específico:** avaliar o rendimento da extração supercrítica do óleo essencial de patchouli variando o tempo estático e o tempo de coleta de amostras;

**Lotes utilizados:** 2, 3 e 4;

**Tempos estático e de amostragem:** 10, 20, 30, 40, 50 e 60 minutos;

**Tempo total de extração:** variou segundo a quantidade de óleo essencial presente na matriz vegetal;

**Rendimento:** calculado segundo o item 2.4.4, levando-se em consideração os diferentes tempos estáticos e de coleta de amostras;

**Vazão:** 1,2 L/min (gasoso);

**Tamanho de partícula:** 0,555 mm.

### **2.5.2 Estudo do “Tamanho Médio de Partícula” para aumento do rendimento do processo**

**Objetivo específico:** avaliar diferentes tamanhos médio de partícula de patchouli, extraídos em duas vazões diferentes, objetivando maximizar o rendimento do processo;

**Lotes utilizados:** 4 e 6;

**Tempo estático:** 1 hora;

**Tamanhos de partícula estudados:** 0,172; 0,346; 0,555 mm;

**Vazões estudadas:** 1,2 e 3,0 L/min (gasoso).

### 2.5.3 Estudo da época de colheita

**Objetivo específico:** estudar diferentes épocas de colheita do patchouli, em diferentes estações do ano a fim de avaliar os rendimentos obtidos no processo;

**Lotes utilizados:** 1, 2, 4 e 5;

**Tamanho de partícula:** 0,555 mm;

**Vazão:** 1,2 L/min (gasoso).

### 2.5.4 Estudo da composição química do óleo essencial de patchouli: compostos de interesse *versus* tempo de processo

Este é o estudo mais importante e o de objetivo específico mais relevante desta dissertação.

**Objetivo específico:** estudar a composição química do óleo essencial de patchouli segundo as análises cromatográficas descritas no item 2.3. Avaliar, principalmente, a extração e separação dos compostos *patchoulol* e  *$\alpha$ -bulneseno*. O primeiro é responsável pela nota característica do óleo essencial de patchouli, importante para a indústria de perfumaria; o segundo é um importante agente antiplaquetário inédito que age como um inibidor competitivo do receptor PAF;

**Lote utilizado:** 3.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados apresentados neste capítulo terão quatro abordagens, segundo descrito no item 2.5.

Esta organização objetiva aprimorar o processo de extração supercrítica do óleo essencial de patchouli, avaliando parâmetros não estudados anteriormente para a extração deste óleo.

Como citado anteriormente, todas as extrações supercríticas realizadas nesta dissertação foram conduzidas a 100 bar de pressão, 32°C de temperatura e uma hora de tempo estático (exceto para o primeiro grupo de experimentos). A estas condições, o CO<sub>2</sub>\_SC possui massa específica de, aproximadamente, 0,75 g/cm<sup>3</sup> ou 750 kg/m<sup>3</sup> (calculado pelo *software* EOS-SCx versão 0.2w). Os tempos de processo variaram segundo o objetivo específico de cada grupo de experimentos.

Assim como no item 2.5, os tópicos estão divididos em quatro grandes grupos de experimentos, sendo eles: *rendimento versus tempo de processo; influência do tamanho médio de partícula no rendimento do processo; as diferentes épocas de colheita; análise da composição química do óleo essencial de patchouli com o tempo.*

#### 3.1 RENDIMENTO *VERSUS* TEMPO DE PROCESSO

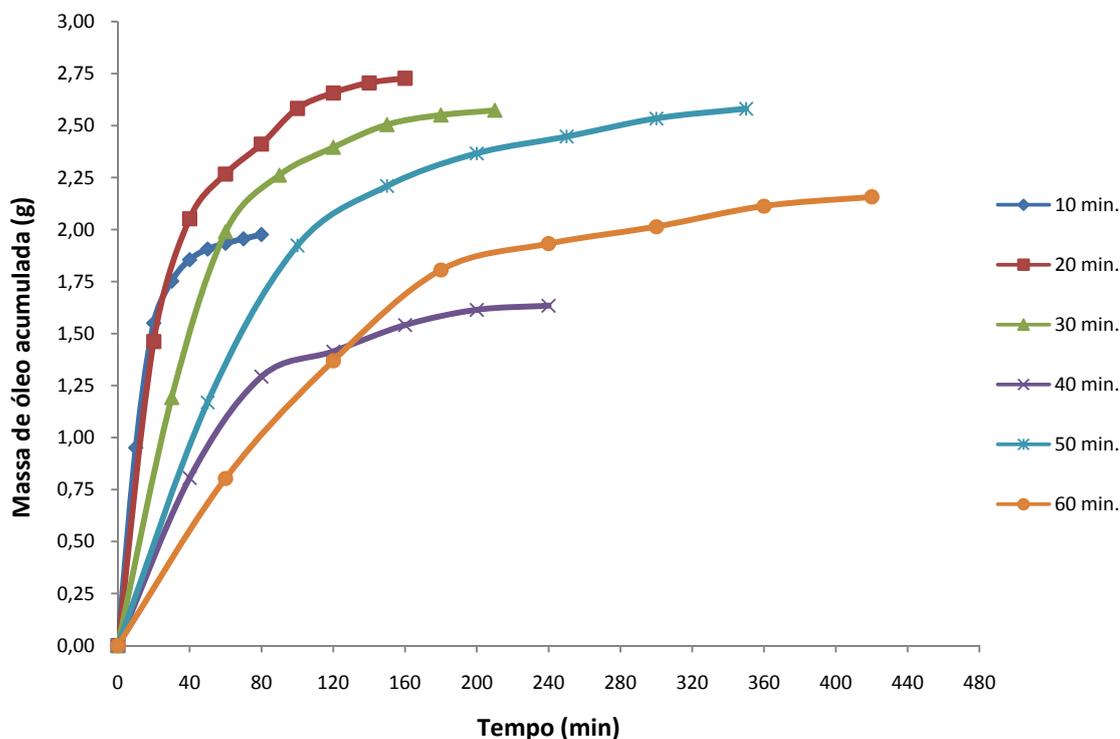
Foram realizadas extrações supercríticas do óleo essencial de patchouli com o objetivo de se comparar a variação do tempo de extração com o rendimento obtido.

As extrações tiveram tempos diferentes (estático e de coleta de amostra), onde o limite para o término das mesmas era a completa exaustão da matriz vegetal.

Para isto, estudaram-se seis tempos estáticos diferentes: 10, 20, 30, 40, 50 e 60 minutos. Sendo que em cada uma destas extrações, os intervalos de coleta respeitaram o mesmo tempo do tempo estático. Por exemplo, na extração de 10 minutos de tempo estático, as amostras foram coletadas a cada dez minutos até que

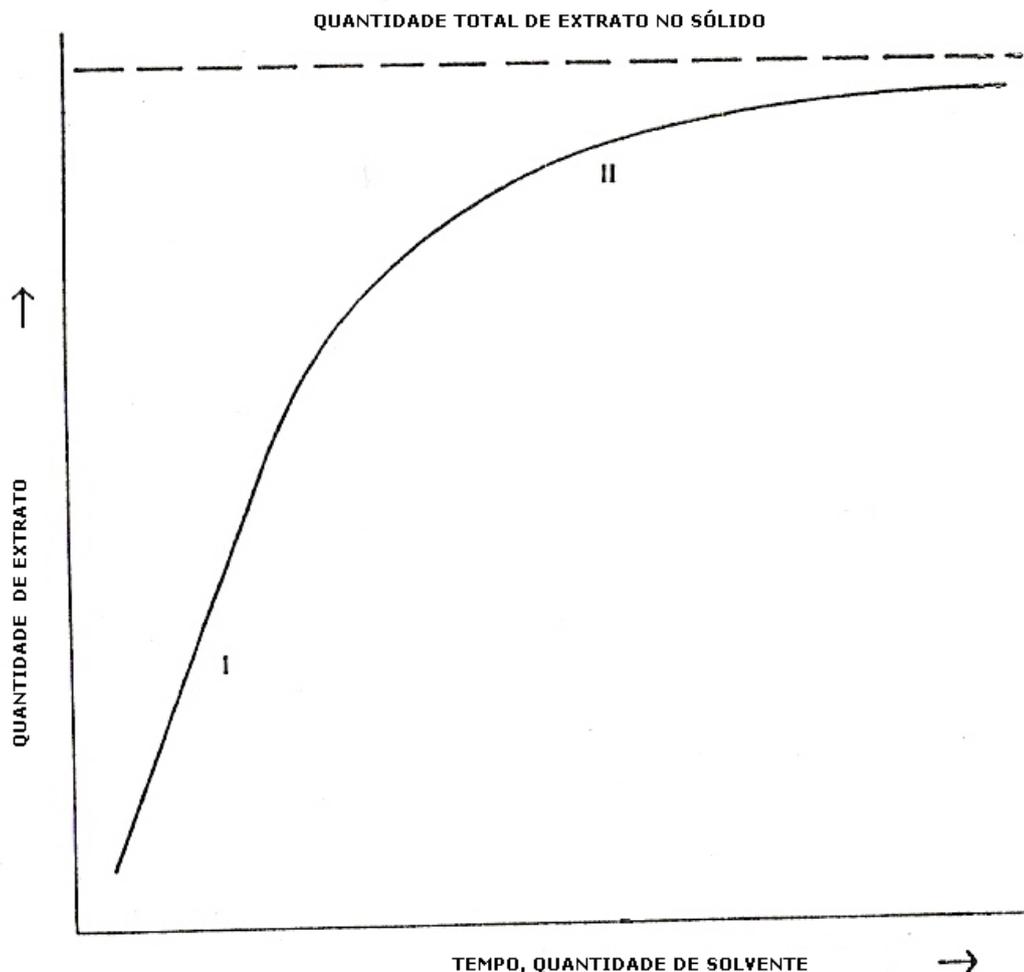
a matriz vegetal fosse completamente exaurida. A vazão de CO<sub>2</sub>\_SC, medida no estado gasoso, foi de 1,2 L/min para todos os experimentos deste grupo.

A Figura 10 mostra as curvas de extração para os diferentes tempos estáticos estudados.



**Figura 10 - Curvas de extração para os diferentes tempos estáticos estudados.**

As curvas de extração apresentadas na Figura 10 têm o comportamento semelhante ao descrito por Brunner (1994). Segundo este pesquisador, a quantidade de extrato acumulada durante o curso da extração segue, em princípio, a curva esquemática da Figura 11. A primeira parte da curva (I) corresponde à taxa de extração constante e pode se aproximar de uma linha reta. A segunda parte (II) forma um gráfico que se aproxima de um valor limite, o qual é dado pela quantidade total de substâncias extraíveis.



**Figura 11 – Curva de extração integral**

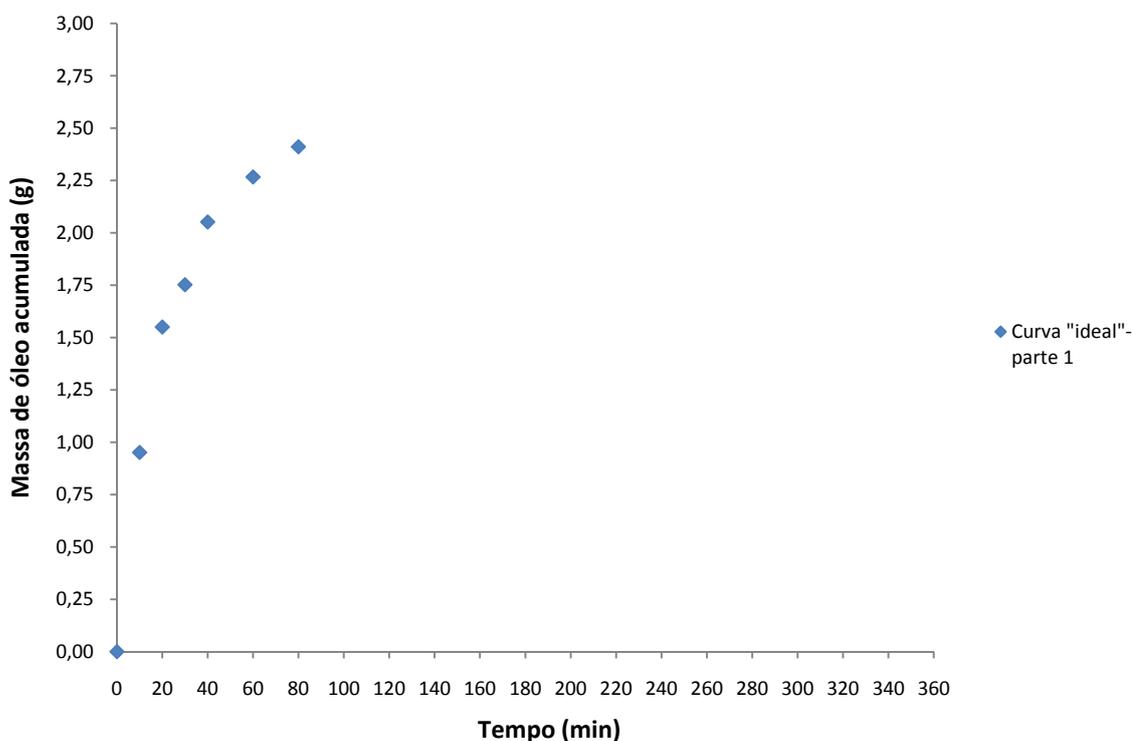
Adaptado de Brunner, 1994.

A inclinação da primeira parte do gráfico pode ser dada pela solubilidade de equilíbrio e indica a velocidade com que o óleo mais disponível é extraído. Isto foi observado quanto menor o tempo estático das extrações. Mas, se a inclinação desta parte da curva é pequena, significa que resistências à transferência de massa ainda governam o processo e o equilíbrio ainda não foi atingido. É necessário, então, mais tempo de extração para extrair todo o óleo essencial da matriz vegetal. Este fenômeno foi constatado à medida que se aumentou o tempo estático das extrações. A segunda parte da curva, período onde pouco óleo essencial é extraído aumenta com o aumento dos tempos estáticos. Neste caso, conduzir a extração por mais tempo não é tão viável, visto que se gasta muito solvente supercrítico para se extrair uma quantidade ínfima de óleo essencial (vide Figura 15).

A exceção neste caso foi para a curva de tempo estático de 40 minutos. Observa-se o período de taxa de extração constante com inclinação menor que a inclinação da curva de 50 minutos. Isto pode ser explicado por fatores de compactação do leito com formação de caminhos preferenciais, o que dificulta a transferência de massa, sendo comprovado quando o extrator foi descarregado. Foi observado que uma faixa de aproximadamente 5 cm estava completamente compactada e com coloração mais escura que as outras seções do leito, indicando que desta faixa não houve extração de óleo essencial.

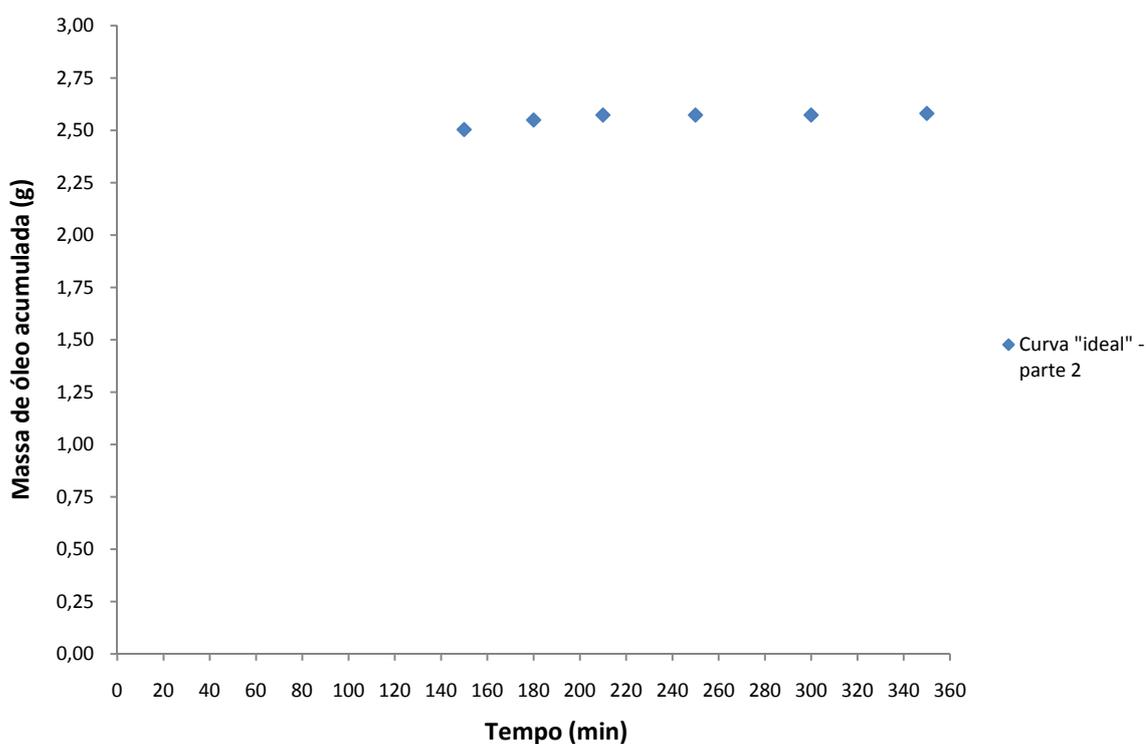
As curvas de extração apresentadas na Figura 10 apresentam certa superposição de pontos. Assim, poder-se-ia construir uma curva “ideal” pela junção de pontos das curvas estudadas, de modo que esta nova curva teria o comportamento da curva da Figura 11 e indicaria intervalos de coleta “ideais” para se atingir o máximo rendimento de processo.

A primeira parte desta curva “ideal” então, seria constituída pela junção de alguns pontos das curvas de tempo estático de 10 e 20 minutos, conforme Figura 12.



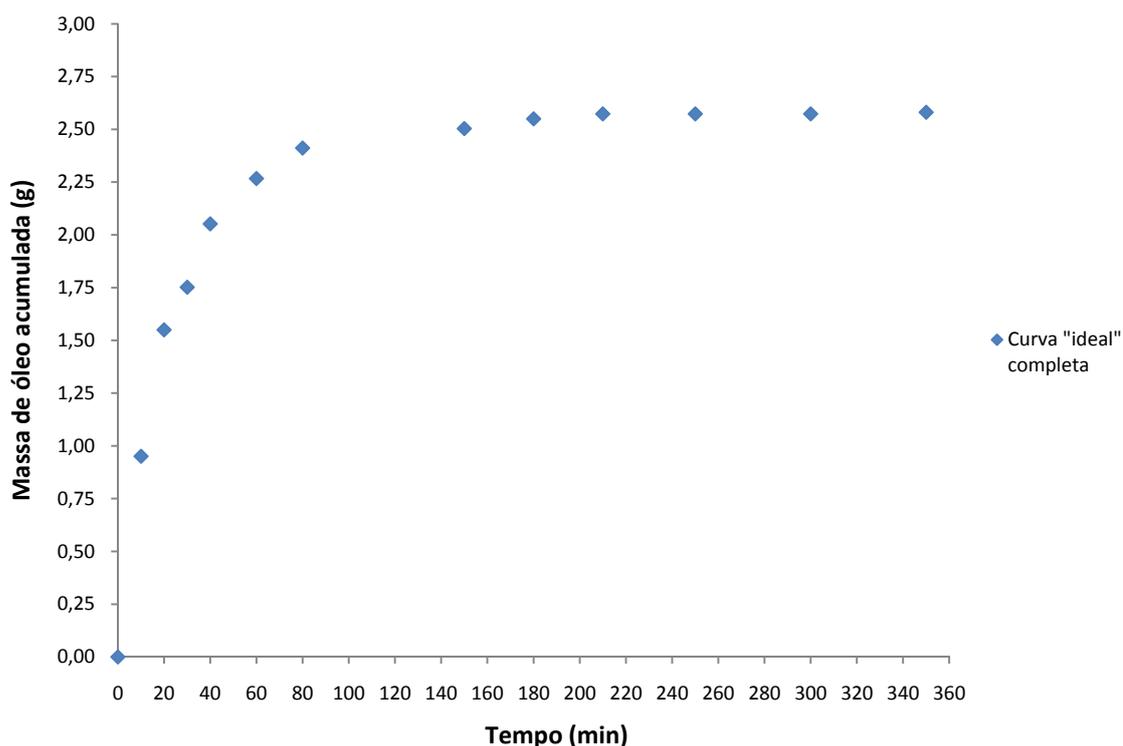
**Figura 12 – Curva de extração “ideal” (parte 1)**

A segunda parte da curva “ideal” seria constituída pela junção de pontos das curvas de tempo estático de 30 e 50 minutos, representada pela curva da Figura 13. Os pontos a 250 e 300 minutos foram ajustados de modo a manter a continuidade da curva.



**Figura 13 - Curva de extração “ideal” (parte 2)**

A junção das curvas das Figuras 12 e 13 formariam, finalmente, a curva de extração “ideal” completa (Figura 14).

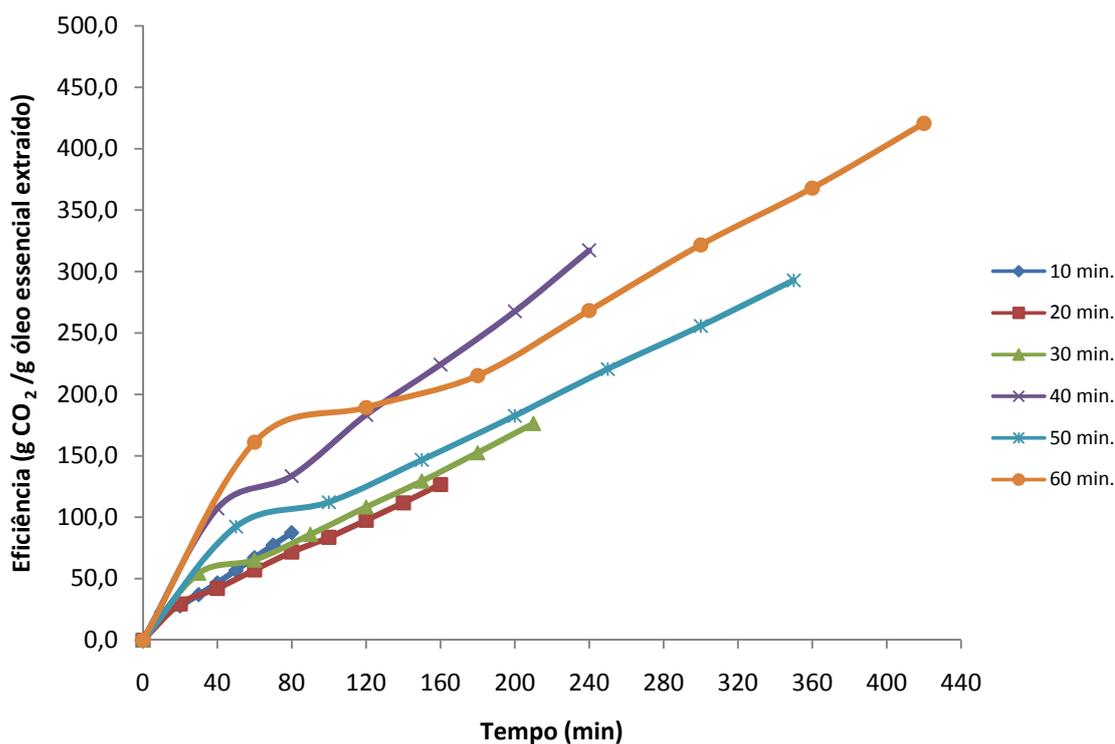


**Figura 14 – Curva de extração “ideal” completa**

A curva da Figura 14 tem formato semelhante à curva da Figura 11, como proposto, e às curvas de extração reais apresentadas na Figura 10.

Observa-se que a primeira parte da curva da Figura 14 possui uma inclinação acentuada, indicando uma alta velocidade de extração do óleo essencial mais disponível. A segunda parte é longa e se coletaria pouca quantidade de óleo essencial, não sendo vantajoso continuar a extração a partir do 100º minuto aproximadamente, devido à quantidade de solvente excedente que seria gasto. No entanto, seriam necessários experimentos adicionais para confirmar estes dados.

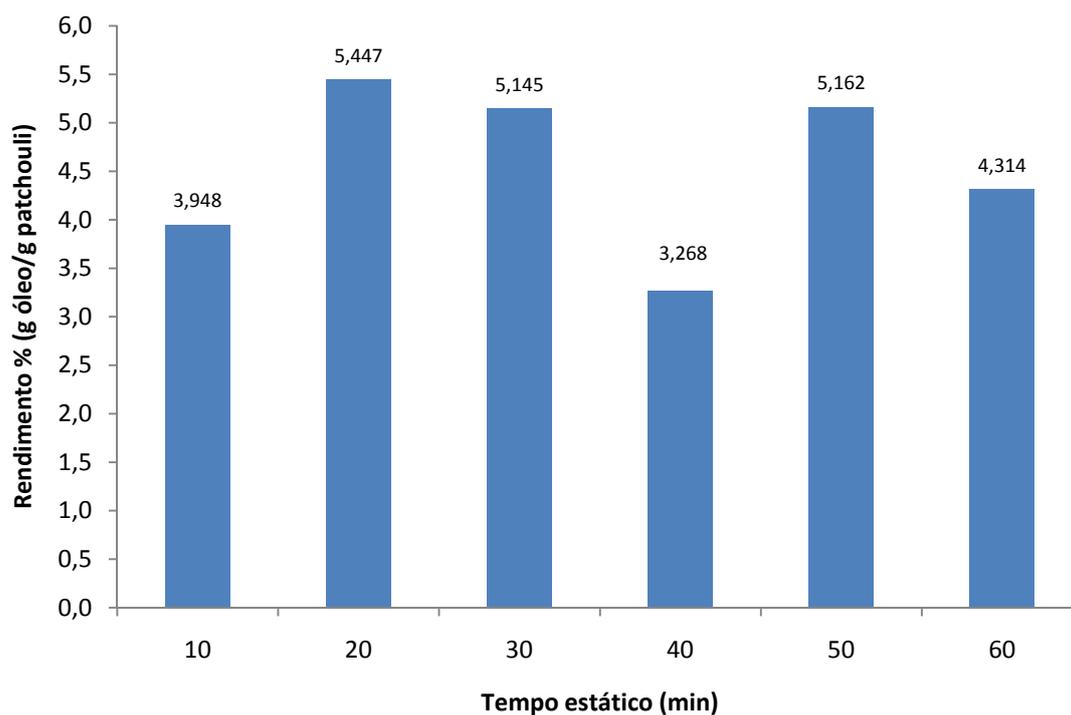
Com dados das extrações realizadas neste tópico, construiu-se um diagrama de eficiência do processo em termos de consumo de solvente pela quantidade de óleo essencial extraída. A Figura 15 apresenta este diagrama.



**Figura 15 – Curvas de eficiência para os diferentes tempos estáticos estudados**

Observa-se que o processo mais eficiente é a extração de 20 minutos de tempo estático, ou seja, aquele em que se gasta a menor quantidade de solvente e se extrai a maior quantidade de óleo essencial. Extrações de tempos maiores logicamente tiveram gastos de solvente maiores. Por isso, o motivo de se avaliar em termos de gasto de CO<sub>2</sub>/g de matriz vegetal. Mas, as extrações de 30 e 50 minutos de tempo estático tiveram eficiência satisfatória até o 160º minuto, aproximadamente, podendo ser tempos aplicados se tiverem parâmetros otimizados. Assim, pode-se admitir que o processo com 20 minutos de tempo estático é considerado “ideal” para a extração supercrítica do óleo essencial de patchouli.

Os dados de rendimento das extrações realizadas são apresentados na Figura 16, o que permite avaliar de forma completa os processos.



**Figura 16 – Dados dos rendimentos das extrações supercríticas nos diferentes tempos estáticos**

Sendo os rendimentos das extrações de 20 e 50 minutos de tempo estático os maiores, o óleo essencial de patchouli coletado nestes experimentos foi escolhido para se realizar análises de composição química, como pode ser visto no item 3.4.

### 3.2 INFLUÊNCIA DO TAMANHO MÉDIO DE PARTÍCULA NO RENDIMENTO DO PROCESSO

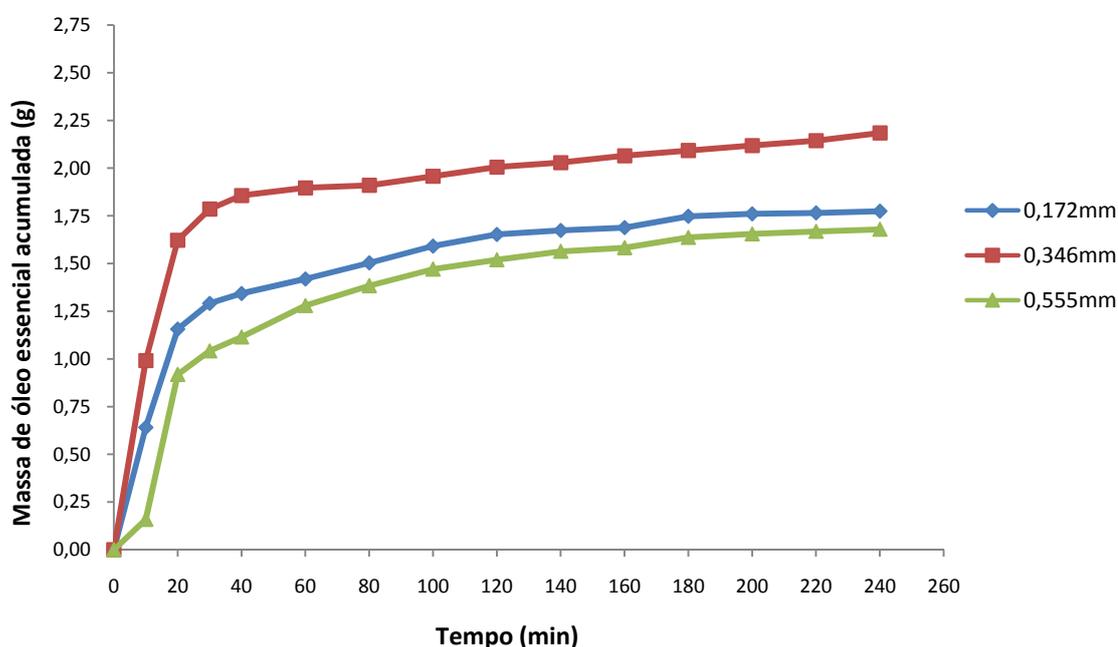
As extrações supercríticas realizadas para avaliar este parâmetro tiveram a duração de 300 minutos, sendo 60 destes de tempo estático. Foram feitas em duplicata e os resultados apresentados são a média aritmética dos experimentos.

Foram estudados três tamanhos “médios” de partículas característicos (0,172; 0,346 e 0,555 mm) e duas vazões de dióxido de carbono supercrítico (1,2 e 3,0 L/min).

A eficiência do processo foi avaliada em termos de rendimento, calculado segundo o item 2.4.4, e em termos de gasto de CO<sub>2</sub> nos diferentes tamanhos de partícula estudados.

A escolha destes tamanhos característicos levou em consideração a citação de Reverchon e De Marco (2006) de que são utilizadas, geralmente, partículas variando entre 0,25 e 2,00 mm. De modo que, partículas menores que 0,25 mm podem levar à geração de caminhos preferenciais no leito, prejudicando a eficiência do processo e, partículas maiores que 2,00 mm afetariam a transferência de massa do processo. Mas, o tamanho ideal precisa ser estudado caso a caso, ou seja, para cada matriz vegetal estudada há um tamanho ideal.

A Figura 17 apresenta as curvas de extração dos tamanhos de partícula estudados para a vazão de 1,2 L/min de solvente supercrítico.



**Figura 17 - Curvas de extração para os diferentes tamanhos de partícula na vazão de 1,2 L/min**

Observa-se que a curva em vermelho, referente ao tamanho de 0,346 mm, apresenta o melhor desempenho de extração. Este resultado era esperado, visto

que o tamanho de 0,172 mm encontra-se abaixo do limite inferior sugerido pela literatura e o tamanho de 0,555 mm, entre os três tamanhos estudados, é o que se encontra mais próximo ao limite superior de tamanho sugerido pela literatura.

A Tabela 6 faz um comparativo entre os rendimentos obtidos para os diferentes tamanhos de partícula estudados, considerando vazão de 1,2 L/min.

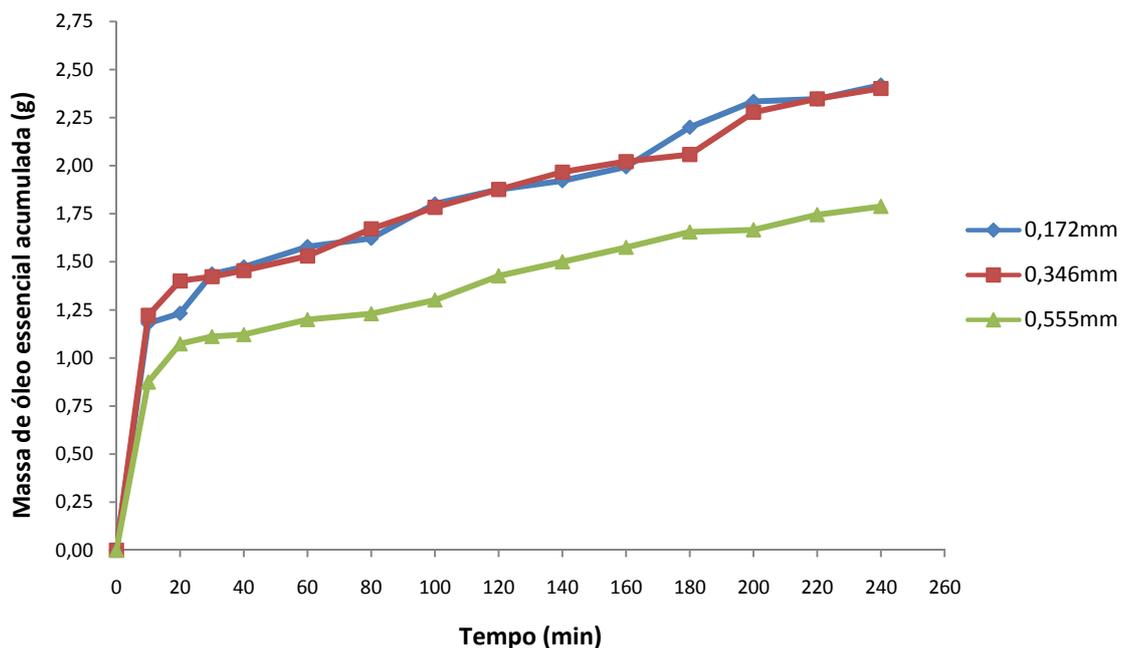
**Tabela 6 – Rendimento das ESC realizadas à vazão de 1,2 L/min para os tamanhos de partícula estudados**

<b>Tamanho Médio de Partícula (mm)</b>	<b>Vazão Volumétrica de CO<sub>2</sub> (L/min)</b>	<b>Rendimento % (g óleo essencial/g patchouli)</b>
0,172	1,2	3,55
0,346		4,37
0,555		3,36

Os rendimentos obtidos para todos os tamanhos estudados são considerados bons, visto a pequena vazão utilizada. Donelian (2004), utilizando vazão de 1,5 L/min para a ESC de patchouli, obteve rendimento em torno de 3,7%, utilizando 107 bar de pressão e 50°C de temperatura. Porém, a massa específica a estas condições é de 0,47 g/cm<sup>3</sup>, menor que a usada nesta dissertação, 0,75 g/cm<sup>3</sup>.

Comparando os rendimentos obtidos entre os tamanhos estudados a esta vazão (1,2 L/min), observa-se que os tamanhos que estão além dos limites sugeridos pela literatura apresentaram os menores valores. As partículas de 0,555 mm apresentaram o menor rendimento (3,36%); o que sugere que, para o patchouli, este é um tamanho que dificulta a transferência de massa de óleo essencial desde os “bolsões” (onde se encontra o óleo essencial) até a superfície externa das células. Resultado semelhante foi obtido para as partículas de 0,172 mm (3,55%). A formação de caminhos preferenciais (observada no descarregamento do extrator e citada na literatura), onde o solvente escoia sem entrar em contato com as partículas, causou a baixa eficiência da extração para este tamanho de partícula.

A Figura 18 apresenta as curvas de extração dos tamanhos de partícula estudados para a vazão de 3,0 L/min de solvente supercrítico.



**Figura 18 - Curvas de extração para os diferentes tamanhos de partícula na vazão de 3,0 L/min**

A taxa de extração constante, observada na primeira parte das curvas de extração e que acontece no início do processo, aumenta conforme o fluxo de  $\text{CO}_2$  é aumentado. Porém, o aumento do fluxo para diminuir o tempo de taxa de extração constante é limitado pelo aumento dos custos operacionais (DONELIAN, 2004).

Da mesma forma que nas extrações a 1,2 L/min, o tamanho de 0,555 mm apresentou o menor rendimento, causado por uma “ineficiente” transferência de massa do processo.

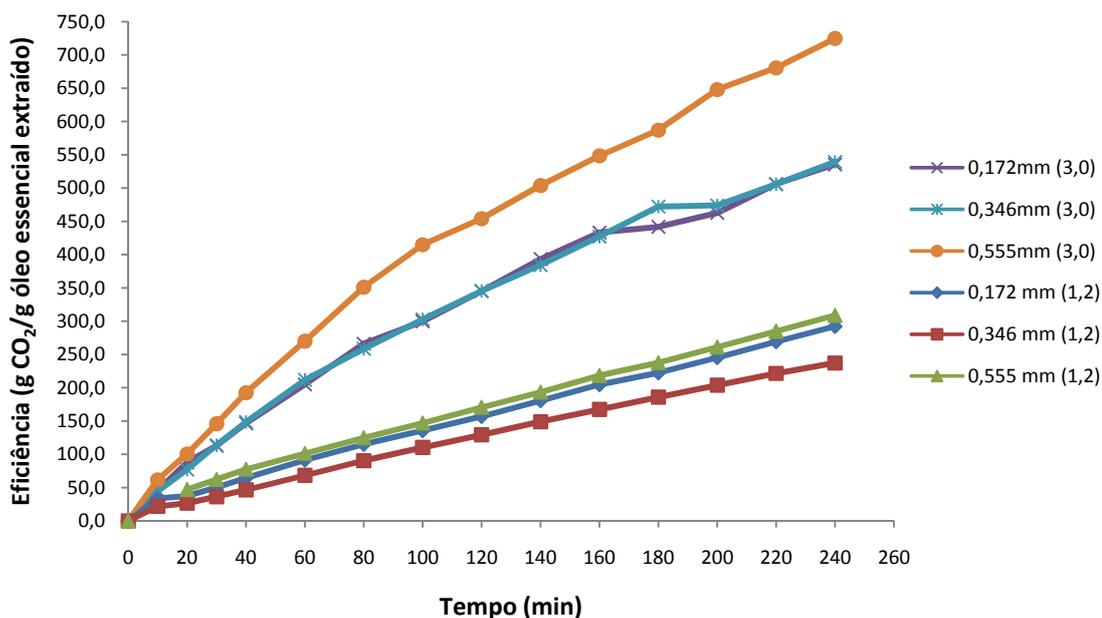
Sendo que um pequeno tamanho de partícula proporciona um caminho curto à transferência de massa e por não ter sido observada a formação de caminhos preferenciais no leito formado com partículas de 0,172 mm, o rendimento desta extração se aproximou e até superou o rendimento da extração conduzida com partículas de 0,346 mm, como pode ser visto na Tabela 7. Neste caso, as afirmações de Reverchon e De Marco (2006) sobre o tamanho de partícula não se confirmaram, necessitando de outras avaliações para escolher o tamanho ideal de partícula para o patchouli (Figura 19).

**Tabela 7 - Rendimento das ESC realizadas à vazão de 3,0 L/min para os tamanhos de partícula estudados**

Tamanho Médio de Partícula (mm)	Vazão Volumétrica de CO <sub>2</sub> (L/min)	Rendimento % (g óleo essencial/g patchouli)
0,172	3,0	4,83
0,346		4,80
0,555		3,63

Como era esperado, um aumento de fluxo de solvente aumenta o rendimento do processo, mas, porém, aumenta o gasto de CO<sub>2</sub> (cerca de 40%).

O diagrama de eficiência do processo pode ser visto na Figura 19.



**Figura 19 - Curvas de eficiência para os diferentes tamanhos de partícula e nas vazões estudadas**

Observa-se que o processo mais eficiente foi a extração que utilizou tamanho “médio” de partícula de 0,346 mm (à vazão de 1,2 L/min), com rendimento de 4,37% e gasto total de 237,4g CO<sub>2</sub>/ g de óleo essencial de patchouli extraído.

### 3.3 AS DIFERENTES ÉPOCAS DE COLHEITA

As extrações supercríticas realizadas para o estudo das épocas de colheita tiveram a duração total de 420 minutos de período dinâmico, com 60 minutos de tempo estático. A vazão de CO<sub>2</sub> utilizada foi de 1,2 L/min (medida à 1bar e temperatura ambiente).

Foram estudadas duas estações do ano: outono e inverno. As extrações realizadas no inverno tiveram um intervalo de um ano e as de outono foram realizadas no mesmo ano, com diferença de um mês de colheita.

O objetivo deste estudo é avaliar a diferença de rendimento das extrações realizadas entre as mesmas estações, levando em consideração a quantidade de chuvas e de intensidade solar, e da mesma forma, comparando estações do ano diferentes.

A Figura 20 apresenta o rendimento das extrações supercríticas do óleo essencial de patchouli para plantas colhidas no inverno, com um ano de diferença.

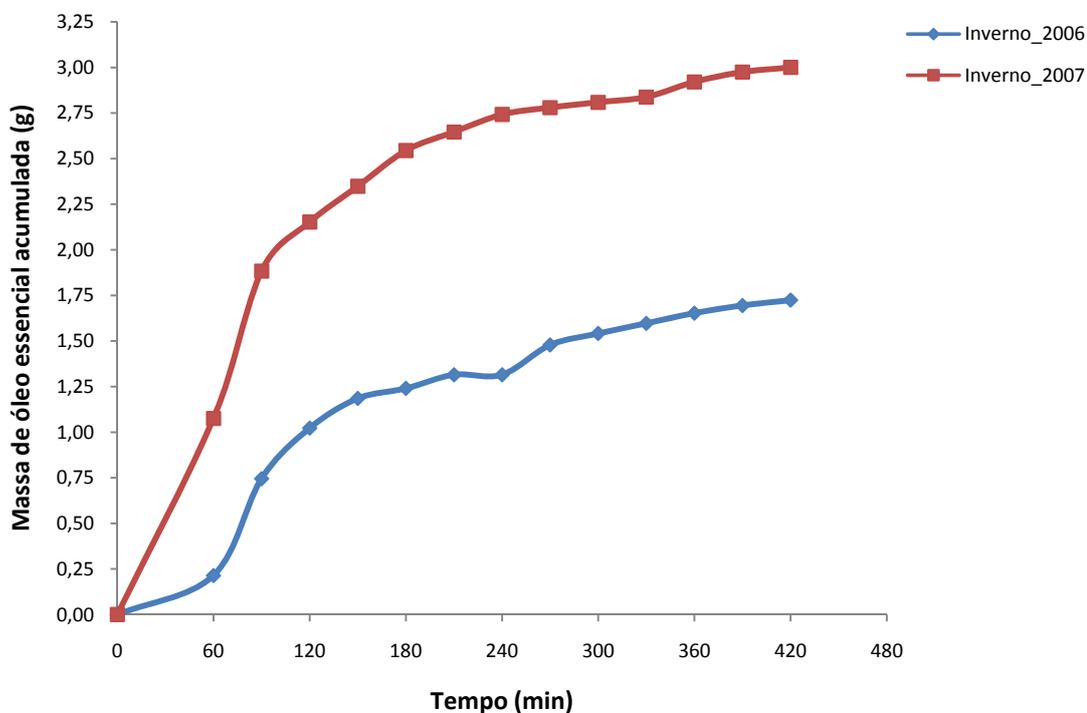


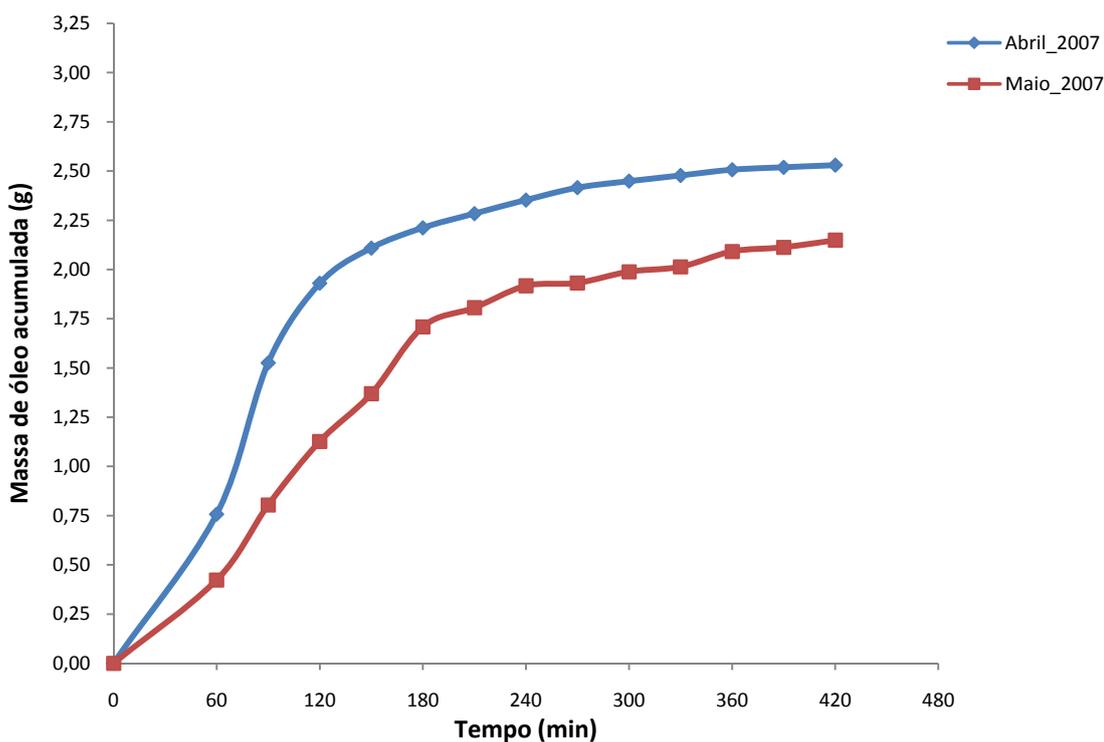
Figura 20 - Curvas de extração para plantas coletadas no inverno

Notavelmente, a curva de extração referente a plantas colhidas no inverno de 2007 apresentou o melhor rendimento (em peso) de processo (5,94% contra 3,13% das plantas colhidas no inverno de 2006). Sendo utilizadas as mesmas condições de processo (pressão, temperatura, método de pré-tratamento, vazão), esperar-se-ia que os resultados fossem semelhantes.

Por isso, as épocas de colheita devem ser consideradas. Adicionalmente, a distribuição de chuvas e de foto-período ao longo do ano contribui no desenvolvimento da planta (SINGH *et al.*, 2002).

As plantas começaram a receber irrigação no final do ano de 2006. No verão de 2007 houve intensa presença de sol e boa distribuição de chuvas, o que explica o aumento de rendimento, confirmando a afirmação do parágrafo anterior. No entanto, necessita-se estudar os níveis de irrigação empregados, a fim de encontrar um valor ideal. As épocas de estiagem devem também ser estudadas para se projetar os períodos de irrigação da plantação. Segundo Singh *et al.* (2002), o crescimento do patchouli é reprimido quando há falta de umidade para a planta, o que leva a diminuir a quantidade de óleo essencial a ser extraída.

Da mesma forma, foram realizadas extrações com plantas colhidas em outra estação do ano, no outono. Porém, são plantas colhidas na estação do mesmo ano, com diferença de um mês. A Figura 21 apresenta os resultados destas extrações.

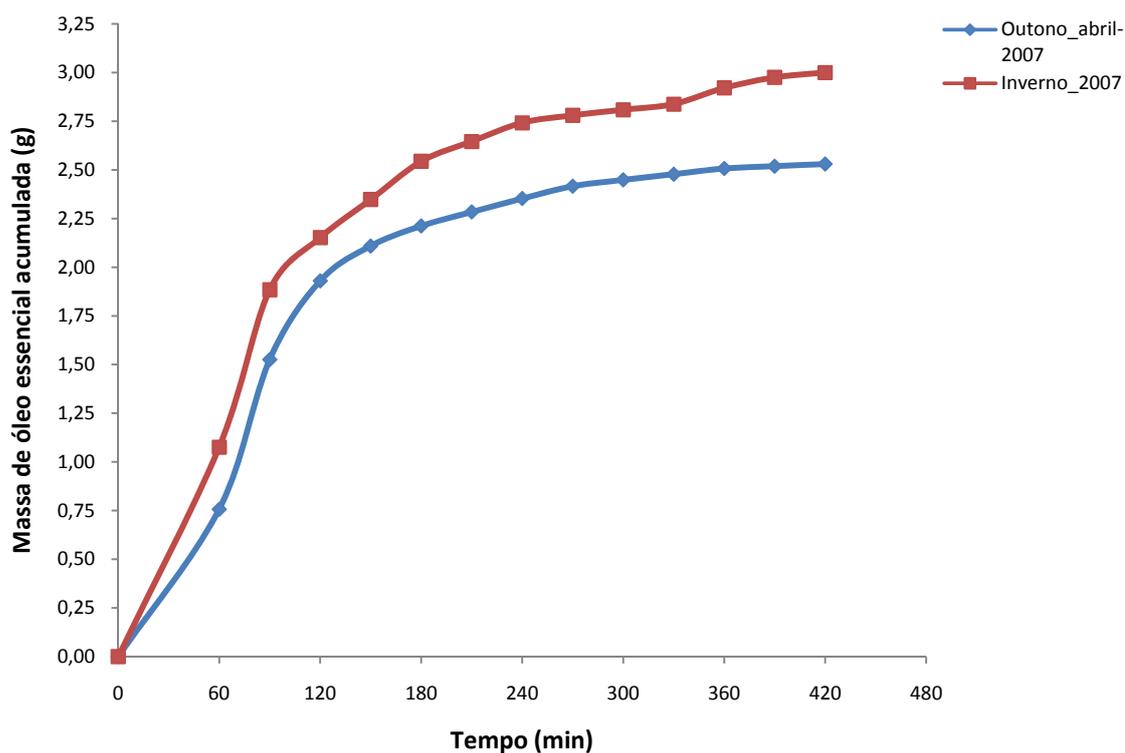


**Figura 21 - Curvas de extração para plantas coletadas no outono**

Os resultados apresentados na Figura 21 mostram que a extração realizada com plantas coletadas em abril de 2007 obteve um rendimento maior (5,06% em peso) que a realizada com plantas colhidas em maio do mesmo ano (4,30% em peso).

Vale ressaltar que o nível de irrigação depende da quantidade de chuvas, e período de sol na época da colheita, pois um período de estiagem força o uso da irrigação para manter a qualidade das plantas. Apesar das plantas terem sido colhidas na mesma estação do ano, a diferença de um mês foi considerada como influente.

E ao se comparar diferentes estações do ano, do mesmo ano, ainda sim existem diferenças de rendimento do processo, como pode ser visto na Figura 22.



**Figura 22 - Curvas de extração comparativas entre diferentes estações do ano**

As curvas de extração das plantas colhidas no outono e no inverno de 2007 possuem comportamento semelhante, porém com rendimentos diferentes. Isto prova ainda mais as diferenças de estações e épocas de colheita, necessitando avaliar qual a estação do ano ideal para o patchouli e, da mesma forma, para qualquer tipo de matriz vegetal. A Tabela 8 traça um comparativo entre as estações do ano estudadas em termos de rendimento do processo.

**Tabela 8 - Dados comparativos entre as colheitas feitas em diferentes épocas do ano**

<b>Estação do Ano</b>	<b>Época de Colheita</b>	<b>Rendimento % (g óleo essencial/ g patchouli)</b>
Inverno	Setembro/2006	3,13
Outono	Abril/2007	5,06
Outono	Mai/2007	4,30
Inverno	Julho/2007	5,94

Assim, analisando os dados dos experimentos realizados nas diferentes épocas de colheita, conclui-se que a época do ano em que se extrai a maior quantidade de óleo essencial de patchouli é no inverno, respeitando-se os fatores climáticos envolvidos e as considerações feitas neste item.

Um estudo mais aprofundado sobre os níveis de irrigação, condição de exposição das plantas ao sol e demais aspectos agrônômicos são necessários.

Adicionalmente, uma análise química para a identificação dos compostos extraídos nas diferentes épocas do ano também é importante, de modo que a cada estação do ano têm-se composições diferentes do mesmo óleo essencial (SINGH *et al.*, 2002).

### 3.4 ANÁLISE DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO ÓLEO ESSENCIAL DE PATCHOULI COM O TEMPO

Este tópico é o foco principal desta dissertação, por se tratar da identificação de compostos de interesse dos óleos essenciais extraídos em diferentes condições de operação, no que diz respeito principalmente ao tempo de processo.

Foram realizadas análises químicas dos óleos essenciais de patchouli coletados nas extrações de 20 e 50 minutos de tempo estático, conforme citado no item 3.1.

Assim como afirmou Donelian (2004), a qualidade do óleo essencial de patchouli é determinada pela presença do composto *patchoulol*, responsável pela nota característica deste óleo essencial e de sua capacidade fixadora de aromas.

Porém, em estudos recentes do óleo essencial de patchouli, identificou-se um composto extremamente importante, o  *$\alpha$ -bulneseno*, responsável por combater doenças como trombose e arteriosclerose (HSU *et al.*, 2006; TSAI *et al.*, 2007).

Para melhor avaliar, então, a qualidade dos óleos essenciais extraídos, foi realizado um estudo da presença destes dois importantes compostos segundo o tempo de extração. Análises em GC-MS identificaram estes compostos e outros compostos importantes do óleo essencial de patchouli. Estas análises foram realizadas em amostras do início, meio e fim das extrações realizadas. Todos os espectros de massa foram semelhantes em termos qualitativos, porém apresentaram variação de quantidade com o tempo. Nas amostras intermediárias àquelas feitas por GC-MS, foram realizadas análises em detector de ionização de chamas (FID). Os laudos das análises podem ser vistos no Anexo II.

Os cromatogramas das amostras que serviram para a identificação dos compostos por espectrometria de massas são apresentados na Figura 23.

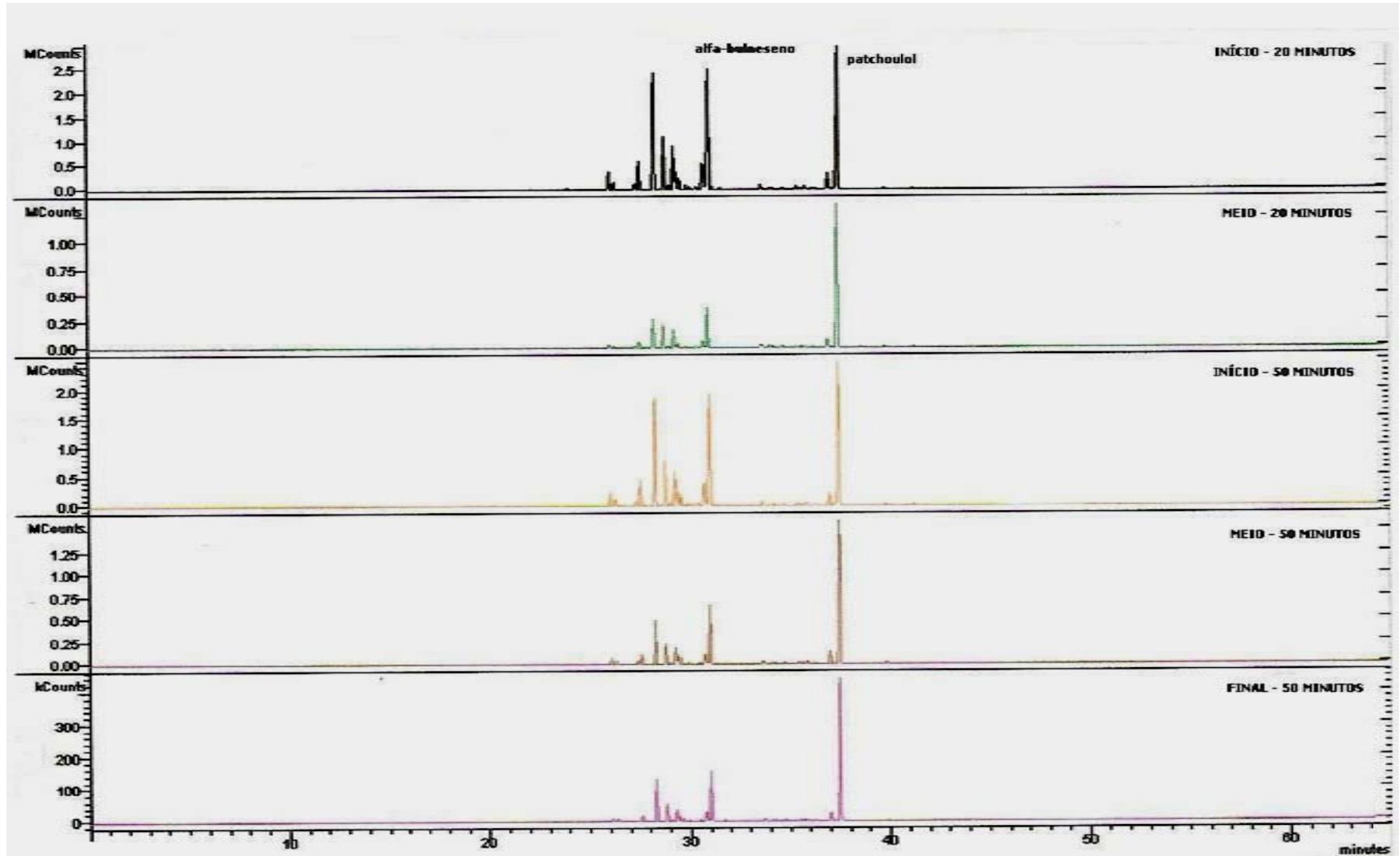


Figura 23 – Comparação entre os cromatogramas obtidos por GC-MS para as amostras do início, meio e fim das extrações analisadas

Observa-se que todos os cromatogramas são semelhantes e apresentam, principalmente, os compostos *patchoulol* e  *$\alpha$ -bulneseno*. A amostra final da extração de 20 minutos de tempo estático não apresentou nenhum pico, possivelmente pela pequena quantidade de amostra. Uma re-análise com um volume de injeção maior apresentou indícios dos compostos encontrados nas demais amostras, porém ressaltou possíveis picos interferentes, o que dificultou a quantificação.

As Tabelas 9 e 10 apresentam os compostos identificados na primeira amostra de cada extração analisada.

**Tabela 9 – Compostos identificados na análise de GC-MS da primeira amostra da extração de 20 minutos de tempo estático**

Pico	Tempo de Retenção (min)	Composto	Área do Pico (%)
1	8,606	$\beta$ -Pinoeno	0,023
2	10,643	Limoneno	0,016
4	24,071	gama-Elemeno	0,127
5	26,147	$\beta$ -Patchouleno	2,206
6	26,412	$\alpha$ -Selineno	0,827
7	27,428	Thujopseno	0,696
8	27,646	Cariofileno	3,462
9	28,387	$\alpha$ -Guaieno	17,408
11	28,864	(-)-Isoledeno	7,077
13	29,135	$\alpha$ -Cariofileno	0,600
14	29,360	$\alpha$ -Patchouleno	5,390
15	29,469	(-)- $\alpha$ -Gurjuneno	1,947
16	29,618	Seicheleno	1,565
18	30,164	$\beta$ -Cubebeno	0,389

**Tabela 9 – Compostos identificados na análise de GC-MS da primeira amostra da extração de 20 minutos de tempo estático (continuação)**

Pico	Tempo de Retenção (min)	Composto	Área do Pico (%)
20	30,504	gama-Gurjuneno	0,389
21	30,808	$\beta$ -Guaieno, cis	3,615
23	31,101	$\alpha$ -Bulneseno	19,394
24	31,259	$\alpha$ -Selineno	0,254
26	31,713	3,7 (11)-Selinadieno	0,201
34	34,138	Óxido de Cariofileno	0,235
40	35,192	Óxido de Aloaromadendreno– (2)	0,130
43	35,917	Globulol	0,628
44	36,323	Epiglobulol	0,252
49	37,086	Viridiflorol	2,231
51	37,574	Patchoulol	25,892
64	41,362	Longiverbenona	0,174

Observa-se na Tabela 9 que, já nos primeiros 20 minutos de extração, os compostos *patchoulol* e  *$\alpha$ -bulneseno* aparecem em boa quantidade, bem como uma série de outros compostos. Foram identificados nesta amostra 26 compostos representando um total de 95,128% da área dos picos presentes no cromatograma.

**Tabela 10 - Compostos identificados na análise de GC-MS da primeira amostra da extração de 50 minutos de tempo estático**

Pico	Tempo de Retenção (min)	Composto	Área do Pico (%)
1	24,082	gama-Elemeno	0,064
2	26,152	$\beta$ -Patchouleno	2,067

**Tabela 10 - Compostos identificados na análise de GC-MS da primeira amostra da extração de 50 minutos de tempo estático (continuação)**

Pico	Tempo de Retenção (min)	Composto	Área do Pico (%)
3	26,422	$\alpha$ -Selineno	0,871
4	27,440	Thujopseno	0,686
5	27,652	Cariofileno	3,368
6	28,376	$\alpha$ -Guaieno	17,009
9	28,867	(-)-Isoledeno	6,736
11	29,142	$\alpha$ -Cariofileno	0,624
12	29,365	$\alpha$ -Patchouleno	5,066
13	29,474	(-)- $\alpha$ -Gurjuneno	1,823
14	29,626	Seicheleno	1,617
16	30,177	$\beta$ -Cubebeno	0,327
17	30,514	gama-Gurjuneno	0,565
18	30,815	$\beta$ -Guaieno, cis	3,460
20	31,095	$\alpha$ -Bulneseno	18,007
21	31,264	$\alpha$ -Selineno	0,138
22	31,719	3,7 (11)-Selinadieno	0,169
29	34,152	Óxido de Cariofileno	0,320
33	35,052	Óxido de Aloaromadendreno-(2)	0,054
37	35,926	Globulol	0,516
39	36,329	Epiglobulol	0,268
44	37,084	Viridiflorol	1,944
46	37,577	Patchoulol	28,400
61	41,378	Longiverbenona	0,216

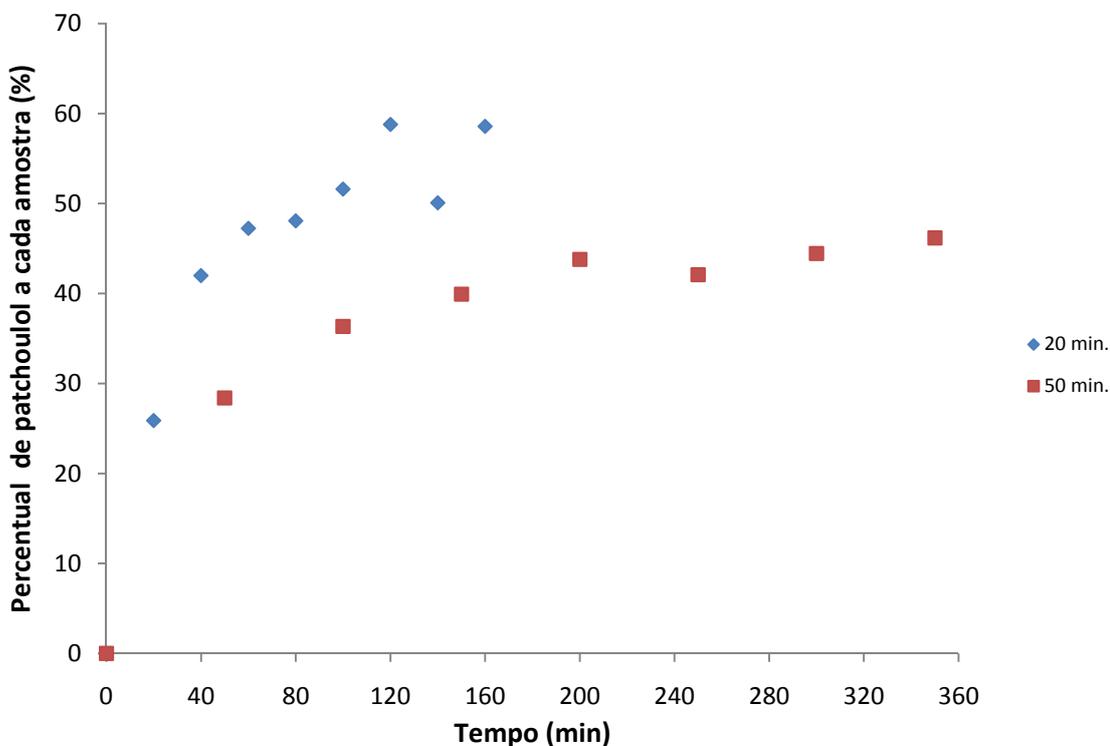
Também, nos primeiros 50 minutos de extração já se identifica os compostos *patchoulol* e  *$\alpha$ -bulneseno* em boas quantidades e semelhantes àquelas encontradas

na extração de 20 minutos de tempo estático. Porém, pode-se notar apenas pelos dados das Tabelas 9 e 10 que o  $\alpha$ -bulneseno é extraído nos primeiros minutos de extração, devido a sua polaridade. Na extração de 50 minutos de tempo estático foram identificados 24 compostos, representando um total de 94,315% da área dos picos presentes no cromatograma.

O composto  $\alpha$ -guaieno, citado em algumas referências, aparece em boas quantidades e, sem dúvida, é um composto importante na formação da nota típica do óleo essencial de patchouli, interessante para a indústria de perfumaria (DONELIAN, 2004; DEGUERRY *et al.*, 2006; HU *et al.*, 2006).

E, segundo Donelian (2004), o composto  $\alpha$ -patchouleno, responsável também pela qualidade do óleo essencial de patchouli, também aparece em quantidades significativas (cerca de 5% de área do pico).

O perfil de concentração do *patchoulol* com o tempo de extração é apresentado na Figura 24.



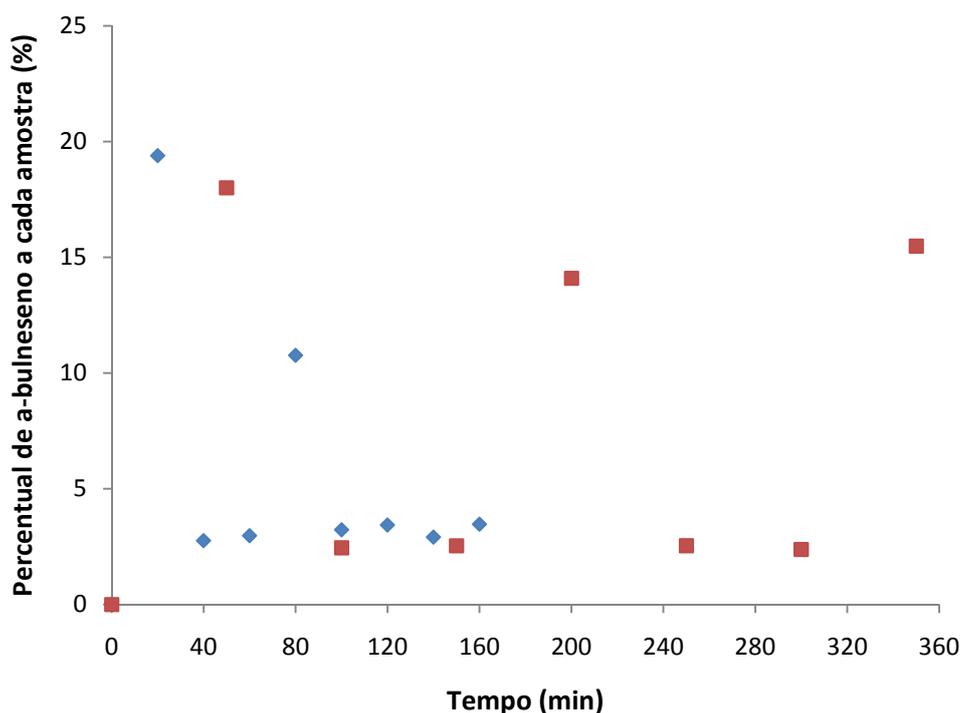
**Figura 24 – Perfil de concentração do patchoulol nas diferentes extrações analisadas**

As maiores concentrações de *patchoulol* foram encontradas na extração de 20 minutos de tempo estático. Avaliando a Figura 24, é possível saber em que tempo de extração é possível fracionar o óleo essencial de patchouli com maior concentração de *patchoulol*.

Na extração de 20 minutos de tempo estático, pode-se observar que ao final da extração, à 160 minutos, a curva do perfil de concentração do *patchoulol* ainda possui comportamento ascendente, porém deste ponto em diante, não se coletou mais óleo essencial nesta extração. As maiores concentrações deste composto foram obtidas a partir do 100º minuto, sendo o maior valor, aproximadamente, 58,5% de área do pico.

Na extração de 50 minutos de tempo estático, o perfil de concentração do *patchoulol* é mais ameno, ou seja, a curva do perfil é menos acentuada comparada àquela de 20 minutos. As maiores concentrações deste composto foram obtidas a partir do 200º minuto, sendo o maior valor, aproximadamente, 45% de área do pico.

Estes comportamentos dos perfis de concentração do patchouli indicam que, na extração de 20 minutos de tempo estático, o óleo essencial mais disponível está rico em *patchoulol*, sendo rapidamente extraído do interior das células. Porém, para a extração de 50 minutos de tempo estático isto não acontece e as maiores concentrações de *patchoulol* estão no óleo essencial menos acessível. Para extraí-lo é necessário quebrar as resistências à transferência de massa, aumentando o tempo de extração. Além disso, sendo o *patchoulol* um composto polar, este sairá ao final da extração devido a sua pouca afinidade com o dióxido de carbono.



**Figura 25 – Perfil de concentração do  $\alpha$ -bulneseno nas diferentes extrações analisadas**

De maneira semelhante, em três tempos das extrações ocorre a extração do  *$\alpha$ -bulneseno*. No início, na primeira amostra coletada de cada extração (a 20 e a 50 minutos) extrai-se os maiores valores (19,4 e 18,1%, respectivamente). Na metade do tempo de extração (à 80 minutos para a extração de 20 minutos de tempo estático; à 200 minutos para a extração de 50 minutos de tempo estático) há um pico de concentração em, aproximadamente, 12% em média. E somente no final da extração de 50 minutos de tempo estático há outro pico de concentração, cerca de 15,5% de área do pico.

Os picos de concentração do início do processo explicam-se da mesma forma que para o *patchoulol*: o óleo essencial está mais acessível e, sendo a molécula do  *$\alpha$ -bulneseno* apolar, este composto é extraído primeiro, devido à afinidade com o dióxido de carbono.

O pico do final de extração é também explicado da mesma forma que para o *patchoulol*: um óleo essencial menos acessível, evidentemente, levará mais tempo para ser extraído.

Mas para os picos intermediários, não há explicação plausível, necessitando de estudos mais aprofundados da concentração deste composto no óleo essencial de patchouli.

Assim, traçados os perfis de concentração destes dois compostos do óleo essencial de patchouli, é possível saber a que tempo e a que condição de extração estes compostos são extraídos. Dependendo do objetivo a que o óleo essencial se destinará, será possível fracionar o óleo essencial no tempo desejado, evitando gastos excessivos de solvente e de tempo de processo.

### 3.5 PARÂMETROS DA EXTRAÇÃO SUPERCRÍTICA DO ÓLEO ESSENCIAL DE PATCHOULI

Os valores dos parâmetros físicos do processo são apresentados a seguir.

#### 3.5.1 Porosidade do Leito

A porosidade do leito fixo utilizado nas extrações do óleo essencial de patchouli foi calculada segundo a equação (1), apresentada no item 2.4.1 desta dissertação.

Sendo a densidade aparente do patchouli ( $\rho_a = 0,2547 \text{ g/cm}^3$ ) calculada como descrito no item 2.4.2 desta dissertação; sendo a densidade real do patchouli ( $\rho = 0,5925 \text{ g/cm}^3$ ) adotada como descrito no item 2.4.3; a porosidade calculada do leito:

$$\varepsilon = 57\%$$

### 3.5.2 Determinação do Tamanho “Médio” de Partícula

Como descrito no item 2.4.5, os tamanhos “médio” de partículas foram determinados pela média ponderada da classificação por peneiramento, em uma série de peneiras da linha *mesh Tyler* das frações retidas nas peneiras desta linha.

Os tamanhos “médios” de partículas estudados foram:

- ✓ 0,172 mm;
- ✓ 0,346 mm;
- ✓ 0,555 mm.

## CONCLUSÃO

- i. Utilizando sempre a pressão e temperatura ótima de trabalho para esta matriz vegetal (100 bar e 32°C, respectivamente), estudaram-se quatro frentes de trabalho: *rendimento versus tempo de extração; tamanho “médio” de partícula; estação do ano versus rendimento; composição química do óleo essencial versus tempo de extração*. Todos os estudos realizados foram de extrema importância, pois eram parâmetros citados na literatura, porém nunca estudados para o patchouli;
- ii. O tempo ideal de processo, analisando tempo estático e tempo de coleta de amostras foi 20 minutos. Pois, além de se extrair o mesmo óleo essencial, esta extração mostrou ser a mais eficiente, evitando-se gastos desnecessários extraindo uma quantidade ínfima de óleo essencial a mais;
- iii. O tamanho “médio” de partícula ideal de patchouli é de 0,346 mm, extraído à vazão de 1,2 L/min. De modo que este tamanho proporcionou uma extração muito eficiente (cerca de 4,5% de rendimento) e onde houve o mínimo gasto de solvente;
- iv. A estação do ano que se mostrou ótima para a colheita e extração de patchouli foi o inverno, onde se obteve rendimentos na faixa de 6%, levando-se sempre em consideração as condições climáticas e agrônômicas a que a planta foi submetida;
- v. Os perfis de concentração dos compostos *patchoulol* e  *$\alpha$ -bulneseno* permitiram saber em que tempo de extração estes compostos são extraídos. A partir destas informações, será possível fracionar o óleo essencial de patchouli, dependendo do objetivo a que se destinará.

## SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Como sugestão para trabalhos futuros recomenda-se:

- i. O estudo mais aprofundado das épocas de colheita e o estudo de todas as estações do ano;
- ii. Estudar níveis de irrigação e adubação do patchouli obtendo-se valores de rendimento e composição química nos diferentes níveis estudados;
- iii. Realizar a modelagem matemática da extração supercrítica deste óleo essencial, atendendo a etapa de pressurização do extrator e, principalmente, levando em consideração a microestrutura celular do patchouli;
- iv. Desenvolver técnica de isolamento para os compostos de interesse, conforme demanda.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BARZEGAR, M.; DANESHFAR, A.; ASHRAF-KHORASSANI, A. Effect of parameters on supercritical fluid extraction of nitro-polynuclear aromatic hydrocarbons from sand. **Analytica Chimica Acta**. Vol. 349, p. 245-252, 1997.

BRUNNER, G. **Gas extraction: an Introduction to the Fundamentals of Supercritical Fluids and Applications to Separation Processes**. Darmstadt, Alemanha: Steinkopff, Vol. 4, 1994.

CAI, M.Q.; GUAN, Y. X.; YAO, S. J.; ZHU, Z. Q. Supercritical fluid assisted atomization introduced by hydrodynamic cavitation mixer (SAA-HCM) for micronization of levofloxacin hydrochloride. **The Journal of Supercritical Fluids**. Vol. 43, p. 524-534, 2008.

CAMPOS, L. M. A. S. **Obtenção de Extratos de Bagaço de Uva Cabernet Sauvignon (*Vitis vinifera*): Parâmetros de Processo e Modelagem Matemática**. Florianópolis, 2005, p. 123. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Santa Catarina.

CARLSON, L. H. C. **Extração de Óleo Essencial de Capim-Limão com Dióxido de Carbono a Altas Pressões - Modelagem Matemática, Ajuste de Parâmetros e Scale-up do Processo**. Florianópolis, 2000, p. 61. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Santa Catarina.

CARLSON, L. H. C. **Otimização de um Sistema de Separação da Mistura CO<sub>2</sub> Supercrítico/Limoneno com Membranas de Osmose Inversa**. Florianópolis, 2006, p. 235. Tese de Doutorado, Universidade Federal de Santa Catarina.

CARLSON, L. H. C.; MACHADO, R. A. F.; SPRICIGO, C. B.; PEREIRA, L. K.; BOLZAN, A. Extraction of lemongrass essential oil with dense carbon dioxide. **The Journal of Supercritical Fluids**. Vol. 21, p. 33-39, 2001.

CARLSON, L. H. C.; BOLZAN, A.; MACHADO, R. A. F. Separation of D-limoneno from supercritical CO<sub>2</sub> by means of membranes. **The Journal of Supercritical Fluids**. Vol. 34, p. 143-147, 2005.

DANIELSKI, L.; CAMPOS, L. M. A. S.; BRESCIANI, L. F. V.; HENSE, H.; YUNES, R. A.; FERREIRA, S. R. S. Marigold (*Calendula officinalis* L.) oleoresin: Solubility in SC-CO<sub>2</sub> and composition profile. **Chemical Engineering and Processing**. Vol. 46, p. 99-106, 2007.

DAGUERO, J.; CARDARELLI, D.; GUALA, S.; ELDER, H.; ROBAINA, E. Fractionation of *Schinus molle* L. (Aguaribay) Essential Oil with Supercritical CO<sub>2</sub> **Proceedings of V Brazilian Meeting on Supercritical Fluids**. Vol. 1, 2004.

DEGUERRY, F.; PASTORE, L.; WU, S.; CLARK, A.; CHAPPELL, J.; SCHALK, M. The diverse sesquiterpene profile of patchouli, *Pogostemon cablin*, is correlated with a limited number of sesquiterpene synthases. **Archives of Biochemistry and Biophysics**. Vol. 454, p. 123-136, 2006.

DONELIAN, A. **Extração do Óleo Essencial de Patchouli *Pogostemon cablin* (Blanco) Benth Utilizando Dióxido de Carbono Supercrítico**. Florianópolis, 2004, p. 128. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Santa Catarina.

FITZGERALD, M.; CULBERT, T.; FINKELSTEIN, M.; GREEN, M.; JOHNSON, A.; CHEN, S. The Effect of Gender and Ethnicity on Children's Attitudes and Preferences for Essential Oils: A Pilot Study. **Explore**. Vol. 3, nº 4, 2007.

GENENA, A. K. **Extração e Caracterização do Extrato de Alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.): Estudo de sua Ação Antioxidante**. Florianópolis, 2005, p. 159. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Santa Catarina.

GINTY, P. J.; WHITAKER, M. J.; SHAKESHEFF, K. M.; HOWDLE, S. M. Drug Delivery goes supercritical. **Nanotoday**. August, 2005.

GOMES, P. B.; MATA, V. G.; RODRIGUES, A. E. Production of rose geranium oil using supercritical fluid extraction. **The Journal of Supercritical Fluids**. Vol. 41, p. 50-60, 2007.

GÓMEZ, A. M.; OSSA, E. M. Quality of borage seed oil extracted by liquid and supercritical carbon dioxide. **Chemical Engineering Journal**. Vol. 88, p. 103-109, 2002.

HERRERO, M.; CIFUENTES, A.; IBAÑEZ, E. Sub- and supercritical fluid extraction of functional ingredients from different natural sources: Plants, food-by products, algae and microalgae. A review. **Food Chemistry**. Vol. 98, p. 136-148, 2006.

HOLMES, P. Patchouli, the Colors within the Darkness. **The International Journal of Aromatherapy**. Vol. 8, p. 18-22, 1997.

HSU, H. C.; YANG, W. C.; TSAI, W. J.; CHEN, C. C.; HUANG, H. Y.; TSAI, Y. C.  $\alpha$ -Bulnesene, a novel PAF receptor antagonist isolated from *Pogostemon*

*cablin*. **Biochemical and Biophysical Research Communications**. Vol. 345, p. 1033-1038, 2006.

HU, L. F.; LI, S. P.; CAO, H.; LIU, J. J.; GAO, J. L.; YANG, F. Q.; WANG, Y. T. GC-MS fingerprint of *Pogostemon cablin* in China. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**. Vol. 42, p. 200-206, 2006.

JACQUES, R. A.; SANTOS, J. G.; DARIVA, C.; OLIVEIRA, J. V.; CARAMÃO, E. B. GC/MS characterization of mate tea leaves extracts obtained from high-pressure CO<sub>2</sub> extraction. **The Journal of Supercritical Fluids**. Vol. 40, p. 354-359, 2007.

MARONGIU, B.; PIRAS, A.; PORCEDDA, S. Comparative Analysis of Supercritical CO<sub>2</sub> Extract and Oil of *Pimenta dioica* Leaves. **Journal of Essential Oil Research**. Vol. 17, p. 530-532, 2005.

MONTEIRO, A. R.; MEIRELES, M. A. A.; MARQUES, M. O. M.; PETENATE, A. J. Extraction of the soluble material from the shells of the bacuri fruits (*Platonia insignis* Mart) with pressurized CO<sub>2</sub> and other solvents. **The Journal of Supercritical Fluids**. Vol. 11, p. 91-102, 1997.

NIST – National Institute of Standards and Technology. Disponível em: [www.nist.gov](http://www.nist.gov) . Acesso em janeiro de 2008.

ÖZKAL, S. G.; YENER, M. E.; BAYMDIRH, L. Mass transfer modeling of apricot kernel oil extraction with supercritical carbon dioxide. **The Journal of Supercritical Fluids**. Vol. 35, p. 119-127, 2005.

POKRYWIECKI, J. C. **Fracionamento do Óleo Essencial de Manjeriço de Cheiro (*Ocimum basilicum*) com Membranas em Meio Supercrítico para**

**Concentração do Linalol com Reciclo do Solvente no Processo de Extração.** Florianópolis, 2006, p. 206. Tese de Doutorado, Universidade Federal de Santa Catarina.

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

REVERCHON, E; ADAMI, R. Nanomaterials and supercritical fluids. **The Journal of Supercritical Fluids.** Vol. 37, p. 1-22, 2006.

REVERCHON, E.; DE MARCO, I. Supercritical fluid extraction and fractionation of natural matter. **The Journal of Supercritical Fluids.** Vol. 38, p. 146-166, 2006.

SARMENTO, L. A. V. **Obtenção e Separação de Polifenóis de Sementes de Cacau por Extração Supercrítica Associada a Membranas.** Florianópolis, 2007, p. 91. Tese de Doutorado. Universidade Federal de Santa Catarina.

SINGH, M.; SHARMA, S.; RAMESH, S. Herbage, oil yield, and oil quality of patchouli [*Pogostemon cablin (Blanco) Benth.*] influenced by irrigation, organic mulch and nitrogen application in semi-arid tropical climate. **Industrial Crops and Products.** Vol. 16, p. 101-107, 2002.

SPRICIGO, C. B. **Utilização de uma Membrana Polimérica para a Separação de Misturas de Óleos Essenciais de Noz Moscada e Dióxido de Carbono Denso.** Florianópolis, 2002, p. 91. Tese de Doutorado. Universidade Federal de Santa Catarina.

SRIKRISHNA, A.; SATYANARAYANA, G. An enantiospecific total synthesis of (-) – patchouli alcohol. **Tetrahedron: Asymmetry**. Vol. 16, p. 3992-3997, 2005.

STEFANNI, E. **Modelagem Matemática do Processo de Extração Supercrítica de Óleo Essencial de Ho – Sho (*Cinnamomum camphora* Nees & Eberm var. *linaloolifera* Fujita) Utilizando CO<sub>2</sub>**. Florianópolis, 2003, p. 92. Tese de Doutorado. Universidade Federal de Santa Catarina.

TOM, J. W.; DEBENEDETTI, P. G.; JEROME, R. Precipitation of poly(L-lactic acid) and composite poly(L-lactic acid)-pyrene particles by rapid expansion of supercritical solutions. **The Journal of Supercritical Fluids**. Vol. 7, p. 9-29, 1994.

TSAI, Y. C.; HSU, H. C.; YANG, W. C.; TSAI, W. J.; CHEN, C. C.; WATANABE, T. a-Bulnesene, a PAF inhibitor isolated from essential oil of *Pogostemon cablin*. **Fitoterapia**. Vol. 78, p. 7-11, 2007.

del VALLE, J. M.; de la FUENTE, J.; CARDARELLI, D. A. Contribution to supercritical extraction of vegetables substrates in Latin America. **Journal of Food Engineering**. Vol. 67, p. 35-57, 2005.

YUE, B.; YANG, J.; WANG, Y.; HUANG, C. Y.; DAVE, R.; PFEFFER, R. Particle encapsulation with polymers via *in situ* polymerization in supercritical fluids. **Powder Technology**. Vol. 146, p. 32-45, 2004.

WANG, L.; WELLER, C. L. Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants. **Trends in Food Science & Technology**. Vol. 17, p. 300-312, 2006.

WIKIPEDIA – A Enciclopédia Livre. Disponível em [http://pt.wikipedia.org/wiki/%C3%93leos\\_essenciais](http://pt.wikipedia.org/wiki/%C3%93leos_essenciais) . Acesso em dezembro de 2007.

## ANEXOS

## ANEXO I – DADOS EXPERIMENTAIS

Tabela 11 – Dados experimentais da extração supercrítica de 10 minutos de tempo estático

Tempo (min)	Massa de óleo essencial acumulada (g)	Consumo de CO <sub>2</sub> (g)	Rendimento acumulado % (g óleo essencial/g patchouli)	Eficiência (g CO <sub>2</sub> / g óleo essencial)
0	0,000	0,0	0,000	0,0
10	0,951	21,6	1,900	22,7
20	1,550	43,2	3,097	27,9
30	1,752	64,8	3,501	36,0
40	1,855	86,4	3,706	46,6
50	1,906	108,0	3,808	56,7
60	1,934	129,6	3,864	67,0
70	1,955	151,2	3,906	77,3
80	1,976	172,8	3,948	87,4

Tabela 12 – Dados experimentais da extração supercrítica de 20 minutos de tempo estático

Tempo (min)	Massa de óleo essencial acumulada (g)	Consumo de CO <sub>2</sub> (g)	Rendimento acumulado % (g óleo essencial/g patchouli)	Eficiência (g CO <sub>2</sub> / g óleo essencial)
0	0,000	0,0	0,000	0,0
20	1,462	43,2	2,920	29,5
40	2,052	86,4	4,111	42,1
60	2,267	129,6	4,528	57,2

**Tabela 12 - Dados experimentais da extração supercrítica de 20 minutos de tempo estático (continuação)**

<b>Tempo (min)</b>	<b>Massa de óleo essencial acumulada (g)</b>	<b>Consumo de CO<sub>2</sub> (g)</b>	<b>Rendimento acumulado % (g óleo essencial/g patchouli)</b>	<b>Eficiência (g CO<sub>2</sub>/ g óleo essencial)</b>
80	2,411	172,8	4,816	71,7
100	2,582	216,0	5,158	83,6
120	2,657	259,2	5,308	97,5
140	2,705	302,4	5,403	111,8
160	2,727	345,6	5,447	126,7

**Tabela 13 - Dados experimentais da extração supercrítica de 30 minutos de tempo estático**

<b>Tempo (min)</b>	<b>Massa de óleo essencial acumulada (g)</b>	<b>Consumo de CO<sub>2</sub> (g)</b>	<b>Rendimento acumulado % (g óleo essencial/g patchouli)</b>	<b>Eficiência (g CO<sub>2</sub>/ g óleo essencial)</b>
0	0,000	0,0	0,000	0,0
30	1,192	64,8	2,384	54,3
60	1,989	129,6	3,977	65,2
90	2,261	194,4	4,521	86,0
120	2,395	259,2	4,789	108,2
150	2,504	324,0	5,007	129,4
180	2,550	388,8	5,099	152,5
210	2,573	453,6	5,145	176,3

**Tabela 14 - Dados experimentais da extração supercrítica de 40 minutos de tempo estático**

<b>Tempo (min)</b>	<b>Massa de óleo essencial acumulada (g)</b>	<b>Consumo de CO<sub>2</sub> (g)</b>	<b>Rendimento acumulado % (g óleo essencial/g patchouli)</b>	<b>Eficiência (g CO<sub>2</sub>/ g óleo essencial)</b>
0	0,000	0,0	0,000	0,0
40	0,806	86,4	1,612	107,2
80	1,293	172,8	2,586	133,6
120	1,414	259,2	2,828	183,3
160	1,541	345,6	3,082	224,3
200	1,614	432,0	3,228	267,7
240	1,634	518,4	3,268	317,3

**Tabela 15 - Dados experimentais da extração supercrítica de 50 minutos de tempo estático**

<b>Tempo (min)</b>	<b>Massa de óleo essencial acumulada (g)</b>	<b>Consumo de CO<sub>2</sub> (g)</b>	<b>Rendimento acumulado % (g óleo essencial/g patchouli)</b>	<b>Eficiência (g CO<sub>2</sub>/ g óleo essencial)</b>
0	0,000	0,0	0,000	0,0
50	1,169	108,0	2,338	92,4
100	1,923	216,0	3,846	112,3
150	2,209	324,0	4,418	146,7
200	2,366	432,0	4,732	182,6
250	2,447	540,0	4,894	220,7
300	2,534	648,0	5,068	255,7
350	2,581	756,0	5,162	292,9

**Tabela 16 - Dados experimentais da extração supercrítica de 60 minutos de tempo estático**

<b>Tempo (min)</b>	<b>Massa de óleo essencial acumulada (g)</b>	<b>Consumo de CO<sub>2</sub> (g)</b>	<b>Rendimento acumulado % (g óleo essencial/g patchouli)</b>	<b>Eficiência (g CO<sub>2</sub>/ g óleo essencial)</b>
0	0,000	0,0	0,000	0,0
60	0,804	129,6	1,608	161,2
120	1,369	259,2	2,738	189,6
180	1,806	388,8	3,612	215,3
240	1,932	518,4	3,864	268,3
300	2,014	648,0	4,028	321,7
360	2,113	777,6	4,226	368,0
420	2,157	907,2	4,314	420,6

**Tabela 17 – Dados experimentais das extrações supercríticas realizadas no estudo comparativo de tamanho “médio” de partícula. Partícula 0,172 mm**

<b>Tempo (min)</b>	<b>Massa de óleo essencial acumulada (g)</b>	<b>Vazão de CO<sub>2</sub> (L/min)</b>	<b>Rendimento acumulado % (g óleo essencial/g patchouli)</b>	<b>Eficiência (g CO<sub>2</sub>/ g óleo essencial)</b>
0	0,000	-	0,00	0,0
10	0,641	1,2	1,28	33,7
	1,180	3,0	2,36	45,8
20	1,157	1,2	2,31	37,3
	1,232	3,0	2,46	87,7
30	1,291	1,2	2,58	50,2
	1,436	3,0	2,87	112,8

**Tabela 17 – Dados experimentais das extrações supercríticas do estudo comparativo de tamanho “médio” de partícula. Tamanho 0,172 mm (continuação)**

<b>Tempo (min)</b>	<b>Massa de óleo essencial acumulada (g)</b>	<b>Vazão de CO<sub>2</sub> (L/min)</b>	<b>Rendimento acumulado % (g óleo essencial/g patchouli)</b>	<b>Eficiência (g CO<sub>2</sub>/ g óleo essencial)</b>
40	1,343	1,2	2,68	64,3
	1,473	3,0	2,94	146,6
60	1,419	1,2	2,84	91,3
	1,579	3,0	3,15	205,2
80	1,503	1,2	3,00	115,0
	1,622	3,0	3,24	266,3
100	1,592	1,2	3,18	135,7
	1,801	3,0	3,60	299,8
120	1,653	1,2	3,30	156,8
	1,876	3,0	3,75	345,4
140	1,674	1,2	3,35	180,6
	1,922	3,0	3,84	393,3
160	1,688	1,2	3,37	204,7
	1,994	3,0	3,98	433,3
180	1,748	1,2	3,49	222,4
	2,200	3,0	4,40	441,8
200	1,761	1,2	3,52	245,3
	2,334	3,0	4,66	462,7
220	1,765	1,2	3,53	269,2
	2,347	3,0	4,69	506,2
240	1,774	1,2	3,55	292,2
	2,419	3,0	4,83	535,8

**Tabela 18 - Dados experimentais das extrações supercríticas realizadas no estudo comparativo de tamanho “médio” de partícula. Partícula 0,346 mm**

<b>Tempo (min)</b>	<b>Massa de óleo essencial acumulada (g)</b>	<b>Vazão de CO<sub>2</sub> (L/min)</b>	<b>Rendimento acumulado % (g óleo essencial/g patchouli)</b>	<b>Eficiência (g CO<sub>2</sub>/ g óleo essencial)</b>
0	0,000	-	0,00	0,0
10	0,992	1,2	1,98	21,8
	1,221	3,0	2,44	44,2
20	1,623	1,2	3,24	26,6
	1,401	3,0	2,80	77,1
30	1,785	1,2	3,57	36,3
	1,423	3,0	2,85	113,8
40	1,857	1,2	3,71	46,5
	1,455	3,0	2,91	148,5
60	1,897	1,2	3,79	68,3
	1,530	3,0	3,06	211,8
80	1,910	1,2	3,82	90,5
	1,671	3,0	3,34	258,5
100	1,958	1,2	3,91	110,3
	1,783	3,0	3,57	302,9
120	2,006	1,2	4,01	129,2
	1,876	3,0	3,75	345,4
140	2,029	1,2	4,06	149,0
	1,967	3,0	3,93	384,3
160	2,065	1,2	4,13	167,4
	2,022	3,0	4,04	427,3
180	2,092	1,2	4,18	185,9
	2,058	3,0	4,12	472,3
200	2,119	1,2	4,24	203,9
	2,278	3,0	4,56	474,1

**Tabela 18 - Dados experimentais das extrações supercríticas realizadas no estudo comparativo de tamanho “médio” de partícula. Partícula 0,346 mm (continuação)**

Tempo (min)	Massa de óleo essencial acumulada (g)	Vazão de CO <sub>2</sub> (L/min)	Rendimento acumulado % (g óleo essencial/g patchouli)	Eficiência (g CO <sub>2</sub> / g óleo essencial)
220	2,144	1,2	4,29	221,6
	2,348	3,0	4,70	506,0
240	2,184	1,2	4,37	237,4
	2,402	3,0	4,80	539,6

**Tabela 19 - Dados experimentais das extrações supercríticas realizadas no estudo comparativo de tamanho “médio” de partícula. Partícula 0,555 mm**

Tempo (min)	Massa de óleo essencial acumulada (g)	Vazão de CO <sub>2</sub> (L/min)	Rendimento acumulado % (g óleo essencial/g patchouli)	Eficiência (g CO <sub>2</sub> / g óleo essencial)
0	0,000	-	0,00	0,0
10	0,159	1,2	0,32	135,8
	0,874	3,0	1,77	61,8
20	0,919	1,2	1,84	47,0
	1,073	3,0	2,18	100,7
30	1,042	1,2	2,08	62,2
	1,111	3,0	2,26	145,8
40	1,115	1,2	2,23	77,5
	1,121	3,0	2,28	192,7
60	1,280	1,2	2,56	101,3
	1,199	3,0	2,43	270,2
80	1,384	1,2	2,77	124,9
	1,230	3,0	2,50	351,2

**Tabela 19 - Dados experimentais das extrações supercríticas realizadas no estudo comparativo de tamanho “médio” de partícula. Partícula 0,555 mm (continuação)**

<b>Tempo (min)</b>	<b>Massa de óleo essencial acumulada (g)</b>	<b>Vazão de CO<sub>2</sub> (L/min)</b>	<b>Rendimento acumulado % (g óleo essencial/g patchouli)</b>	<b>Eficiência (g CO<sub>2</sub>/ g óleo essencial)</b>
100	1,471	1,2	2,94	146,8
	1,301	3,0	2,64	415,1
120	1,520	1,2	3,04	170,5
	1,427	3,0	2,90	454,1
140	1,564	1,2	3,13	193,4
	1,500	3,0	3,05	504,0
160	1,583	1,2	3,13	218,3
	1,575	3,0	3,20	548,6
180	1,637	1,2	3,27	237,5
	1,655	3,0	3,36	587,3
200	1,655	1,2	3,31	261,0
	1,666	3,0	3,38	648,3
220	1,668	1,2	3,34	284,9
	1,745	3,0	3,54	680,8
240	1,679	1,2	3,36	308,8
	1,788	3,0	3,63	724,8

**Tabela 20 – Dados experimentais das extrações supercríticas realizadas para avaliação da influência da época de colheita**

Tempo (min)	Época de Colheita	Massa de óleo essencial acumulada (g)	Rendimento acumulado % (g de óleo essencial/g de patchouli)
0	-	0,000	0,00
60	Setembro/2006	0,214	0,39
	Abril/2007	0,757	1,51
	Maió/2007	0,423	0,85
	Julho/2007	1,076	2,13
90	Setembro/2006	0,745	1,35
	Abril/2007	1,526	3,05
	Maió/2007	0,804	1,61
	Julho/2007	1,884	3,73
120	Setembro/2006	1,022	1,86
	Abril/2007	1,930	3,86
	Maió/2007	1,127	2,25
	Julho/2007	2,152	4,26
150	Setembro/2006	1,185	2,15
	Abril/2007	2,109	4,22
	Maió/2007	1,369	2,74
	Julho/2007	2,348	4,65
180	Setembro/2006	1,240	2,25
	Abril/2007	2,212	4,42
	Maió/2007	1,709	3,42
	Julho/2007	2,544	5,04
210	Setembro/2006	1,315	2,39
	Abril/2007	2,284	4,57
	Maió/2007	1,806	3,61
	Julho/2007	2,646	5,24
240	Setembro/2006	1,315	2,39
	Abril/2007	2,353	4,71
	Maió/2007	1,917	3,83
	Julho/2007	2,742	5,43
270	Setembro/2006	1,478	2,69
	Abril/2007	2,416	4,83
	Maió/2007	1,932	3,86
	Julho/2007	2,780	5,50

**Tabela 20 - Dados experimentais das extrações supercríticas realizadas para avaliação da influência da época de colheita (continuação)**

<b>Tempo (min)</b>	<b>Época de Colheita</b>	<b>Massa de óleo essencial acumulada (g)</b>	<b>Rendimento acumulado % (g de óleo essencial/g de patchouli)</b>
300	Setembro/2006	1,541	2,80
	Abril/2007	2,449	4,90
	Maiο/2007	1,989	3,98
	Julho/2007	2,809	5,56
330	Setembro/2006	1,597	2,90
	Abril/2007	2,478	4,96
	Maiο/2007	2,014	4,03
	Julho/2007	2,838	5,62
360	Setembro/2006	1,653	3,01
	Abril/2007	2,507	5,01
	Maiο/2007	2,092	4,18
	Julho/2007	2,921	5,78
390	Setembro/2006	1,695	3,08
	Abril/2007	2,519	5,04
	Maiο/2007	2,113	4,23
	Julho/2007	2,975	5,89
420	Setembro/2006	1,724	3,13
	Abril/2007	2,530	5,06
	Maiο/2007	2,149	4,30
	Julho/2007	3,000	5,94

## ANEXO II – RELATÓRIO DE ANÁLISES CROMATOGRÁFICAS


**LABORATÓRIO DE CROMATOGRAFIA**  
**RELATÓRIO DE ENSAIO**


DQ-137 Revisão: 04 Data: 06/02/2007

Relatório de Ensaio Nº : **66696**

Página 2 de 61

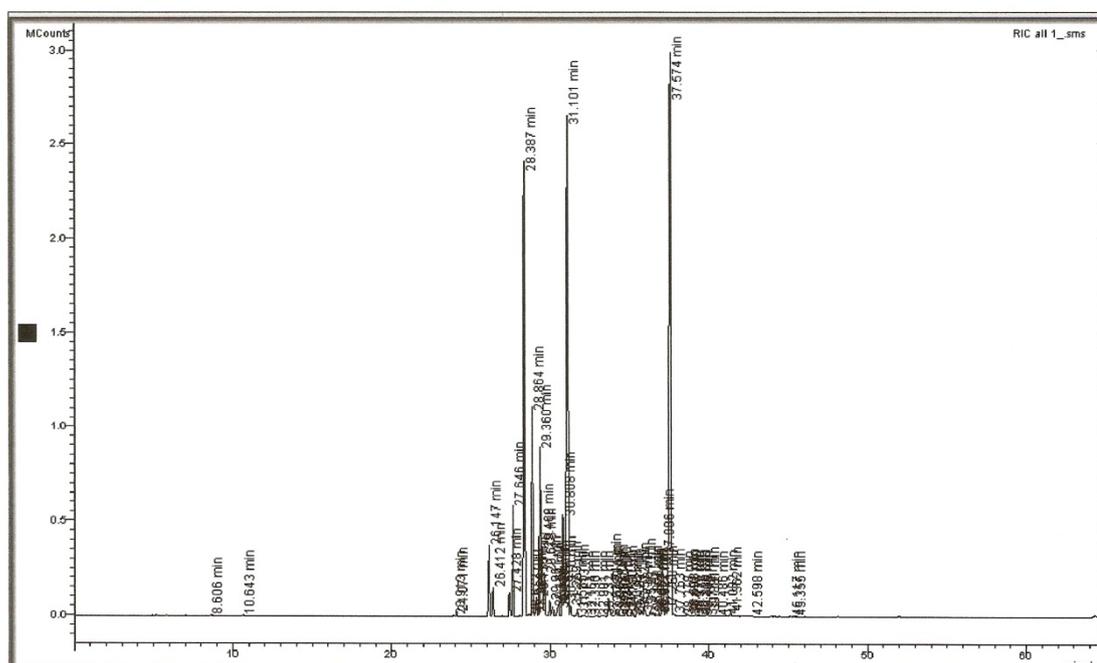
**4. RESULTADOS**
**4.1 Determinação da composição por Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas**  
**Amostra 66696-1**


Fig. 1. Cromatograma para a amostra 66696-1.

Tabela 1. Dados do cromatograma da amostra 66696-1.

Picos	Tempo de Retenção (min)	Área	%
1	8.606	14755	0.023
2	10.643	10447	0.016
3	23.913	13706	0.021
4	24.071	82528	0.127
5	26.147	1437084	2.206
6	26.412	538562	0.827
7	27.428	453386	0.696
8	27.646	2255372	3.462
9	28.387	11341537	17.408

10	28.672	45756	0.070
11	28.864	4610592	7.077
12	28.969	11912	0.018
13	29.135	390971	0.600
14	29.360	3511763	5.390
15	29.469	1268767	1.947
16	29.618	1019906	1.565
17	29.961	329115	0.505
18	30.164	244928	0.376
19	30.439	119127	0.183
20	30.504	253455	0.389
21	30.808	2355140	3.615





## LABORATÓRIO DE CROMATOGRAFIA RELATÓRIO DE ENSAIO



DQ-137 Revisão: 04 Data: 06/02/2007

Relatório de Ensaio Nº : **66696**

Página 3 de 61

22	30.910	323676	0.497
23	31.101	12635535	19.394
24	31.259	165574	0.254
25	31.585	10021	0.015
26	31.713	131247	0.201
27	32.154	17281	0.027
28	32.390	14758	0.023
29	32.901	25114	0.039
30	33.232	29546	0.045
31	33.711	408609	0.627
32	33.789	101168	0.155
33	33.962	23785	0.037
34	34.138	153095	0.235
35	34.307	104231	0.160
36	34.391	13125	0.020
37	34.479	23209	0.036
38	34.780	149301	0.229
39	35.038	27265	0.042
40	35.192	84868	0.130
41	35.522	309658	0.475
42	35.736	149318	0.229
43	35.917	409432	0.628
44	36.323	163870	0.252
45	36.454	100540	0.154

46	36.567	71430	0.110
47	36.672	31543	0.048
48	36.821	59372	0.091
49	37.086	1453297	2.231
50	37.260	93449	0.143
51	37.574	16869062	25.892
52	37.763	67445	0.104
53	38.278	22692	0.035
54	38.608	55365	0.085
55	38.691	49831	0.076
56	38.975	24538	0.038
57	39.176	37242	0.057
58	39.336	61624	0.095
59	39.486	12541	0.019
60	39.774	12977	0.020
61	39.881	129465	0.199
62	40.486	17312	0.027
63	41.082	39750	0.061
64	41.362	113499	0.174
65	42.598	11195	0.017
66	45.117	12025	0.018
67	45.355	23852	0.037

Amostra 66696-7

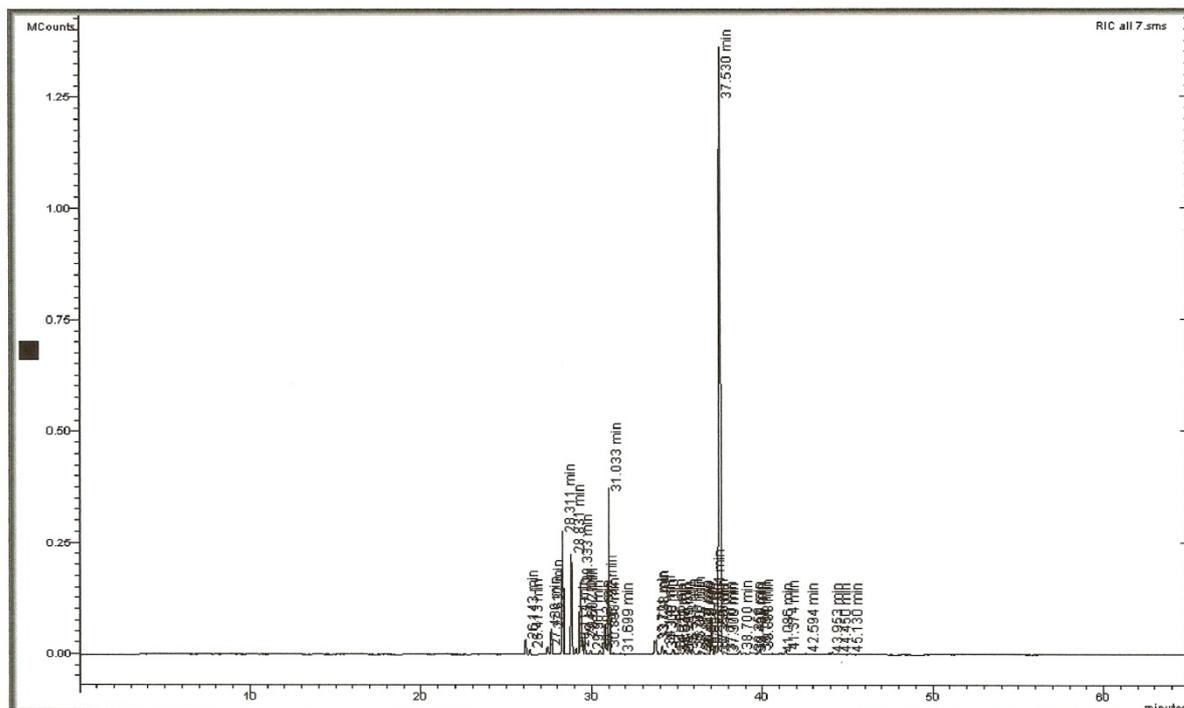


Fig. 5. Cromatograma para a amostra 66696-7.

Tabela 2. Dados do cromatograma da amostra 66696-7.

Picos	Tempo de Retenção (min)	Área	%
1	26.143	119172	0.924
2	26.413	38879	0.301
3	27.430	71556	0.555
4	27.632	204556	1.585
5	28.311	1072174	8.309
6	28.831	898494	6.963
7	29.114	50440	0.391
8	29.333	631326	4.892
9	29.447	124316	0.963
10	29.602	154194	1.195
11	29.961	27941	0.217
12	30.503	37122	0.288

13	30.792	241384	1.871
14	30.898	56116	0.435
15	31.033	1388849	10.763
16	31.699	19322	0.150
17	33.721	126539	0.981
18	33.798	135475	1.050
19	34.147	97540	0.756
20	34.308	45407	0.352
21	34.785	50883	0.394
22	34.921	10903	0.084
23	35.038	17955	0.139
24	35.209	29991	0.232
25	35.518	82685	0.641
26	35.748	61301	0.475

**INSTITUTO DE PESQUISAS TECNOLÓGICAS DE BLUMENAU**

 Rua São Paulo, 3250 – Itoupava Seca - CEP 89030-000 - Blumenau SC - Fone: (47) 221-6082 - Fax: (47) 221-6001  
 C.N.P.J.: 82.662.958/0001.02 - Inscrição Estadual: 250.974.665 – [www.iptb.furb.br](http://www.iptb.furb.br) - [iptb@furb.br](mailto:iptb@furb.br)


Amostra 66696-17

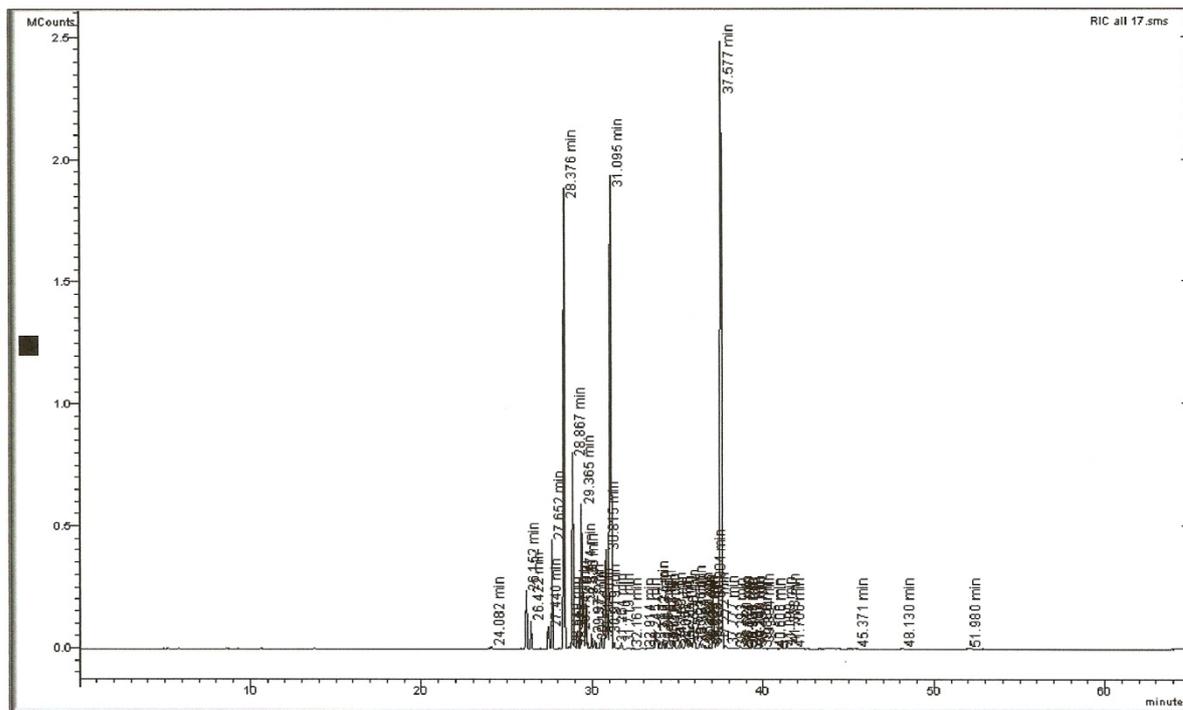


Fig. 6. Cromatograma para a amostra 66696-17.

Tabela 3. Dados do cromatograma da amostra 66696-17.

Picos	Tempo de Retenção (min)	Área	%
1	24.082	30294	0.064
2	26.152	982278	2.067
3	26.422	413960	0.871
4	27.440	325828	0.686
5	27.652	1600988	3.368
6	28.376	8084295	17.009
7	28.640	12801	0.027
8	28.670	19679	0.041
9	28.867	3201313	6.736
10	28.976	11246	0.024
11	29.142	296755	0.624
12	29.365	2407916	5.066
13	29.474	866646	1.823
14	29.626	768309	1.617
15	29.972	221143	0.465
16	30.177	155478	0.327
17	30.514	268324	0.565
18	30.815	1644421	3.460
19	30.919	250417	0.527
20	31.095	8558575	18.007
21	31.264	65450	0.138
22	31.719	80093	0.169
23	32.161	11800	0.025
24	32.914	20653	0.043
25	33.245	20162	0.042
26	33.727	329512	0.693



## LABORATÓRIO DE CROMATOGRAFIA RELATÓRIO DE ENSAIO



DQ-137 Revisão: 04 Data: 06/02/2007

Relatório de Ensaio Nº : **66696**

Página 27 de 61

27	33.803	127512	0.268
28	33.980	14752	0.031
29	34.152	152192	0.320
30	34.319	90170	0.190
31	34.416	13729	0.029
32	34.789	108950	0.229
33	35.052	25428	0.054
34	35.206	66947	0.141
35	35.536	253660	0.534
36	35.755	135988	0.286
37	35.926	245426	0.516
38	35.997	88833	0.187
39	36.329	127367	0.268
40	36.459	81785	0.172
41	36.580	43930	0.092
42	36.683	20680	0.044
43	36.829	41602	0.088
44	37.084	924011	1.944
45	37.272	140764	0.296
46	37.577	13498269	28.400
47	37.777	68251	0.144
48	38.293	21452	0.045
49	38.620	40729	0.086
50	38.711	38705	0.081
51	38.909	13611	0.029
52	38.995	12526	0.026
53	39.191	41237	0.087
54	39.349	64949	0.137
55	39.496	24247	0.051
56	39.800	15693	0.033
57	39.894	87911	0.185
58	40.503	18077	0.038
59	40.606	10598	0.022
60	41.099	41399	0.087
61	41.378	102483	0.216
62	41.706	22265	0.047
63	45.371	12554	0.026
64	48.130	23702	0.050
65	51.980	17822	0.037

**INSTITUTO DE PESQUISAS TECNOLÓGICAS DE BLUMENAU**  
Rua São Paulo, 3250 – Itoupava Seca - CEP 89030-000 - Blumenau SC - Fone: (47) 221-6082 - Fax: (47) 221-6001  
C.N.P.J.: 82.662.958/0001.02 - Inscrição Estadual: 250.974.665 – [www.iptb.furb.br](http://www.iptb.furb.br) - [iptb@furb.br](mailto:iptb@furb.br)



Amostra 66696-23

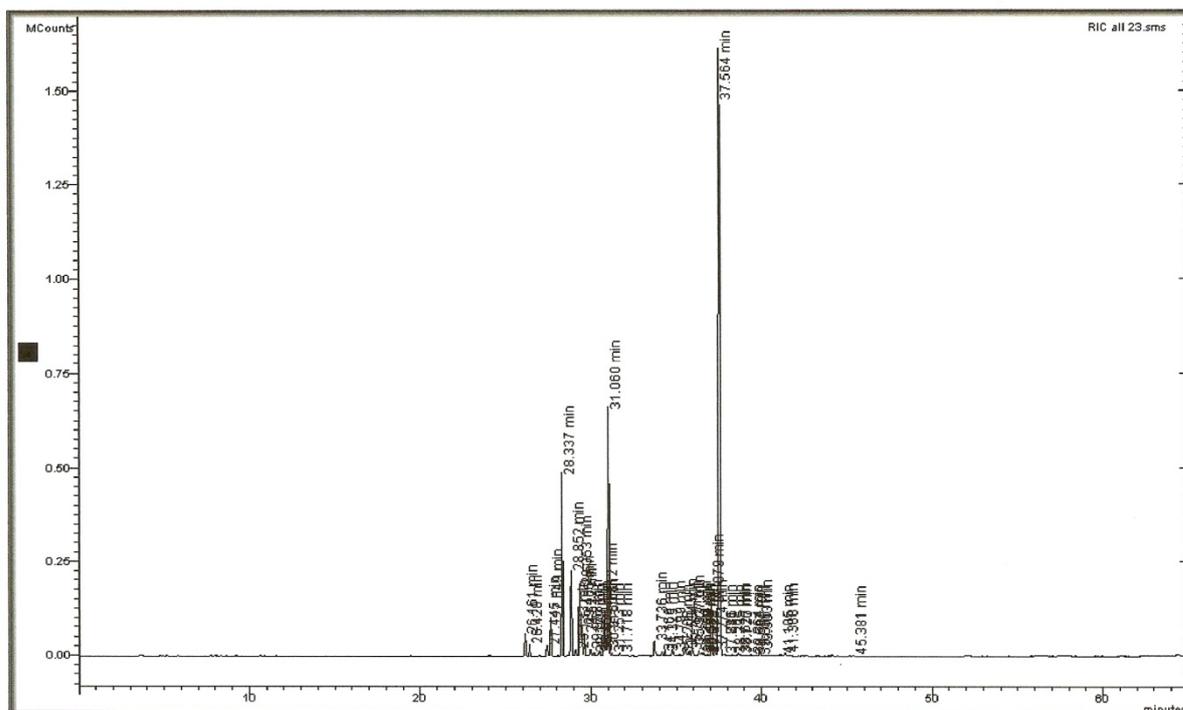


Fig. 7. Cromatograma para a amostra 66696-23.

Tabela 4. Dados do cromatograma da amostra 66696-23.

Picos	Tempo de Retenção (min)	Área	%
1	26.161	221715	1.221
2	26.428	114917	0.633
3	27.445	99461	0.548
4	27.649	374208	2.060
5	28.337	1840131	10.130
6	28.852	967821	5.328
7	29.133	72109	0.397
8	29.353	780334	4.296
9	29.466	296253	1.631
10	29.622	234973	1.294
11	29.978	72386	0.398
12	30.179	44439	0.245

13	30.460	24210	0.133
14	30.520	50741	0.279
15	30.812	454281	2.501
16	30.916	71869	0.396
17	31.060	2560783	14.097
18	31.253	23548	0.130
19	31.718	32492	0.179
20	33.736	198109	1.091
21	34.165	41700	0.230
22	34.325	46290	0.255
23	34.799	49809	0.274
24	35.208	23555	0.130
25	35.534	137592	0.757
26	35.765	74834	0.412

**INSTITUTO DE PESQUISAS TECNOLÓGICAS DE BLUMENAU**

 Rua São Paulo, 3250 – Itoupava Seca - CEP 89030-000 - Blumenau SC - Fone: (47) 221-6082 - Fax: (47) 221-6001  
 C.N.P.J.: 82.662.958/0001.02 - Inscrição Estadual: 250.974.665 – [www.iptb.furb.br](http://www.iptb.furb.br) - [iptb@furb.br](mailto:iptb@furb.br)




## LABORATÓRIO DE CROMATOGRAFIA RELATÓRIO DE ENSAIO



DQ-137 Revisão: 04 Data: 06/02/2007

Relatório de Ensaio Nº : **66696**

Página 29 de 61

27	35.927	155373	0.855
28	36.334	68012	0.374
29	36.458	39157	0.216
30	36.584	28731	0.158
31	36.685	14469	0.080
32	36.828	23335	0.128
33	37.079	555649	3.059
34	37.274	98795	0.544
35	37.564	7955506	43.796
36	37.786	19234	0.106
37	37.841	19523	0.107
38	38.295	13903	0.077
39	38.627	32875	0.181
40	38.720	24628	0.136
41	39.364	18270	0.101
42	39.507	10384	0.057
43	39.806	10770	0.059
44	39.903	86477	0.476
45	41.105	26096	0.144
46	41.388	44222	0.243
47	45.381	11050	0.061

Amostra 66696-23

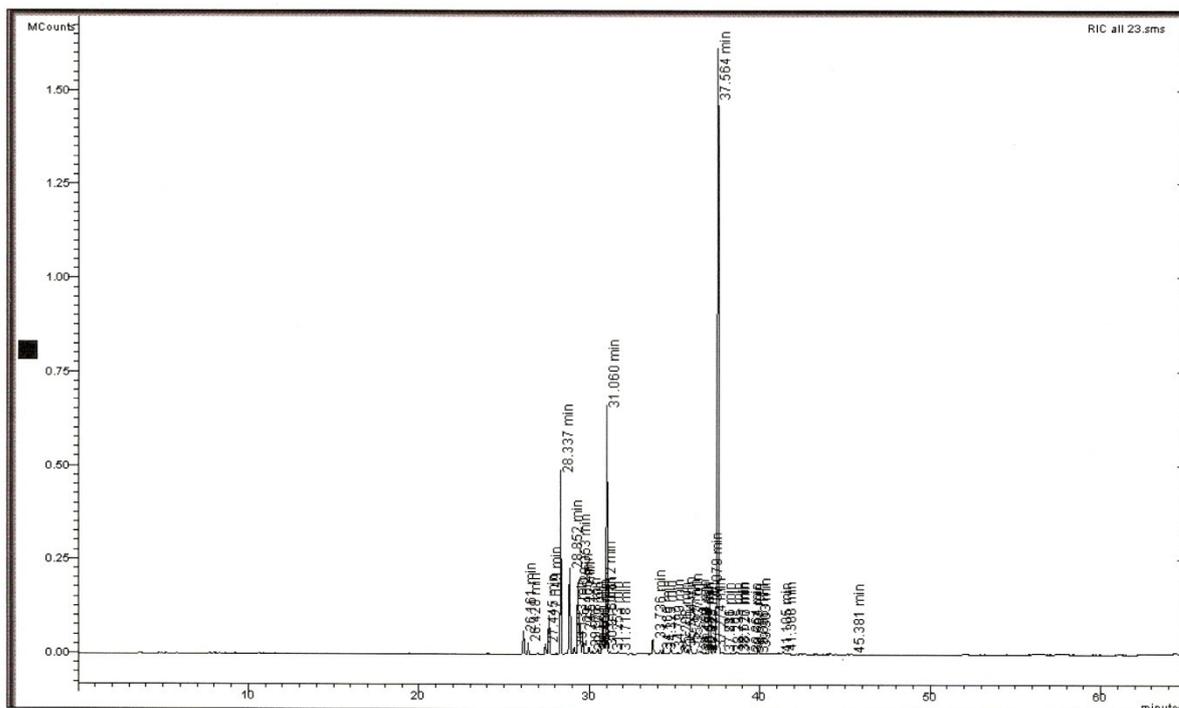


Fig. 7. Cromatograma para a amostra 66696-23.

Tabela 4. Dados do cromatograma da amostra 66696-23.

Picos	Tempo de Retenção (min)	Área	%
1	26.161	221715	1.221
2	26.428	114917	0.633
3	27.445	99461	0.548
4	27.649	374208	2.060
5	28.337	1840131	10.130
6	28.852	967821	5.328
7	29.133	72109	0.397
8	29.353	780334	4.296
9	29.466	296253	1.631
10	29.622	234973	1.294
11	29.978	72386	0.398
12	30.179	44439	0.245

13	30.460	24210	0.133
14	30.520	50741	0.279
15	30.812	454281	2.501
16	30.916	71869	0.396
17	31.060	2560783	14.097
18	31.253	23548	0.130
19	31.718	32492	0.179
20	33.736	198109	1.091
21	34.165	41700	0.230
22	34.325	46290	0.255
23	34.799	49809	0.274
24	35.208	23555	0.130
25	35.534	137592	0.757
26	35.765	74834	0.412



**LABORATÓRIO DE CROMATOGRAFIA**  
**RELATÓRIO DE ENSAIO**



DQ-137 Revisão: 04 Data: 06/02/2007

Relatório de Ensaio N° : **66696**

Página 29 de 61

27	35.927	155373	0.855
28	36.334	68012	0.374
29	36.458	39157	0.216
30	36.584	28731	0.158
31	36.685	14469	0.080
32	36.828	23335	0.128
33	37.079	555649	3.059
34	37.274	98795	0.544
35	37.564	7955506	43.796
36	37.786	19234	0.106
37	37.841	19523	0.107
38	38.295	13903	0.077
39	38.627	32875	0.181
40	38.720	24628	0.136
41	39.364	18270	0.101
42	39.507	10384	0.057
43	39.806	10770	0.059
44	39.903	86477	0.476
45	41.105	26096	0.144
46	41.388	44222	0.243
47	45.381	11050	0.061

Amostra 66696-30

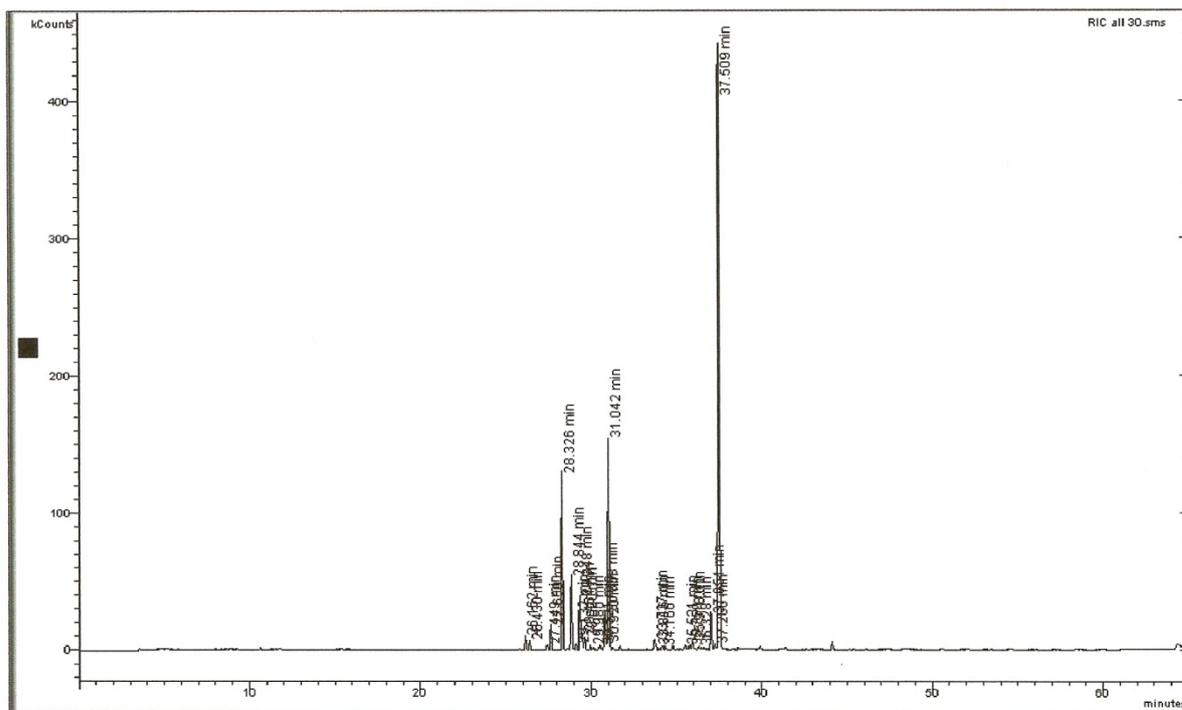


Fig. 8. Cromatograma para a amostra 66696-30.

Tabela 5. Dados do cromatograma da amostra 66696-30.

Picos	Tempo de Retenção (min)	Área	%
1	26.16	36379	0.932
2	26.43	23580	0.604
3	27.45	13220	0.339
4	27.65	69518	1.780
5	28.33	457883	11.725
6	28.84	219846	5.630
7	29.13	16505	0.423
8	29.35	147818	3.785
9	29.46	51401	1.316
10	29.62	40474	1.036
11	29.98	11684	0.299
12	30.52	13930	0.357

13	30.81	110960	2.841
14	30.92	17096	0.438
15	31.04	604556	15.481
16	33.74	35469	0.908
17	33.82	12321	0.316
18	34.17	11710	0.300
19	35.53	19822	0.508
20	35.76	18704	0.479
21	35.92	35062	0.898
22	36.33	12598	0.323
23	37.05	103778	2.658
24	37.27	17951	0.460
25	37.51	1802826	46.166

## ANEXO III – PUBLICAÇÕES RESULTANTES DESTA DISSERTAÇÃO

**Artigo Completo Submetido**

ARAUJO, A. C.; BOLZAN, A.; MACHADO, R. A. F.; MARANGONI, A. Patchouli [*Pogostemon cablin* (Blanco) Benth.] Essential Oil: SFE Yield and Harvest Seasons. **11th European Meeting on Supercritical Fluids, 2008.**

**PATCHOULI [*Pogostemon cablin* (Blanco) Benth.] ESSENTIAL OIL: SFE YIELD AND HARVEST SEASONS**

A.C. Araujo<sup>1\*</sup>, A. Marangoni, A. Bolzan, R.A.F Machado.

<sup>1</sup>*Federal University of Santa Catarina (UFSC) – Technology Center*

*Chemical and Food Engineering Department (EQA)*

*Campus Trindade – 88010-970 – Florianópolis-SC-Brasil*

*Phone/Fax: +55 (48) 3721-9554*

*alex@enq.ufsc.br*

The Supercritical Fluid Extraction (SFE) of Patchouli [*Pogostemon cablin* (Blanco) Benth.] essential oil has been studied. In this paper, the effects of harvest seasons about SFE yield were investigated. Patchouli is a tropical perennial herb that originates in Southeast Asia, but now grows mainly in Malaysia, Indonesia, India, Brazil and others. Patchouli oil is a viscous, pale to dark amber brown coloured liquid and is extensively used in perfumery. Its main components are sesquiterpenes (40-45%), sesquiterpenoid alcohols (30-35%) and others [3]. The patchouli leaves (raw material) was collected always in first hours of sunny days. Immediately, it was taken to the Process Control Laboratory, at EQA/UFSC, where it was dried at 30°C and 120 h. Then, the raw material was fractioned in a grounder and it was classified in a sieve shaker. One fixed bed extractor (length 50.0 cm, inner diameter 2.1 cm) was packed manually with 50g, approximately. The SFE was carried out at 100 bar and 32°C by 7 hours, with one hour of static period. The solvent used was CO<sub>2</sub> supercritical fluid. These conditions were performed according [1]. The results were analysed in terms of yield (g essential oil/g patchouli), varying the raw material harvest seasons (winter 2006 and 2007, fall 2007). The yield values of SFE carried out were in 2006 winter (3.13%), in 2007 winter (5.94%) and 2007 fall (5.06%). Mass transfer by diffusion of CO<sub>2</sub> on patchouli is a slowly step and govern the first minutes of process. The amount of patchouli and its pack inside extractor control the time of extraction and the diffusion. However, information on the influence time of photo-period and harvest seasons are important to evaluate the process and its yield [2]. The composition of patchouli essential oil was analyzed using GC-MS and FID systems which showed the presence of main components (sesquiterpenes and sesquiterpenoid alcohols).

## INTRODUCTION

Patchouli [*Pogostemon cablin* (Blanco) Benth.] is a kind of the family *Lamiaceae* or lip-flower (mint). The plant is a tropical perennial herb which originated in Southeast Asia and now grows mainly in Malaysia, Indonesia, Philippines, China, India, Seychelles and Brazil. Its oil is a viscous, pale to dark amber brown coloured liquid and is extensively used in perfumery, being its main components sesquiterpenes and sesquiterpenoid alcohols. It is used as a stimulant, relaxing, digestive, respiratory, nervous system, spleen, stomach, is not irritating and is not toxic [3].

The carbon dioxide is one of the most fluids used in supercritical extraction. It is not toxic and not flammable solvent. Used up moderate temperatures, allow extracting essential oils most noble and pure, compared to other methods of extraction, such as with organic solvents.

The extraction of one or more families of compounds of a natural matrix is the application most frequently requested and studied in cases of separation with supercritical fluids (SCF). The basic scheme of extraction consists of a pressure vessel loaded with the raw material to be extracted. Generally, the material is initially dried and grinded, in order to facilitate the process of extraction. It is loaded in a basket located within the extractor that allows rapid charge and discharge. The SCF flows through of the extractor outlet by a depressurization valve in which, due to the low pressure, the extracts are released in the gaseous medium and collected [4].

The distribution of rainfall and photo-period throughout the year helps in the development of the plant, so that each season of the year has been different compositions of the same essential oil. The influence of irrigation, organic fertilization and nitrogen levels applied to the plant on the yield of extraction of the oil (steam distillation) and the quantity of plants produced. Obtained significant increases in all variables studied (30, 82 and 128%, respectively), increasing also in the plants evaluated with differences in a year [2].

The diffusion of supercritical CO<sub>2</sub> in patchouli governs the first step of the process. It is a very slow step, being influenced by the amount of raw material and for its compaction inside the pressure vessel.

The objective of this study was to compare the yields of the supercritical extraction of patchouli essential oil and analyze the composition of oils obtained in two different seasons of the year: fall and winter. The results were analyzed by gas chromatography coupled to mass spectrometry (GC-MS) and by flame ionization detector (FID).

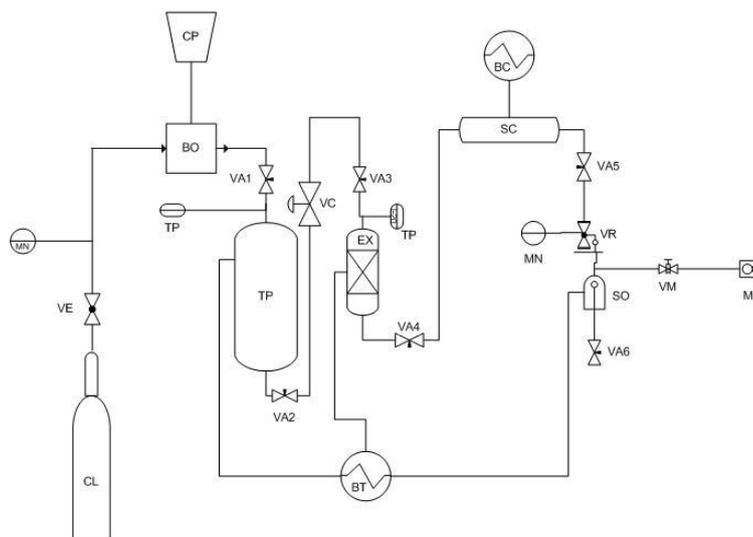
## **MATERIAL AND METHODS**

### **Plant material**

Tests were performed using dried leaves of patchouli, cultivated in Brazil and collected in 2006 september and 2006/2007 july (fall and winter). The raw material was dried at room temperature (approximately 20°C) and protected from direct light. The particle diameter for dried leaves, after size reduction, was estimated by using sieves and the mean diameter found was 0.555 mm. The moisture content was about 10% by weight on dry basis.

### **Supercritical extraction apparatus and procedure**

Fifty grams of the dried leaves were packed in a extractor of high-pressure, flow-up stream extraction apparatus. It is schematically shown in Figure 1. The extraction experiments were performed in a tubular fixed bed 0,175 L of capacity. Carbone dioxide was used as supercritical solvent. Extractions were carried out 32°C, at pressures of 10 MPa. Flow rate of supercritical CO<sub>2</sub> was 1.2 L min<sup>-1</sup> and extraction time for all experiments was 420 min with 60 minutes of static period. The solvent flows through a jacket vessel with controlled temperature. A back-pressure valve regulator adjusted the pressure in the extractor measured by a pressure transducer.



**Figure 1** – Pilot plant, schematic drawing. CL- CO<sub>2</sub> tank; CP-pump; BO- booster; TP-CO<sub>2</sub> tank; EX- extractor; SO- oil separator; SC- wax separator; VC- control valve; VR- back pressure valve; VA- needle valves; VE- ball valve; VM- regulation valve; MF- flow meter; BT-heat exchanger (hot water); BC- heat exchanger (cold water); TP- flow rate measurement; MN- manometer.

### Chemical analysis

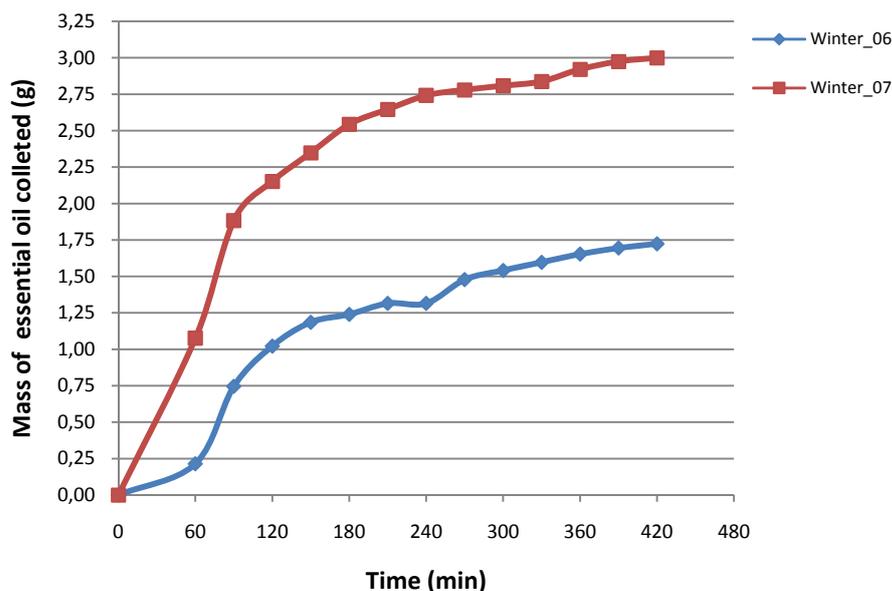
The extracts were analyzed by gas chromatography-mass spectrometry (CG-MS) and flame ionization detector (FID). The identification was performed comparing their time retentions by Kovatz indexes with those of authentic compounds and from database collected from literature.

### RESULTS AND DISCUSSION

We studied two seasons of the year: fall and winter. The extractions performed in the winter had an interval of one year and those performed in the fall in the same year.

The objective of this study is to assess the difference in yield of extractions performed between the different seasons, taking into account the rainfall and solar intensity, and in the same way, comparing different seasons of the year.

Figure 2 shows the yield of supercritical extractions of essential oil of patchouli for plants harvested in the winter, with a year of difference.

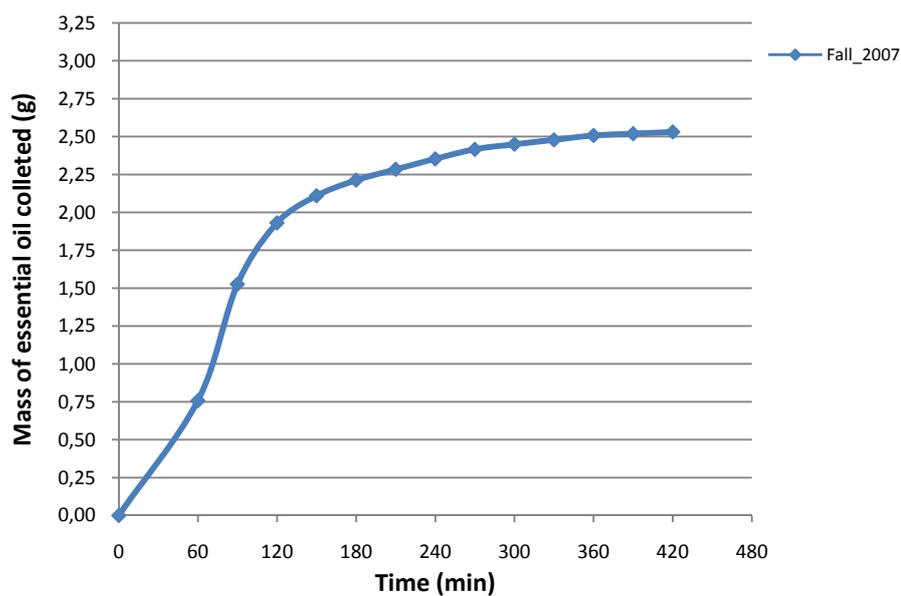


**Figure 2 – Extraction curves for plants collected in winter.**

The extraction regarding plants harvested in the 2007 winter produced the highest yield of process (5.94%, against 3.13% of the plants harvested in the 2006 winter). The plants began to receive irrigation at the end of 2006. In 2007 summer there was intense presence of sun and good distribution of rainfall, that can be one of indicatives for the yield increase.

The harvest period should be considered and, additionally, the distribution of rainfall and photo-period throughout the year helps in the development of the plant. The growth of patchouli is suppressed when there is lack of moisture for the plant, which leads to decrease the amount of essential oil to be extracted [2].

Extractions were performed with plants harvested in the fall, as shown in Figure 3.

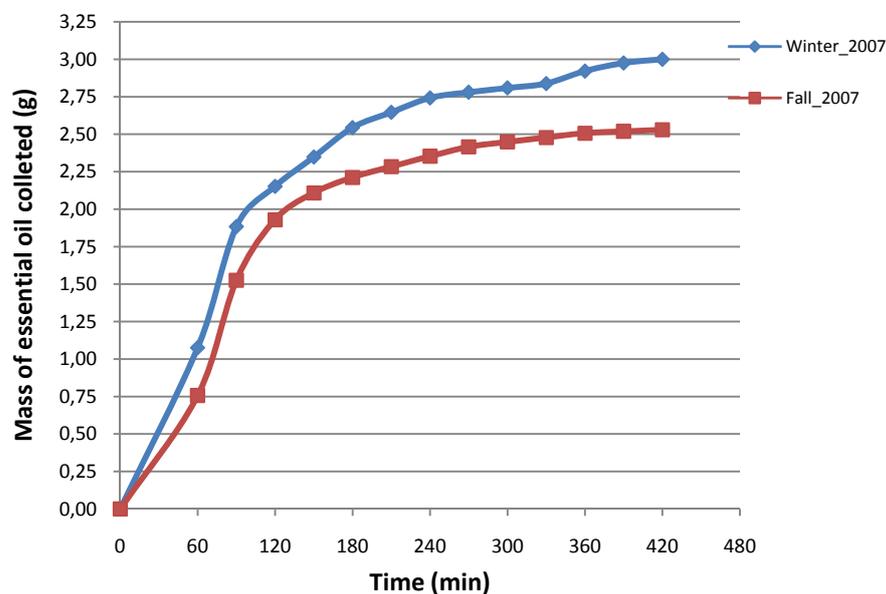


**Figure3 – Extraction curves for plants collected in fall 2007.**

The extraction performed with plants collected in 2007 april obtained a high yield (5.06%). The level of irrigation depends on the amount of rain and sun period at the time of harvest, because a period

of drought induces the use of irrigation to keep the quality of the plants. Other climate conditions can be affect the plant growth like the day length and maximal and minimum temperature.

A comparison of extractions carried out in winter and 2007 fall is showed in Figure 4.



**Figure 4** – Comparison between extractions carried out in fall and winter 2007

Can be observed that winter is the optimal season to harvest and extract the patchouli essential oil. Because the climate conditions said previously and other parameters of process like size particle that need more studies. However, the curves behaviour is similar due Brazil climate.

Table 1 outlines a comparison between the seasons studied in terms of yield of the process.

**Table 1 - Comparisons data between the crops in different seasons.**

Season	Crop Date	Yield % (g essential oil/ g patchouli)
Winter	2006, September	3,13
Fall	2007, April	5,06
Winter	2007, July	5,94

GC-MS and FID analyses showed the presence of the main components responsible for the characteristic note of the essential oil of patchouli. *Patchoulol*,  *$\alpha$ -bulnesene*,  *$\alpha$ -patchoulene*,  *$\alpha$ -guaiene* appeared in both the seasons studied. Tables 2 and 3 show the amount and the time of retention of key compounds in the different seasons of the year studied.

**Table 2 – Key compounds of extraction carried out in 2007 winter.**

Peak	Retention time (min)	Compound	Percentage %
1	28,376	<i>α-guaiene</i>	17,009
2	29,365	<i>α-patchoulene</i>	5,066
3	31,095	<i>α-bulnesene</i>	18,007
4	37,577	<i>patchoulol</i>	28,400

**Table 3 – Key compounds of extraction carried out in 2007 fall.**

Peak	Retention time (min)	Compound	Percentage %
1	28,387	<i>α-guaiene</i>	17,408
2	29,360	<i>α-patchoulene</i>	5,390
3	31,101	<i>α-bulnesene</i>	19,394
4	37,574	<i>patchoulol</i>	25,892

Together with other components of the essential oil of patchouli, these compounds form the synergy of essential oil, giving it its characteristic scent. Analyses showed some similarity between the chemical composition of essential oils, but with differences in amount, which justifies the work of [2].

### CONCLUSION

The time of the year in which they extract the greatest amount of essential oil of patchouli is in the winter, with so climatic factors involved. However, further study on the levels of irrigation, condition of the plants exposure to the sun and other agronomic aspects are necessary. But, since Brazil a tropical country, there are no significant differences about the seasons, representing a good place to cultivate these plants and others.

The profiles of concentration of essential oils of patchouli analyzed showed significant data to know the ideal time of year to harvest the plants and extract the essential oil, indicating a change in the amount of each compound. The supercritical fluid extraction permits to extract the key compounds from raw material by the modulation of pressure and temperature. It is good to isolation of some compounds like the *α-bulnesene*, important inhibitor on platelet-activating factor (PAF), combating diseases such as arteriosclerosis and thrombosis [5]. With the data harvest and a study about the ideal extraction time, the SFE will can be a technique of fractionation of which compound.

### REFERENCES

- [1] DONELIAN, A. MS Thesis, Federal University of Santa Catarina –SC–Brazil, **2004**, p. 128.
- [2] SINGH, M., SHARMA, S., RAMESH, S., Industrial Crops and Products, **2002**, Vol. 16, p. 101.
- [3] HOLMES, P., The International Journal of Aromatherapy, **1997**, Vol. 8, p. 18.
- [4] REVERCHON, E., DE MARCO, I., The Journal of Supercritical Fluids, Vol. 38, **2006**, p.146.
- [5] HSU, H. C., YANG, W. C., TSAI, W. J., CHEN, C. C., HUANG, H. Y., TSAI, Y. C., Biochemical and Biophysical Research Communications, **2006**, Vol. 345, p. 1033.

### Demais Publicações

ARAUJO, A. C.; MARANGONI, A.; CANOZZI, J. B.; NEVES, G. S.; BOLZAN, A. Influência do Tamanho de Partícula no Rendimento da Extração Supercrítica do Óleo Essencial de Patchouli (*Pogostemon cablin*). **IV SBOE - Simpósio Brasileiro de Óleos Essenciais**. Anais do Congresso. Novembro, 2007 (resumo expandido; apresentação oral).

ARAUJO, A. C.; MARANGONI, A.; CANOZZI, J. B.; NEVES, G. S.; BOLZAN, A. Otimização do Processo de Extração Supercrítica do Óleo Essencial de Patchouli (*Pogostemon cablin*) utilizando CO<sub>2</sub>. **XVII COBEQ – Congresso Brasileiro de Engenharia Química**. Setembro, 2008.