



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

Marcelo Eduardo Alves Olinda de Souza

**POTENCIAL ANTIOXIDANTE DE EXTRATOS DA CASCA DE
MANGA (*Mangifera indica L.*) DA VARIEDADE TOMMY ATKINS
OBTIDOS POR MÉTODOS A BAIXA E A ALTA PRESSÃO E
DIMENSIONAMENTO DE UMA COLUNA PARA EXTRAÇÃO
SUPERCRÍTICA**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos do Centro Tecnológico da Universidade Federal de Santa Catarina, como requisito final à obtenção do título de Doutor em Engenharia de Alimentos.

Área de concentração:
Desenvolvimento de Processos da
Indústria de Alimentos.

Orientadora: Prof^a. Dra. Sandra R.S. Ferreira
Coorientadora: Prof^a. Dra Luciana C. de Azevêdo

Florianópolis-SC
2015

Catologação na fonte pela Biblioteca Universitária da
Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC)

Souza, Marcelo Eduardo Alves Olinda de

Potencial Antioxidante de Extratos da Casca de Manga (*mangifera indica* L.) da Variedade Tommy Atkins Obtidos por Métodos a Baixa e a Alta Pressão e Dimensionamento de uma Coluna para Extração Supercrítica / Marcelo Eduardo Alves Olinda de Souza ; orientadora, Sandra Regina Salvador Ferreira ; coorientadora, Luciana Cavalcanti de Azevêdo. – Florianópolis, SC, 2015.

191

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Santa Catarina, Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos.

Inclui referências

1. Engenharia de Alimentos. 2. Extrações a baixa e alta pressão. 3. Compostos fenólicos. 4. Projeto e construção de um vaso de pressão. Ferreira, Sandra Regina Salvador. II. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos. IV Título

“POTENCIAL ANTIOXIDANTE DE EXTRATOS DA CASCA DE MANGA (*Mangifera indica* L.) DA VARIEDADE TOMMY ATKINS OBTIDOS POR MÉTODOS A BAIXA E A ALTA PRESSÃO E DIMENSIONAMENTO DE UMA COLUNA PARA EXTRAÇÃO SUPERCRÍTICA”

Por

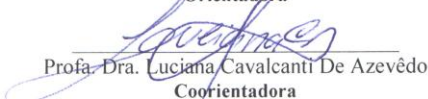
Marcelo Eduardo Alves Olinda de Souza

Tese julgada para obtenção do título de **Doutor em Engenharia Alimentos**, área de Concentração de **Desenvolvimento de Processos da Indústria de Alimentos**, e aprovada em sua forma final pelo Programa de Pós-graduação em Engenharia de Alimentos da Universidade Federal de Santa Catarina.



Prof.a. Dra. Sandra Regina Salvador Ferreira

Orientadora



Prof.a. Dra. Luciana Cavalcanti De Azevêdo

Coorientadora




Prof. Dr. Marco Di Luccio

Coordenador

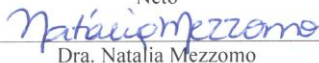
Banca Examinadora:



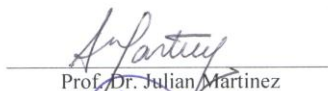
Prof.a. Dra. Sandra Regina Salvador
Ferreira



Prof. Dr. Moisés Alves Marcelino
Neto



Dra. Natália Mezzomo



Prof. Dr. Julian Martinez



Prof.a. Dra. Jane Mara Block



Prof. Dr. Haiko Hense

Florianópolis, 4 de março de 2015.

RESUMO

Nas áreas irrigadas do semiárido nordestino existe um grande potencial de produção de manga devido às condições climáticas favoráveis da região. O processo de industrialização da manga gera grande volume de resíduos que, sem um destino adequado, pode provocar potenciais problemas ambientais. Dentre os resíduos da manga destaca-se a casca. Assim, o objetivo deste trabalho foi o aproveitamento da casca de manga da variedade Tommy Atkins para a obtenção de extratos de alto valor agregado mediante o emprego de diferentes técnicas. As técnicas de extração estudadas foram Soxhlet, maceração e extração assistida por ultrassom utilizando os solventes etanol, hexano e acetato de etila. Estas técnicas foram comparadas com a extração supercrítica (ESC) aplicada em diferentes condições de pressão (100, 200 e 300 bar) e temperatura (40, 50 e 60°C) empregando o dióxido de carbono (CO₂) como solvente. O etanol foi utilizado como cossolvente na ESC em proporções de 2,5, 5,0 e 7,5% na condição de 300 bar e 50°C. A qualidade dos extratos foi avaliada em termos de teor de fenólicos totais (TFT) pelo método de Folin-Ciocalteu e atividade antioxidante (AA) determinada pelos métodos do radical ABTS (cátion 2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico)) do radical DPPH (2,2-difenil-1-picrilidrazina) e do sistema β-caroteno/ácido linoléico. O extrato obtido pelo método Soxhlet empregando etanol proporcionou os melhores valores de AA pelo método DPPH (37,1 ± 0,7% e 67 ± 1 µg/mL), enquanto que o extrato da maceração com etanol resultou em maior TFT (63 ± 2 mg EAG/g) e maior AA pelo método ABTS (1287 ± 3 µMTEAC/g).

Na ESC os maiores rendimentos foram obtidos a 300 bar e 50 °C alcançando 3,8 ± 0,7% para o solvente CO₂ e 4,0 ± 0,1% utilizando CO₂ + 5,0% etanol como cossolvente. O maior valor de AA pelo sistema β-caroteno/ácido linoléico (136 ± 6%) foi obtido para o extrato da ESC a 100 bar e 50 °C. Os compostos fenólicos dos extratos da casca de manga foram quantificados e identificados por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE), que detectou a presença de flavanóis principalmente de rutina. Adicionalmente também foram avaliados os parâmetros cinéticos do processo ESC, o que auxiliou no projeto e construção de uma coluna de extração supercrítica focando nos aspectos de ampliação de escala e de segurança operacional de acordo com a Norma Regulamentadora e código ASME de fabricação de vaso de pressão.

PALAVRAS-CHAVE: Extrações a baixa e alta pressão, compostos fenólicos, projeto e construção de um vaso de pressão.

ABSTRACT

In the irrigated areas of the Brazil's northeastern semiarid area, there is great potential of mango production due to favorable climatic conditions of the region. The mango processing generates large amount of waste that can potentially cause environmental problems if is not adequately destined. The mango peel is one of the main byproducts produced in the fruit industrialization. The objective of this study was the use of mango peel variety Tommy Atkins to obtain high-value extracts by using different technologies. Extraction techniques studied were Soxhlet, maceration and ultrasound-assisted extraction using ethanol, hexane and ethyl acetate as solvents. These techniques were compared to supercritical fluid extraction (SFE) applied at different pressure conditions (100, 200 and 300 bar) and temperature (40, 50 and 60 ° C) using carbon dioxide (CO₂) as a solvent. Ethanol was used as cosolvent in the SFE at concentrations of 2.5, 5.0 and 7.5%, in the conditions of 300 bar and 50 ° C. The quality of the extracts was evaluated in terms of total phenolic content (TPC), determined by the Folin-Ciocalteu method, and antioxidant activity (AA), determined by ABTS (2,2-azino-bis-[3-ethylbenzotiazoline-6-sulfonic acid]) radical scavenger method, the DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil) free radical scavenging method, and by the β -carotene/linoleic acid bleaching method. The extract obtained by Soxhlet method using ethanol provided the best AA by DPPH values ($37.1 \pm 0.7\%$ and 67 ± 1 mg/mL), whereas the maceration extract with ethanol resulted in greater TPC (63 ± 2 mg GAE/g) and higher AA by ABTS assay (1287 ± 3 μ MTEAC/g). In the SFE, the highest extraction yields were obtained at 300 bar and 50 ° C reaching $3.8 \pm 0.7\%$ for pure CO₂ and $4.0 \pm 0.1\%$ when applying CO₂ + 5.0% ethanol as cosolvent. The highest AA with the β -carotene/linoleic acid bleaching method ($136 \pm 6\%$) was obtained for the SFE extract processed at 100 bar and 50 ° C. The phenolic compounds of the mango peel of the extracts were quantified and identified by High Performance Liquid Chromatography (HPLC), which detected the presence of flavanols principally of rutin. In addition were also evaluated the kinetic parameters of the SFE process, which assisted in the design and construction of a supercritical fluid extraction column focusing on aspects of scale-up and safety, in accordance with *Norma Regulamentadora (Brasil)* and pressure vessel fabrication ASME code.

KEY-WORDS: Low and high pressure extractions, phenolic compounds, design and construction of a pressure vessel.

LISTA DE FIGURAS

Figura 2.1: Mangueira (<i>Mangifera indica linn</i>).....	23
Figura 2.2: Manga Tommy Atkins.....	24
Figura 2.3: Classificação dos principais compostos fenólicos.....	28
Figura 2.4: Estrutura dos principais flavonóis.....	29
Figura 2.5: Estrutura química da mangiferina.....	31
Figura 2.6: Tensões na parede do vaso de pressão: Circunferencial (a); Longitudinal (b).....	54
Figura 3.1: Equipamento de Extração Supercrítica (ESC) do LATESC. Vista lateral esquerda (a) e vista lateral direita (b).....	69
Figura 3.2: Diagrama esquemático da unidade de extração supercrítica.....	70
Figura 3.3: Constituintes do equipamento ESC-2.....	81
Figura 3.4: Diagrama esquemático da unidade ESC-2.....	82
Figura 3.5: Medição de espessura por equipamento ultrassônico em diferentes pontos da coluna de extração.....	89
Figura 3.6: Pontos de medições de espessura no casco da coluna de extração C-1: vista superior (a) e vista lateral (b).....	89
Figura 3.7: Equipamento de teste hidrostático com proteção de segurança em acrílico utilizado na coluna C-1.....	90
Figura 3.8: Teste hidrostático na coluna de extração C-2.....	91
Figura 4.1 Curva de extração supercrítica a 200 bar, 50 °C, 15 g de amostra da casca de manga e vazão de solvente de 0,5 kg/h.....	94
Figura 4.2 Isotermas de rendimento de extração supercrítica.....	100
Figura 4.3 Aumento da concentração dos flavonóis na ESC com o uso de cossolvente (Etanol) em diferentes proporções (0%; 2,5%; 5,0% e 7,5%).....	123
Figura 4.4: Projeto da coluna de extração C-2: Coluna com tampas conectadas (a) e sem tampas (b).....	129
Figura 4.5: Projeto da tampa roscada da coluna de extração.....	129
Figura 4.6: Coluna de extração e tampas usinadas em aço inoxidável 316L, camisa em aço inoxidável 304 e anéis de vedação em teflon.....	133
Figura 4.7: Calibração de abertura da válvula de segurança.....	135
Figura 4.8: Disco de ruptura (a) e válvula de segurança (b).....	135
Figura 4.9: Instrumentos indicadores de pressão (Manômetros).....	136
Figura 4.10: Sistema de aquecimento antigo das válvulas através de fitas de resistências (imagem frontal).....	140
Figura 4.11: Sistema de aquecimento antigo das válvulas através de fitas de resistências (imagem traseira).....	141

Figura 4.12: Sistema de aquecimento proposto das válvulas através banho ultratermostatizado digital.....	142
Figura 4.13: Modificação do sistema de aquecimento da ESC-2.....	143
Figura 4.14: Colunas C-1 e C-2 montados na ESC - (a) saída das colunas; (b) entrada das colunas.....	144
Figura 4.15: Projeto do Equipamento ESC-2 com uma coluna de extração.....	145
Figura 4.16: Projeto do Equipamento ESC-2 com as duas colunas de extração ligadas em série.....	146
Figura 4.17: Projeto do Equipamento ESC-2 com as duas colunas de extração ligadas em paralelo.....	147
Figura 6.1: Dimensões do recipiente/banho de aquecimento compacto das válvulas de entrada e saída da coluna de extração.....	151
Figura I: Curva analítica de ácido gálico utilizada na análise do conteúdo de teor de fenólicos totais (TFT).....	184
Figura II: Curva analítica de Trolox utilizada na determinação da atividade antioxidante (AA).....	184
Figura III: Vista geral explodida do conjunto da coluna C-2	185
Figura IV: Vista da solda e vedação da coluna C-2.....	186
Figura V: Vista das tampas da coluna C-2	187
Figura VI: Vista do anel de teflon para vedação das tampas da coluna.....	188
Figura VII: Vista lateral da coluna C-2	189
Figura VIII: Vista da tampa da camisa de aquecimento da coluna.....	190
Figura IX: Vista da camisa/cilindro de aquecimento da coluna.....	191

LISTA DE TABELAS E QUADROS

Tabela 2.1: Conteúdo total de compostos fenólicos e de mangiferina nas cascas de diferentes cultivares de mangas.....	32
Tabela 2.2: Classe de fluido.....	50
Tabela 2.3: Grupo potencial de risco do fluido.....	50
Tabela 2.4: Categoria do vaso de pressão.....	51
Tabela 2.5: Símbolos utilizados nas equações 2.2, 2.3 e 2.4 das tensões.....	53
Tabela 2.6: Símbolos utilizados nas equações de cisalhamento de rosca.....	56
Tabela 2.7: Fatores de área para área de cisalhamento por corte de roscas.....	56
Tabela 2.8: Número mínimo de fios de rosca para fixação de conexões tubulares roscadas de acordo com a UG-43 do código ASME.....	56
Tabela 3.1: Índice de polaridade de solventes utilizados nos processos de extrações a baixa pressão.....	61
Tabela 4.1: Valores de rendimento global (X_0) obtidos nas amostras da casca de manga da secagem natural e estufa, submetido às técnicas de extração a baixa pressão com diferentes solventes.....	95
Tabela 4.2: Valores de rendimento global (X_0) obtidos nas extrações supercríticas utilizando CO_2 puro e com cossolvente nas amostras da casca de manga secas por estufa nas diferentes condições de pressão (P) e temperatura (T).....	97
Tabela 4.3: Caracterização da partícula e do leite de partículas formado para a extração supercrítica.....	101
Tabela 4.4: Avaliação do Teor de Fenólicos Totais nas amostras da casca de manga da secagem natural e estufa, obtidas nas extrações a baixa pressão com diferentes solventes.....	102
Tabela 4.5: Avaliação do TFT nas amostras das cascas de manga secas por estufa obtidas na ESC utilizando CO_2 puro e com cossolvente.....	103
Tabela 4.6: Avaliação da atividade antioxidante através do método ABTS nas amostras da casca de manga da secagem natural e estufa, obtidas nas extrações a baixa pressão com diferentes solventes.....	106
Tabela 4.7: Avaliação da atividade antioxidante através do método ABTS nas amostras das cascas de manga secas por estufa obtidas na ESC utilizando CO_2 puro e com cossolvente.....	107
Tabela 4.8: Avaliação da atividade antioxidante através do método DPPH nas amostras da casca de manga da secagem natural e estufa, obtidas nas extrações a baixa pressão com diferentes solventes.....	109

Tabela 4.9: Avaliação da atividade antioxidante através do método DPPH nas amostras das cascas de manga secas por estufa, obtida na ESC utilizando CO ₂ puro e com cossolvente.....	110
Tabela 4.10: Avaliação da atividade antioxidante através do método do sistema β-caroteno/ácido linoléico nas amostras da casca de manga da secagem natural e estufa, obtidas nas extrações a baixa pressão.....	112
Tabela 4.11: Avaliação da atividade antioxidante através do método do sistema β-caroteno/ácido linoleico nas amostras das cascas da manga secas por estufa, obtido na ESC utilizando CO ₂ puro e com cossolvente.....	113
Tabela 4.12: Resultado da análise de correlação de Pearson entre os fenólicos quantificados e a atividade antioxidante da casca de manga pelos métodos ABTS, DPPH e β-caroteno/ácido linoleico nas extrações a baixa pressão.....	118
Tabela 4.13: Resultado da análise de correlação de Pearson entre os fenólicos quantificados e a atividade antioxidante da casca de manga pelos métodos ABTS, DPPH e β-caroteno/ácido linoleico nas extrações a alta pressão.....	119
Tabela 4.14: Identificação e quantificação (mg/kg) de compostos por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) nos extratos casca de manga Tommy Atkins obtidos por métodos distintos de extração a baixa pressão.....	120
Tabela 4.15: Compostos identificados e quantificados (mg/kg) por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) nos extratos casca de manga Tommy Atkins em apenas um dos métodos de extrações utilizados.....	121
Tabela 4.16: Identificação e quantificação (mg/kg) de compostos por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) nos extratos casca de manga Tommy Atkins obtidos por extração a alta pressão supercrítica (ESC).....	122
Tabela 4.17: Resultados das medições da espessura no vaso de pressão (coluna de extração C-1).....	124
Tabela 4.18: Prontuário da coluna C-1 de acordo com a NR-13 do M.T.E.....	138
Tabela 4.19: Prontuário da coluna C-2 de acordo com a NR-13 do MTE.....	138
Quadro 3.1: Resumo dos ensaios realizados atividades realizadas nos extratos da casca de manga.....	79
Tabela I: Tempos de extração, massas de extrato, massas acumuladas e rendimentos do experimento cinético a 200 bar, 50 °C e 0,5 kg/h de CO ₂	183

LISTA DE SIGLAS, ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

- Abs = Absorbância/*absorbance*
ABTS = Radical cátion 2,2'-azinobis (3- etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico)
AE = Ampliação de Escala
ANOVA = Análise de variância/*analysis of variance*
ASME = *American Society of Mechanical Engineers*
BHT = Butil-hidroxitolueno
CLAE = Cromatografia gasosa de alta eficiência
CO₂ = Dioxido de carbono/*carbon dioxide*
DPPH = 1,1-difenil-2-picrilhidrazina/*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil*
EAG = Equivalentes de ácido gálico
EC₅₀ = Concentração das amostras necessária para captar 50% do radical livre/*effective concentration at 50%*
EMBRAPA = Empresa Brasileira de Pesquisas Agropecuárias
EtOH = Etanol/*ethanol*
GRAS = *General recognized as safe solvent*
HPLC = *High performance liquid chromatography*
Hx = Hexano/hexane
LATESC = Laboratório de Termodinâmica e Extração Supercrítica
m_{ext} = Massa de extrato
m_i = Massa inicial de amostra
m_f = Massa final de amostra
m₀ = Massa inicial de soluto
MAC = Maceração/*maceration*
mgGAE = mg equivalente de ácido gálico/*mg equivalent of gallic acid*
NR = Norma regulamentadora
P = Pressão (bar)
SAS = Antisolvente supercrítico/*supercritical antisolvent*
SOX = Soxhlet
T = Temperatura (°C)
TFT = Teor de compostos fenólicos total
Trolox =6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromano-2- ácido carboxílico
UE = Ultrassom/*ultrasound extraction*
X₀ = Rendimento global/*global yield*
ρ_a = Massa específica aparente/*apparent solid specific mass*
ρ_r = Massa específica real/*real solid specific mass*
ρ_{CO₂} = Massa específica do CO₂/*CO₂ specific mass*
ε = Porosidade do leito/*bed porosity*
β = Porosidade da folha – Modelo de Goto, Sato e Hirose (1993)

δ = Meia espessura das partículas (placas)

μ_{CO_2} = Viscosidade do CO_2/CO_2 viscosity

%AA = atividade antioxidante/*antioxidant activity*

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	19
1.1	OBJETIVO GERAL.....	21
1.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	22
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	23
2.1	A MANGA E A PRODUÇÃO BRASILEIRA.....	23
2.2	COMPOSIÇÃO QUÍMICA E NUTRICIONAL DA MANGA.....	25
2.2.1	Flavanóis	28
2.2.2	Flavonóis	29
2.2.3	Estilbenos	30
2.2.4	Ácidos fenólicos.....	30
2.2.5	Mangiferina	31
2.3	PROCESSAMENTO DA MANGA E RESÍDUOS GERADOS	33
2.4	ATIVIDADE ANTIOXIDANTE (AA)	34
2.5	MÉTODOS DE EXTRAÇÃO	36
2.5.1	Preparo das cascas para extração.....	37
2.5.2	Extração com solventes orgânicos.....	39
2.5.3	Extração Supercrítica (ESC).....	42
2.6	EQUIPAMENTO DE ALTA PRESSÃO	46
2.7	AMPLIAÇÃO DE ESCALA.....	46
2.8	PROJETO E CONSTRUÇÃO DE UMA UNIDADE DE ESC.....	47
2.8.1	Componente da unidade de extração a alta pressão.....	47
2.8.2	Normas de projeto e de segurança.....	48
2.8.3	Norma de projeto: Código ASME	52
2.8.4	Dimensionamento da coluna de extração da ESC	57
2.8.5	Definição dos dados gerais do projeto.....	57
2.9	ESTADO DA ARTE	58
3	MATERIAIS E MÉTODOS.....	59
3.1	OBTENÇÃO DA MATÉRIA-PRIMA.....	59
3.2	PREPARO DA MATÉRIA-PRIMA	59

3.3	DETERMINAÇÃO DO TEOR DE UMIDADE E SUBSTÂNCIAS VOLÁTEIS DA MATÉRIA-PRIMA <i>IN NATURA</i> E SECA	60
3.4	TÉCNICAS DE EXTRAÇÃO A BAIXA PRESSÃO.....	61
3.4.1	Extração por sistema Soxhlet	62
3.4.2	Extração por Maceração.....	62
3.4.3	Extração assistida por Ultrassom	63
3.4.4	Tratamento dos extratos e eliminação dos solventes.....	63
3.5	CARACTERIZAÇÃO DO LEITO DE PARTÍCULAS NA ESC	64
3.5.1	Determinação do diâmetro médio de partículas	64
3.5.2	Determinação da massa específica aparente (ρ_a).....	65
3.5.3	Determinação da massa específica real (ρ_r)	66
3.5.4	Porosidade do leito (ϵ)	66
3.6	DETERMINAÇÃO DA MASSA ESPECÍFICA DO SOLVENTE SUPERCRÍTICO	66
3.7	EXTRAÇÃO SUPERCRÍTICA (ESC).....	67
3.7.1	Equipamento de extração supercrítica.....	67
3.7.2	Rendimento Global dos extratos (X_0)	71
3.7.3	Curvas de Extração Supercrítica	71
3.8	TEOR DE COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS (TFT).....	72
3.9	ATIVIDADE ANTIOXIDANTE (AA)	73
3.9.1	Determinação pelo método do radical cátion 2,2'-azinobis [3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico] (ABTS).....	73
3.9.2	Determinação pelo método do radical 1,1-difenil-2-picrilhidrazina (DPPH).....	74
3.9.3	Determinação pelo sistema β -caroteno/ácido linoleico....	75
3.10	ANÁLISE POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA (CLAE)	77
3.11	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	78
3.12	RESUMO DOS ENSAIOS	79
3.13	AVALIAÇÃO DE SEGURANÇA NO EQUIPAMENTO ESC-2.....	81
3.13.1	Componentes da unidade de extração a alta pressão.....	81
3.13.2	Princípio de funcionamento da unidade de extração supercrítica a alta pressão	85
3.13.3	Projeto das colunas de extração para alta pressão.....	86
3.13.4	Cálculo de espessura no casco cilíndrico e tampos sob pressão interna:	87

3.13.5	Avaliação da coluna de extração (C-1):.....	88
3.13.6	Avaliação da coluna de extração (C-2):.....	91
3.13.7	Dispositivos de segurança e instrumentos indicadores de pressão instalados no equipamento de ESC-2.....	92
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	93
4.1	ENSAIOS INICIAIS	93
4.1.1	Caracterização da matéria-prima	93
4.1.2	Testes de cinética de Extração	93
4.2	DETERMINAÇÃO DO RENDIMENTO GLOBAL (X0)	95
4.2.1	Extrações a baixa pressão	95
4.2.2	Extração a alta pressão	97
4.2.3	Caracterização do leite de partículas da ESC	100
4.3	DETERMINAÇÃO DO TEOR DE FENÓLICOS TOTAIS (TFT)....	101
4.4	ATIVIDADE ANTIOXIDANTE (AA)	105
4.4.1	Método do radical cátion 2,2' -azinobis (3 – etilbenzotiazolina – 6 - ácido sulfônico) (ABTS)	105
4.4.2	Método do radical 1,1-difenil-2-picrilidrazina (DPPH) .	108
4.4.3	Sistema β -caroteno/ácido linoléico.....	111
4.5	PERFIL DE FENÓLICOS	114
4.6	AVALIAÇÃO DE SEGURANÇA NO EQUIPAMENTO ESC-2.	124
4.6.1	Resultado da avaliação da coluna de extração (C-1):.....	124
4.6.2	Dimensionamento da coluna C-2	128
4.6.3	Dispositivos de segurança e instrumentos indicadores de pressão instalados no equipamento de ESC-2.....	134
4.6.4	Prontuários das colunas C-1 e C-2	137
4.6.5	Testes de operação	139
4.6.6	Tipos de ligações das colunas de extração na ESC-2.	143
4.6.7	Custo da coluna C-2	148
5	CONCLUSÕES	149
6	SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	151
7	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	153
8	APÊNDICE.....	183

1 INTRODUÇÃO

Nas áreas irrigadas do semiárido nordestino existe um grande potencial de produção de manga devido às condições climáticas favoráveis da região. A manga é um fruto atrativo, especialmente pelo seu aroma, sabor adocicado e sua aparência. Ela é consumida de forma *in natura* ou industrializada na forma de sucos ou polpa, sendo utilizada na produção de vários tipos de alimentos tais como: doce, geléia, sorvete, licor, entre outros. Quando industrializada, a fruta gera um enorme volume de resíduos que, quando não se tem um local adequado para este material, pode provocar danos ao meio ambiente (COELHO, 2012). A casca é um importante resíduo da indústria de transformação de manga e constitui cerca de 15-20% do peso total da fruta (KIM et al., 2012).

O resíduo industrial produzido necessita de algum destino apropriado e não pode ser acumulado continuamente no local em que foi gerado. Ele além de criar potenciais problemas ambientais pode representar perdas de parte da matéria-prima e demandar investimentos significativos em tratamentos para controlar a poluição. A indústria e os órgãos governamentais vêm se mobilizando em relação à preocupação com o meio ambiente.

As indústrias das áreas farmacêutica, cosmética e de alimentos têm grande interesse na obtenção de extratos e óleos a partir de matérias-primas de origem vegetal. Com isso, o avanço nos estudos envolvendo produtos naturais é justificado pelas características medicinais, aromatizantes, corantes para alimentos, fabricação de cosméticos e perfumes de diversos extratos de plantas (MEZZOMO, 2008).

Os métodos de extração a baixa pressão, como o sistema Soxhlet, maceração e ultrassom, utilizam solventes orgânicos e são bastante aplicados para a obtenção de extratos e óleos essenciais de várias matérias-primas. Nas extrações com solventes orgânicos são utilizados diversos tipos de solventes, como etanol, hexano e acetato de etila. Esta técnica é comumente aplicada nas indústrias química, farmacêutica e de alimentos para a produção de extratos. Porém, estas técnicas envolvem altas temperaturas de processo, podendo ocasionar alterações químicas e danificar os compostos termossensíveis, assim como a perda de qualidade do extrato (BE-JEN; YEN-HUI; ZER-RAN, 2004; POURMORTAZAVI; HAJMIRSADEGUI, 2007). A extração com fluido supercrítico tem sido considerada uma boa opção para a extração e fracionamento de produtos naturais. A extração supercrítica (ESC)

emprega fluidos pressurizados como solventes e se diferencia das outras técnicas a baixa pressão pela produção de extratos isentos de solvente com o uso do CO₂ e dependendo da temperatura, não ocorre a degradação térmica. Além disso, permitir o fácil controle da seletividade do processo. Estes fatores são considerados aspectos importantes para as indústrias que utilizam os produtos naturais como matéria-prima. Na extração supercrítica são utilizadas técnicas modernas de extração que vêm se desenvolvendo continuamente nas últimas décadas (KHAJEH et al. 2004, CYGNAROWICZ et al. 1991), destacando-se por minimizar os danos ao meio ambiente e pela qualidade do produto.

Os antioxidantes, de forma geral, são substâncias que retardam significativamente ou inibem a velocidade da oxidação, através de um ou mais mecanismos, tais como inibição de radicais livres e complexação de metais (PIETTA, 2000). Os radicais formados a partir de antioxidantes não são reativos para propagar a reação em cadeia, sendo neutralizados por reação com outro radical, formando produtos estáveis ou podem ser reciclados por outro antioxidante (SOUZA et al. 2007). Eles podem ser sintéticos ou naturais e, para serem utilizados em alimentos, devem ser seguros para a saúde (ALMEIDA et al. 2006). Estes compostos antioxidantes estão naturalmente presentes em frutas, sendo que algumas apresentam altas concentrações de determinados grupos (ARABBI et al. 2004; ASSIS et al. 2001).

Diversas técnicas têm sido utilizadas para determinar a atividade antioxidante *in vitro*, de forma a permitir uma rápida seleção de substâncias e/ou misturas potencialmente interessante, na prevenção de doenças crônico-degenerativas (ALMEIDA et al. 2006). Dentre as técnicas para determinar a atividade antioxidante estão o método do radical cátion 2,2'-azinobis [3-etilbenzotiazolína-6-ácido sulfônico] chamado ABTS que utiliza o Trolox, vitamina-E sintética (6-hidroxi-2,5,7,8- tetrametilcromo-2-ácido carboxílico), sistema de co-oxidação do β-caroteno/ácido linoléico e o método de seqüestro de radicais livres 1,1-difenil-2-picrilhidrazila conhecido como DPPH. Além disso, pode ser realizada a estimativa da atividade antioxidante através do Teor de Fenólicos Totais (TFT) determinado pelo método de Folin-Ciocalteu.

Como parte do projeto de dimensionamento de uma unidade de extração a alta pressão, é proposta uma melhoria da unidade de extração supercrítica já desenvolvida no LATESC por Mezzomo (2012). O equipamento existente foi projetado para operar a pressões de até 400 bar e propõe-se realizar modificações para garantir aspectos de segurança operacional e aumentar a versatilidade de uso do equipamento, com a substituição de acessórios, para tornar mais

eficiente o sistema atual de operação, além do projeto, confecção e instalação de uma coluna adicional de diferente volume para permitir o estudo de ampliação de escala. Complementarmente foi realizada a inspeção dos itens de segurança nos vasos de pressão (colunas de extração), realizando teste hidrostático, análise da conformidade das espessuras da parede dos cilindros, definição da Pressão Máxima de Trabalho Admissível (PMTA) através dos cálculos definidos pela norma internacional de projeto de vaso de pressão código ASME (*American Society of Mechanical Engineers*) - seção VIII – divisão I para caldeira e vaso de pressão (ASME, 1986). Quanto aos quesitos relacionados à segurança e saúde dos trabalhadores nos aspectos relacionados à instalação, inspeção, operação e manutenção do equipamento, foi verificada a necessidade e o funcionamento de todos os dispositivos de segurança realizando o teste de abertura nas válvulas de segurança, assim como a elaboração dos prontuários, registros de segurança, projeto de instalação/alteração ou reparo e os relatórios de inspeção dos vasos, por profissional habilitado, de acordo com os requisitos exigidos da Norma Regulamentadora (N.R.) n° 13 (para caldeiras a vapor, vasos de pressão e tubulações), definido pelo Ministério do Trabalho e Emprego (M.T.E.) no Brasil.

Este trabalho teve o propósito de justificar a importância, apresentando o ineditismo e a relevância do estudo da avaliação do potencial antioxidante de extratos supercríticos de casca de manga (*Mangifera indica L.*) da variedade Tommy Atkins, assim como da avaliação de segurança do equipamento, baseado nas normas de segurança nacional e internacional, de uma unidade de extração supercrítica utilizando dois extratores de volumes diferentes para estudos futuros de ampliação de escala.

1.1 Objetivo Geral

O objetivo geral deste trabalho é obter extrato e estudar o aproveitamento da casca de manga da variedade Tommy Atkins, avaliando a eficiência das técnicas de extração e a qualidade dos extratos assim como o projeto e construção de uma coluna de extração supercrítica focando nos aspectos de segurança operacional.

1.2 Objetivos Específicos

- a) Utilizar técnicas de extração a baixa pressão (Soxhlet, maceração e ultrassom), utilizando solventes de polaridades diferentes;
- b) Utilizar técnicas de extração a alta pressão (supercrítica) nas diferentes condições de pressão e de temperatura utilizando o solvente o CO₂ puro e adicionando cossolvente na condição de melhor rendimento de extração;
- c) Avaliar o teor de fenólicos totais (TFT);
- d) Determinar a atividade antioxidante (AA) pelos métodos do DPPH, ABTS e sistema β-caroteno/ácido linoleico mediante o emprego de diferentes técnicas de extração;
- e) Avaliar a influência das técnicas de pré-tratamento da matéria-prima (secagem natural e por estufa) da casca de manga no resultado do rendimento de extração a baixa pressão;
- f) Quantificar e identificar nos extratos da casca os compostos fenólicos através da Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE);
- g) Realizar o teste hidrostático e a inspeção dos itens de segurança nas colunas de extração, em conformidade com a NR-13 e código A.S.M.E., seção VIII – divisão I.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 A manga e a produção brasileira

A mangueira (*Mangifera indica linn*) é uma planta perene de porte arbóreo, dotada de copa frondosa pertencente à família *Anacardiaceae* (Figura 2.1). Oriunda da Índia é atualmente cultivada em diversas partes do globo terrestre, existindo diferentes variedades (PINTO, 2008; PIO-CORRÊA, 1974).

Figura 2.1: Mangueira (*Mangifera indica linn*).



Fonte: Próprio autor

A mangicultura representa a segunda maior cultura tropical, sendo a manga um dos frutos mais consumidos no mundo, na forma *in natura* ou como polpa, sucos, néctar, doces e geléias (BARRETO et al, 2008; SCHIEBER et al., 2003).

A manga (Figura 2.2) é uma fruta muito apreciada por apresentar características agradáveis, tais como sabor, aparência e aroma. Este último, de acordo com Canuto et al. (2009), é um atributo decisivo para boa aceitação de qualquer fruta. A fruta é comercializada quase exclusivamente na forma *in natura*, mas também pode ser industrializada na forma de suco integral e polpa congelada.

A fruticultura é um dos segmentos de maior destaque da economia brasileira (FELIPE et al, 2006). A manga é uma das frutas mais produzidas no país, devido às excelentes condições para seu desenvolvimento e produção. A região Nordeste, de forma especial nas

áreas irrigadas da região semiárida, destaca-se no cenário nacional como grande produtora de manga do tipo exportação, principalmente devido às condições climáticas favoráveis (AZEVEDO et al, 2008; SILVA; COELHO, 2010).

Figura 2.2: Manga Tommy Atkins.



Fonte: BRASIL, 2014.

A região do Vale do São Francisco é responsável por mais de 90% da produção de manga no Brasil e responde por aproximadamente 80% do total exportado (BRASIL, 2012). Em 2010 a produção nacional de manga foi de 1.189.910,0 tonenaldas (FAO, 2012) e em 2011 a produção nacional de manga foi de 1.249.453 toneladas, sendo 1.124.507,7 toneladas provenientes da região do Vale (IBGE, 2013).

A Índia é o maior produtor mundial de manga, com mais de 42% do total. O Brasil é o sétimo maior produtor mundial de manga, representando quase 3% do total produzido no mundo (FAO, 2012). Dentre as cultivares de importância comercial, a cv. Tommy Atkins é a mais plantada e exportada pelo Brasil (MARQUES et al., 2010; CANUTO et al., 2009; FRANCO et al., 2004) em virtude de sua alta produtividade e resistência ao transporte, favorecendo sua exportação por via marítima para mercados consumidores distantes (CANUTO et al., 2009).

De acordo com o IBGE (2013), no Brasil, a área plantada com manga é de 76.389 hectares em 2011 e no Submédio do Vale do São Francisco entre a Bahia e Pernambuco, a principal região produtora do

país, superou os 38.000 hectares deste mesmo ano. A produtividade média é aproximadamente de 20 toneladas por hectare, sendo superior à média nacional de 16 toneladas (IBGE, 2012).

O período da produção de manga está relacionado com a incidência de radiação solar, muito importante para o crescimento e a produção da mangueira, uma vez que está diretamente associada com a fotossíntese e a produção de carboidratos. Contudo, a quantidade de radiação depende da época do ano e da maior ou menor nebulosidade (ALLEN et al., 1998).

2.2 Composição química e nutricional da manga

A composição da manga varia em maior ou menor grau de acordo com diversos fatores como variedade estudada, procedência geográfica, estágio de maturação, metodologias de análise utilizadas e condições de conservação. Além disso, já foram detectadas diferenças na composição química das distintas partes do fruto (casca e polpa: porção interna, intermediária, externa, superior, meio e inferior do mesocarpo) (BASTOS et al., 2005; BENEVIDES et al., 2008; BERNARDES-SILVA et al., 2003; BLEINROTH, 1989; CANUTO, 2009; MEDLICOTT et al., 1988).

Em virtude disso, a constituição química da manga é muito complexa, tendo já sido identificados mais de 300 compostos, pertencentes as mais variadas classes, sendo encontrados tanto na forma livre ou como heterosídeos: terpenoides, ésteres etílicos de ácidos graxos (C2-C16), g e d-lactonas, bem como aldeídos, cetonas e alcoóis alifáticos de cadeia curta (C2-C6). Mono e sesquiterpenoides representam cerca de 70-90% dos componentes voláteis de manga, os demais compostos conferem os odores peculiares ao aroma de cada cultivar (CANUTO, 2009).

A porcentagem de sólidos solúveis totais (SST) na manga varia de 6,65 a 21,9%, dependendo do cultivar e do estágio de maturação do fruto. Algumas variedades apresentam teores mais baixos como a *Tommy Atkins*, com aproximadamente 12% no início da maturação (COCOZZA, 2003).

Análise nos extratos da polpa por CG/EM de 15 variedades de manga cultivadas no Brasil revelou a existência de três grupos, segundo uma classificação por componente: a-terpinoleno (Cheiro, Chana, Bacuri, Cametá, Gojoba, Carlota, Coquinho e Comum), d-3-careno (Haden, Tommy Atkins e Keitt) e mirceno (Cavalo, Rosa, Espada e Paulista). Por outro lado, em análise olfatométrica realizada com

mangas comerciais brasileiras (Carlota, Haden, Tommy Atkins, Coração de boi, Rubi e Espada), o butanoato de etila foi identificado como sendo o componente de maior impacto odorífero (CANUTO, 2009).

Alguns pesquisadores (FELIPE et al., 2006; DAMIANI et al., 2009; MARQUES et al., 2010) vêm mostrando que a casca da manga pode ser mais rica em determinados nutrientes do que a própria polpa. Felipe et al (2006); Marques et al (2010) relatam que a casca é rica em cálcio, sódio, potássio, ferro, fósforo, magnésio e manganês, elementos fundamentais para o bom funcionamento do nosso organismo. Damiani et al. (2009), revelam que a casca possui mais fibras, vitamina C, proteínas, carboidratos e pectina que a polpa.

Substâncias fenólicas assim como vitaminas C, E e carotenoides são encontrados em frutas e hortaliças e elas são conhecidas como potentes antioxidantes e antagonistas naturais de patógenos (CHINNICI et al., 2004), podendo ser encontrados na forma livre ou ligadas a açúcares e polifenólicos (CATANEO et al., 2008). Esse alto potencial antioxidante não está apenas na polpa de frutas. De acordo com Leontowicz et al. (2003) e Dorta et al (2011) tem sido provado que a atividade antioxidante tem frequência maior nas cascas, pelo fato de estas serem ricas em compostos bioativos, tais como os compostos fenólicos. Alguns estudos têm mostrado que as cascas de manga da variedade Ubá são consideradas uma fonte de compostos fenólicos, já que contêm um perfil variado de glicosídeos de xantona e de flavonóis (RIBEIRO, 2007).

A manga contém várias classes de polifenóis, carotenoides e vitaminas com propriedades terapêuticas diferentes, principalmente a atividade antioxidante (SANCHEZ et al., 2009). A casca de manga tem mais polifenóis que a polpa (AJILA et al., 2010).

As evidências quanto à importância dos subprodutos de frutas e vegetais como fonte de fitoquímicos com atividade biológica sugerem a exploração de tal potencial como fonte de bioativos para a dieta humana (LIMA et al., 2004). Assim, a utilização do extrato obtido da casca de manga torna-se uma alternativa à obtenção de compostos com elevado potencial antioxidante haja vista o grande descarte desse subproduto pelas agroindústrias, o que torna este um motivo de preocupações ambientais (SHUI; LEONG, 2006).

Ajila et al. (2010) estudaram compostos bioativos e o potencial antioxidante de extratos provenientes da casca de manga, relatando uma alta atividade antioxidante, segundo diferentes sistemas de medida. Eles sugeriram, em função desta importante propriedade, o uso de casca de manga como nutracêutico e para alimentos funcionais. Outro importante

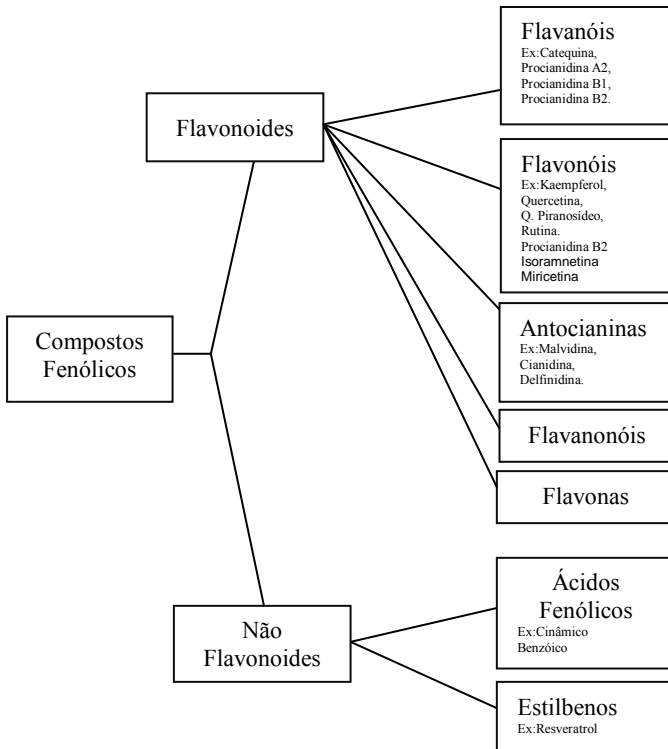
desdobramento desta utilização é o reaproveitamento da casca de manga, um dos mais fartos resíduos produzidos durante o processamento da fruta e que, se não utilizado adequadamente, acaba contribuindo para a poluição ambiental.

De acordo com sua estrutura química, os polifenóis são classificados em flavonoides e não flavonoides. Os flavonoides são encontrados principalmente na casca e sementes das frutas, e se dividem em vários subgrupos como flavanóis, flavonóis, antocianinas, flavanonóis e flavonas (LIMA, 2014), conforme apresentado na Figura 2.3. Os compostos não flavonoides são representados principalmente pelos fenóis ácidos, que são derivados do ácido cinâmico e do ácido benzóico, formando duas séries de compostos (série cinâmica e série benzóica) (MANFROI, 2009). Das antocianinas e flavonóis depende boa parte a qualidade organoléptica, sendo as antocianinas responsáveis pela cor e os flavonóis, pela cor, sabor, adstringência e amargor (RIBÉREAU-GAYON et al., 2003). Os fenólicos que estão associados com benefícios à saúde são, principalmente, flavonóis, flavanóis e antocianinas, que fazem parte da família dos flavonoides, os ácidos fenólicos e estilbenos como o resveratrol (SAUTTER et al., 2005; ALI et al. 2010; XIA et al., 2010; KRIKORIAN et al., 2012).

A polpa de manga é quimicamente rica em diferentes classes de compostos fenólicos tais como ácidos e ésteres (ex.: ácido gálico), derivados da benzofenona (ex.: 3-C-b-D-glucosil-maclurina), flavanóis (ex.: catequina), antocianinas (ex.: 3-O-galactosil-cianidina), flavonóis (ex.: quercetina), heterosídeos flavonóis (ex.: 3- O-galactosil-rhamnetina) e heterosídeo xantônico (ex.: mangiferina – Figura 2.5). Na mangueira, análogos da mangiferina também estão presentes como isomangiferina (isômero 4- glicosil), além dos derivados (6-O-metil-mangiferina (homomangiferina), 6- O-galoil-mangiferina e 6-O-(p-hidroxibenzoil)-mangiferina (ABDALLA et al., 2007; BARRETO et al, 2008; BERARDINI, 2005a; SELLÉS et al., 2002).

Os principais compostos fenólicos presentes nas sementes de manga são os ácidos gálico e elágico, bem como galatos, galotaninos, taninos condensados, mangiferina, catequina, epicatequina e ácido benzóico e quercetina, na forma de aglicona e de glicosídeos na casca, evidenciando um maior potencial antioxidante nesta em relação à semente (RIBEIRO et al., 2008; SOONG; BARLOW, 2004).

Figura 2.3: Classificação dos principais compostos fenólicos.



Fonte: Adaptado de (FERNANDES, 2007).

2.2.1 Flavanóis

Os flavanóis são substâncias capazes de combinações estáveis com proteínas e outros polímeros vegetais tais como polissacarídeos (RIBÉREAU-GAYON et al., 2003). Segundo o grau de polimerização das estruturas químicas, os mesmos se dividem em: catequinas, procianidinas e prodelfinidinas. As catequinas são unidades flavanólicas básicas (monoméricas). As principais catequinas da casca da manga são a catequina e epicatequina.

As procianidinas são dímeros resultantes da união de unidades monoméricas de flavanóis entre si por ligações C4-C8 (B1 a B4) ou C4-C6 (B5 a B8). As procianidinas do tipo A são dímeros que possuem mais de uma união interflavano C4-C8 ou C4-C6, e uma ligação éster entre os carbonos C5 ou C7 da unidade terminal e o carbono C2 da unidade

superior (RIBÉREAU-GAYON et al., 2003). As procianidinas localizam-se principalmente nas partes sólidas das frutas. Entre variedades as diferenças nos teores de procianidinas são consideráveis, mas o seu perfil se mantém relativamente homogêneo. Assim a procianidina B1 é normalmente mais abundante nas cascas enquanto a B2 é mais abundante nas sementes (SILVA, 1995).

Dentre os flavanóis, a catequina, epicatequina e procianidinas têm recebido atenção por possuir atividades antioxidantes, antiinflamatória e bactericida (OH et al., 2008; XIA et al., 2010).

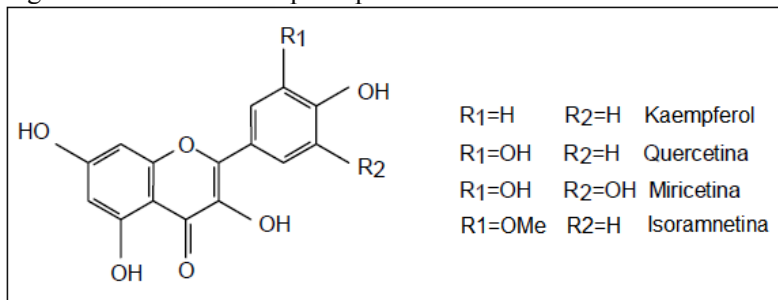
2.2.2 Flavonóis

Os flavonóis presentes na casca de manga são representados, principalmente, pelo kaempferol, quercetina e miricetina, e pelas formas *O*-metiladas simples como a isoramnetina (MAKRIS et al., 2006). A estrutura química dos principais flavonóis está representada na Figura 2.4.

É conhecido que a biossíntese envolvida na produção de flavonóis em tecidos de plantas é influenciada pela luz solar, e que mangas altamente expostas à luz do dia têm um aumento significativo da biossíntese de flavonóis (SPAYD et al., 2002).

Os flavonóis kaempferol, quercetina, miricetina, e derivados *orto*-metilados simples como a isoramnetina, tem recebido considerável interesse ao longo do tempo por suas propriedades antioxidantes (MAKRIS et al., 2006), pois estas são algumas das principais atividades biológicas pesquisadas que estão relacionadas aos fenólicos (XIA et al., 2010).

Figura 2.4: Estrutura dos principais flavonóis.



Fonte: Adaptado de (MAKRIS et al., 2006).

2.2.3 Estilbenos

Os estilbenos são uma classe de compostos fenólicos não-flavonoides que tem recebido atenção por seus efeitos valiosos à saúde (ALI et al., 2010).

O resveratrol é um metabólito secundário encontrado em folhas, caules e frutos (PASTRANA-BONILLA et al., 2003). É uma fitoalexina sintetizada na casca como resposta ao estresse causado pelo ataque fúngico, dano mecânico ou por irradiação de luz ultravioleta. O resveratrol é sintetizado naturalmente pela planta sob duas formas isômeras: *trans*-resveratrol (*trans*-3,5,4'-trihidroxiestilbeno) e *cis*-resveratrol (*cis*-3,5,4'-trihidroxiestilbeno). O isômero *trans*-resveratrol é convertido para *cis*-resveratrol em presença da luz visível, pois esta forma é mais estável (SAUTTER et al., 2005).

A quantidade de resveratrol presente na fruta depende de fatores como clima, cultivar e práticas no cultivo da fruta (ALI et al., 2010).

O estilbenos em geral como o *trans*-resveratrol (*trans*-3,5,4'-trihidroxiestilbeno), em particular, têm sido associados a vários efeitos como atividade bactericida, fungicida, possuir ações cardioprotetora, atividade anticâncer e efeitos positivos para a longevidade de seres humanos, sendo este um dos fenólicos mais estudados atualmente (ALI et al., 2010).

2.2.4 Ácidos fenólicos

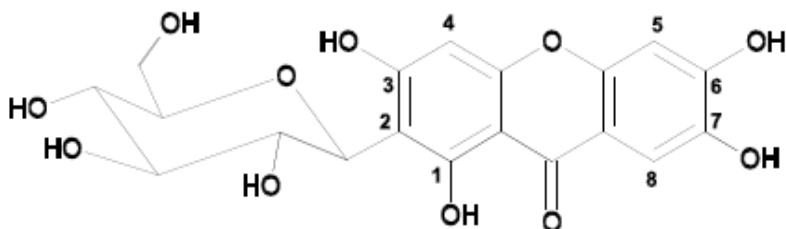
Os ácidos fenólicos são divididos em benzoicos e cinâmicos (CHEYNIER et al., 1998). Dos ácidos derivados do ácido benzoico, os mais importantes são os ácidos vanílico, siríngico e salicílico, que aparecem ligados às paredes celulares e, principalmente, o ácido gálico que se encontra sob a forma de éster dos flavanóis. Outros ácidos benzoicos existentes em menor quantidade são o protocatéquico, o gentísico, e o *p*-hidroxibenzoico. Os ácidos da série cinâmica encontram-se combinados com o ácido tartárico sob a forma de monoésteres.

Ácidos fenólicos como, ácidos gálico, caféico e clorogênico, têm sido estudados pela sua capacidade antioxidante, antimicrobiana e vasodilatadora (MUDINIC et al., 2010).

2.2.5 Mangiferina

A mangiferina é um composto polifenólico amplamente encontrado em peridófitas e angiospermas, principalmente nas famílias Gentianaceae e Iridaceae, presentes predominantemente nas folhas e na casca do caule. Na mangueira a mangiferina (Figura 2.5) é um dos constituintes fenólicos majoritários, podendo ser detectada nas folhas, casca do caule, fruto (polpa e casca) e raízes (RICHARDSON, 1983). Mangiferina já foi isolada de outras três espécies do gênero *Mangifera*: *M. zeylanica* (RICHARDSON, 1983), *M. persiciformis* (NONG et al., 2005), *M. odorata* (LI et al., 2007a).

Figura 2.5: Estrutura química da mangiferina.



Fonte: CANUTO, 2009.

Singh (2006) relatou que a mangiferina desempenha importante papel fisiológico na indução do crescimento vegetativo da mangueira e na inibição da ocorrência de malformação. No entanto, o crescente interesse científico pela mangiferina é atribuído ao seu grande potencial farmacológico, cujo estudo permitiu a descoberta de várias atividades tais como antioxidante, antiinflamatória (GARRIDO et al., 2004; OJEWOLE, 2005; PARDO-ANDREU et al., 2008;), hipoglicemiante, imunomodulatória (MAKARE et al., 2001), entre outras.

Em um trabalho, Berardini et al. (2005b) desenvolveram dois processos tecnológicos para extração de substâncias polifenólicas da casca da manga da variedade Tommy Atkins, devido ao alto teor de mangiferina, e propuseram o aproveitamento industrial da casca da manga como fonte de compostos antioxidantes e pectina (CANUTO, 2009).

Muitas formulações contendo mangiferina como princípio ativo estão sendo elaboradas e patenteadas como suplementos alimentares e

com fins nutricionais e farmacêuticos (fitoterápicos e cosméticos) (CANUTO, 2009).

Barreto et al. (2008), investigaram a composição química em diferentes partes da mangueira como a casca, caroço, caule e folhas ou seja consideradas subprodutos do processo, nos diversos estádios de desenvolvimento da planta (jovem e velha) e maturação do fruto. Para esta pesquisa, foram avaliadas 16 variedades da planta cultivadas no Brasil e, nesta análise, foi detectada a presença de um composto fenólico de nome mangiferina. Este composto foi o principal constituinte da casca, caule e folhas nos estágios jovens, o segundo maior componente nas folhas velhas, e o terceiro componente mais abundante da casca do fruto e do caroço maduros. Azevedo (2006) verificou que o conteúdo de mangiferina varia com o estágio de maturação da manga (cv. Tommy Atkins) e detectou um decaimento à medida que o fruto amadurece.

Berardini et al. (2005a) estudaram os teores de mangiferina nos frutos de 14 cultivares procedentes de áreas cultivadas em diferentes países e observaram que a mangiferina foi encontrada predominantemente na casca, cerca de aproximadamente 1.300 mg/kg, foram determinadas nas cascas de manga da variedade Tommy Atkins e Chock Anan como mostra a Tabela 2.1.

Tabela 2.1: Conteúdo total de compostos fenólicos e de mangiferina nas cascas de diferentes cultivares de mangas.

Cultivar	Compostos fenólicos totais (mg/kg matéria seca)	Mangiferina (mg/kg matéria seca)
Tommy Atkins	4444,0 ± 198,3	1263,2 ± 197,2
Manila	1058,1 ± 25,1	43,5 ± 9,8
Ngowe	2953,8 ± 27,6	775,8 ± 11,7
R2E2	399,4 ± 11,5	82,9 ± 4,2
kent	2342,0 ± 56,4	13,9 ± 1,5
José	4860,2 ± 80,0	983,6 ± 50,1
Mini-mango	2442,5 ± 81,6	449,9 ± 37,7
Haden	2936,4 ± 33,9	11,2 ± 0,1
Heidi	2897,8 ± 38,6	108,9 ± 3,5
Kaew	588,5 ± 6,0	313,6 ± 4,4
Mon Due Gao	354,4 ± 4,5	68,0 ± 2,3
Maha Chonak	2120,2 ± 122,5	973,9 ± 106,9
Nam Dokmai	485,6 ± 3,6	78,1 ± 2,8
Chock Anan	1728,7 ± 140,2	1297,1 ± 140,1

Fonte: Adaptado de BERARDINI et al., 2005^a

A mangiferina correspondeu a 75% dos compostos fenólicos presentes na casca da cultivar Chock Anan e somente a 28,4% na casca da cultivar Tommy Atkins. Por outro lado, a Tabela 2.1 mostra que o conteúdo de polifenólicos totais existente na Tommy Atkins foi de aproximadamente 2,5 vezes maior do que o determinado na variedade Chock Anan. Já Barreto et al. (2008) detectaram uma concentração de quase seis vezes maior para Tommy Atkins. Na polpa, foram detectados apenas traços dessa substância (CANUTO, 2009). Exceto na cultivar Haden, a presença de mangiferina foi maior do que a do seu isômero isomangiferina em todas as cultivares, variando amplamente a proporção entre ambas (BERARDINI et al., 2005a; CANUTO, 2009).

2.3 Processamento da manga e resíduos gerados

O Brasil, por ser um país de grande atividade agrícola, produz resíduos agroindustriais que geram impactos ambientais e, com isso, a busca de alternativas para a utilização da matéria orgânica gerada cresce em vários centros de pesquisa. Produtores e indústrias enfrentam o problema de descarte da biomassa residual que, embora seja biodegradável, necessita de um tempo mínimo para ser mineralizada, constituindo-se numa fonte de poluentes ambientais. Esses resíduos agroindustriais contêm várias substâncias biologicamente ativas que são desperdiçadas, como compostos polifenólicos (CATANEO et al., 2008). Assim, a utilização eficiente desses resíduos é importante, uma vez que pode gerar empregos, agregar valor aos subprodutos agroindustriais e prevenir problemas de poluição ambiental (MALACRIDA et al., 2007).

A industrialização do fruto produz o descarte do caroço e das cascas, gerando um resíduo correspondente a 28-43% do peso total da fruta (AZEVEDO et al., 2008). Kim et al. (2012) relata que a casca de manga constitui cerca de 15-20% do peso total da fruta.

Segundo Damiani (2008), vários pesquisadores brasileiros vêm estudando o aproveitamento de resíduos como as cascas de frutas, pois além de contribuir com a diminuição de impactos ambientais, podem gerar renda colaborando com a economia do país.

De acordo com Marques et al. (2010), o aproveitamento integral de alimentos é uma alternativa para suprir as necessidades nutricionais e contribuir para reduzir o lixo orgânico.

A industrialização da manga, inclusive da casca, pode ser uma alternativa para atenuar as perdas pelo aproveitamento das frutas fora do padrão de comercialização *in natura*, para abrandar a geração de

resíduos orgânicos sólidos e produzir alimentos saudáveis pela incorporação de fibras e compostos com atividade antioxidante oriundos das cascas. Essas cascas são constituídas por água, proteínas e carboidratos (entre os quais as fibras), o que possibilita o seu aproveitamento na fabricação de doces, pães, biscoitos, geléias, etc. (DAMIANI et al., 2009).

2.4 Atividade Antioxidante (AA)

De maneira geral um antioxidante é qualquer substância que, presente em baixas concentrações quando comparada à do substrato oxidável, retarda ou inibe a oxidação deste substrato de maneira eficaz (SHAMI; MOREIRA, 2004). Aplicando este conceito à indústria alimentícia, pode-se dizer que antioxidantes são substâncias que retardam ou previnem significativamente a oxidação de lipídios, principalmente os insaturados, ou de outras moléculas ao inibirem a iniciação ou propagação da reação de oxidação em cadeia e assim, evitam a formação de compostos como aldeídos, cetonas, álcoois e hidrocarbonetos, que são potencialmente tóxicos à saúde humana (PASSOTTO et al., 1998).

Os antioxidantes estão presentes de forma natural ou intencional nas gorduras e alimentos para retardar o aparecimento dos fenômenos de oxidação, mantendo intactas suas características sensoriais. Os antioxidantes que se adicionam aos alimentos não devem causar efeitos fisiológicos negativos e a escolha deles para a preservação do produto depende de propriedades tais como: eficácia em baixas concentrações (0,001% a 0,01%); ausência de efeitos indesejáveis na cor, odor, sabor e em outras características do alimento; compatibilidade com o alimento; estabilidade nas condições de processamento e armazenamento; e ausência de toxicidade, mesmo em concentrações muito superiores à existente no produto (ARAÚJO, 2004; DECKER, 2005; RAMALHO; JORGE, 2006). Devem ser lipossolúveis, resistentes aos tratamentos a que seja submetido o alimento, ativos em baixas temperaturas e econômicos (ORDÓÑEZ et al., 2005).

Nos sistemas biológicos as substâncias previnem ou reparam os danos oxidativos causados pelas espécies reativas de oxigênio, espécies reativas de nitrogênio, radicais derivados de tióis (RS•), espécies reativas de cloro, espécies reativas de carbono e complexos de metais de transição, principalmente Fe, Cu, Mn e Cr (ANDRADE et al., 2007; DEGÁSPARI; WASZCZYNSKYJ, 2004; RUDNICKI et al., 2007; BECHARA, 2009).

Além dos antioxidantes naturais, há os antioxidantes sintéticos, sendo que butil-hidroxitolueno (BHT), butil-hidroxianisol (BHA) e o terc-butilhidroquinona (TBHQ) são bastante empregados como aditivos alimentares (RAMALHO; JORGE, 2006; BRASIL, 1988).

Porém, estudos realizados em animais evidenciaram que a exposição prolongada e aguda a estes compostos levou ao desenvolvimento de tumores de fígado, pâncreas e glândulas; aumento de H_2O_2 nos microssomos, alterando as funções hepáticas; carcinogênese no estômago de ratos; e adenomas e carcinomas em células hepáticas (JARDINI; FILHO, 2007). Assim, com o intuito de evitar esses malefícios, mantendo-se, porém, a estabilidade dos produtos cresce o número de propostas para que as indústrias alimentícias utilizem cada vez mais substâncias naturais com atividade antioxidante, ou mesmo que façam associações entre os antioxidantes naturais e os sintéticos (SOARES, 2002; PASSOTTO et al., 1998; KRANL et al., 2005; OLIVEIRA et al., 2009).

Sabe-se que os antioxidantes naturais possuem a capacidade de melhorar a qualidade e a estabilidade dos alimentos, protegerem efetivamente o organismo contra os processos oxidativos que ocorrem naturalmente, serem uma alternativa economicamente mais viável e proporcionarem, ainda, benefícios adicionais à saúde dos consumidores por meio dos efeitos funcionais dos compostos bioativos polifenólicos (CATANEO et al., 2008; BECHARA, 2009; RODRIGUES et al., 2003). Por estes motivos, o uso de antioxidantes sintéticos em alimentos é limitado.

A origem das substâncias antioxidantes pode ser sintética ou natural. Os antioxidantes sintéticos como, o Butil-hidroxianisol (BHA), o Butil-hidroxitolueno (BHT), o Terc-butilhidroquinona (TBHQ) e o Propil Galato (PG) são utilizados para diminuir a fase de propagação da reação de oxidação. Entretanto, apresentam o inconveniente da volatilidade e por isso são facilmente decompostos em altas temperaturas. Os riscos à saúde associados com o consumo crônico dessas substâncias são preocupantes e continuam a ser estudados (MARTINEZ-TOME et al., 2001).

Os antioxidantes naturais podem ser extraídos de vegetais e plantas. Muitas ervas e especiarias, utilizadas como condimentos em alguns pratos, são excelentes fontes de compostos fenólicos. Tais substâncias têm demonstrado alto potencial antioxidante, podendo ser usadas como conservantes naturais para alimentos (RICE-EVANS, MILLER e PAGANGA, 1996; ZHENG e WANG, 2001). Os compostos fenólicos exibem grande quantidade de propriedades fisiológicas (como

antialérgica, antiarteriogênica, antiinflamatória, antimicrobiana, antitrombótica, cardioprotetiva e vasodilatadora), mas o principal efeito dos compostos fenólicos tem sido atribuído à sua ação antioxidante em alimentos (BALASUNDRAM, SUNDRAM e SAMMAN, 2006).

Dentre as diversas classes de substâncias antioxidantes de ocorrência natural, os compostos fenólicos têm recebido muita atenção nos últimos anos, sobretudo por inibirem a peroxidação lipídica, a lipoxigenase *in vitro* (SOUSA et al., 2007), processos aterogênicos e câncer (HUANG et al., 1992; SHAHIDI; WANASUNDARA, 1992). Essa atividade antioxidante deve-se, principalmente, às suas propriedades redutoras, as quais desempenham um papel importante na neutralização ou sequestro de radicais livres ou quelação de metais de transição, agindo tanto na etapa de iniciação como na propagação do processo oxidativo (SOARES, 2002). Os intermediários formados pela ação de antioxidantes fenólicos são relativamente estáveis, devido à ressonância do anel aromático presente na estrutura dessas substâncias (ALMEIDA-DORIA; REGITANO-D'ARCE, 2000). Portanto, o sinergismo entre os diferentes compostos fenólicos provenientes de fontes naturais pode adicionar efeito antioxidante mais potente do que um ou dois antioxidantes sintéticos combinados (ABDALLA et al., 2006).

A eficiência antioxidante de compostos bioativos em alimentos de origem vegetal depende de sua estrutura e da sua concentração no alimento. Por sua vez, a quantidade destas substâncias em vegetais é amplamente influenciada por fatores genéticos e condições ambientais, além do grau de maturação e variedade da planta, entre outros aspectos. Sabe-se, ainda, que a capacidade antioxidante é influenciada pelo substrato utilizado no ensaio, pelo solvente e pela técnica de extração utilizada, bem como pelo binômio tempo-temperatura (OLIVEIRA, 2009).

2.5 Métodos de extração

Existem diversos métodos para a extração dos compostos antioxidantes em produtos naturais. Dentre esses, podem ser citados os tradicionais métodos de extração utilizando solventes orgânicos (como água, etanol, hexano, acetato de etila e dentre outros) e a extração supercrítica, onde mediante mudanças na pressão e na temperatura, o solvente apresenta característica de fluido supercrítico para a extração (LEAL et al., 2003; REHMAN, HABIB e SHAH, 2004). Sob o ponto de vista químico não há como selecionar a metodologia mais eficiente para

a extração desses compostos, que podem sofrer a influência de diversos fatores. Dentre esses, podem ser citados a natureza da matéria prima, o solvente empregado na extração, o tamanho das partículas, o tempo e a temperatura de extração (SHAIIDI e NACZK, 1995).

Aspectos como qualidade e composição dos produtos fitoterápicos estão fundamentalmente relacionados com a técnica de extração empregada na preparação dos extratos de produtos naturais (MEZZOMO, 2008). Em escala laboratorial, a extração de substâncias biologicamente ativas pode ser realizada através de técnicas convencionais de extração a baixa pressão por sistema Soxhlet, maceração e extração assistida por ultrassom.

As pesquisas enfocam essas extrações com o objetivo de comparar seus resultados e encontrar a melhor alternativa para sua aplicação em alimentos (ANDREO et al., 2006).

Algumas etapas preliminares devem ser realizadas para facilitar o processo de extração e conservação dos compostos antioxidantes, que são sensíveis à ação da luz, oxigênio e calor (AZIZAH, RUSLAWATTI e TEE, 1999; VEKIARI, et al. 1993). A matéria-prima é desidratada para a sua conservação e depois moída, pois assim os substratos atingem maior superfície de contato com o solvente de extração (JUNTACHOTE e BERGHOFER, 2005; GÁMEZ-MEZA ET al., 1999) em seguida é revestida por material opaco, tampada e armazenada em um local refrigerado, antes do processo de extração.

2.5.1 Preparo das cascas para extração

Uma das formas para obter a desidratação da casca da manga é por meio da secagem. A secagem consiste na remoção de parte da água livre presente no alimento, possibilitando até a sua armazenagem em temperatura ambiente. Essa técnica permite que não haja perdas significativas de suas características organolépticas e nutricionais. Ela pode ser feita tanto por secagem natural ao ar livre, na qual o produto é exposto ao sol; como também por meio de secagem artificial em secadores mecânicos com circulação de ar forçada (COSTA, 2008). O sistema de secagem natural pode ser uma forma adequada, eficiente, além de economicamente viável, já que a sua fonte de energia é produzida pelo sol. No Brasil, especialmente na região Nordeste, existe um grande potencial de utilização da energia solar em diversos setores tais como; secagem de frutas tropicais, transformação em energia elétrica e aproveitamento para aquecimento domiciliar de água (COSTA, 2008).

A secagem ao ar livre é mais econômica, embora exija maior vigilância para garantir a uniformidade das condições durante a operação (SIMÕES et al., 2010). De acordo com Simões et al.(2010) esta secagem deve ser realizada preferencialmente à sombra para evitar que a radiação solar altere a constituição química do material e em local convenientemente seco disposto em cima de papel para a absorção da umidade e protegido contra o ataque de insetos ou contaminantes ambientais.

Na secagem por ar quente empregam-se estufas com circulação forçada de ar equipadas com um termostato, o que garante a manutenção de uma temperatura constante durante o tempo desejado. É conveniente deixar escapar o ar da estufa, a fim de evitar a saturação com o vapor d'água que vai sendo desprendido do material a secar. A velocidade com que o ar circula na estufa tem grande importância na obtenção de uma boa secagem. Os modelos de estufa providos de um sistema de circulação forçada de ar são mais eficazes. A circulação forçada provoca a renovação constante do ar, removendo o ar saturado de umidade e permitindo que a secagem se processe mais facilmente (SIMÕES et al., 2010).

A operação de secagem, independentemente de como é feita, propicia a redução de volume e de peso e facilita a moagem dos materiais (PRISTA et al., 1981). Partículas grandes fornecem espaços para que o solvente percorra as diferentes capas de partículas. As partículas pequenas são, aproximadamente, lâminas achatadas, formando capas densas, que não permitem a formação de canais para o escoamento de fluidos. A redução da granulométrica do sólido não pode ser realizada de forma indefinida, pois partículas muito pequenas tendem a formar caminhos preferenciais, além de proporcionar perda de compostos voláteis (BRUNNER, 1994; MARTÍNEZ, 2005).

Özkal et al. (2005a) estudaram o efeito do tamanho de partícula, vazão de solvente, pressão, temperatura e concentração de cossolvente, no rendimento de óleo de ESC de amêndoa de damasco. Aproximadamente 99% de recuperação do óleo de amêndoa de damasco foi possível quando o diâmetro de partícula era menor que 0,425 mm. A taxa de extração constante aumentou com o aumento da vazão de solvente, pressão, temperatura, e adição de etanol. O coeficiente de transferência de massa na fase fluida aumentou com a diminuição do tamanho da partícula e pressão, e com o aumento da vazão de solvente, temperatura e concentração de etanol.

2.5.2 Extração com solventes orgânicos

As extrações com solventes orgânicos podem utilizar uma ampla variedade de solventes, como alcoóis metílico, etílico e propílico, hexano, clorofórmio, acetato de etila, acetona, água, éter de petróleo. São técnicas comumente aplicadas nas indústrias química, farmacêutica e de alimentos para a produção de extratos diversos (MEZZOMO, 2008).

As tecnologias clássicas de extração são baseadas no uso de um solvente apropriado para remover compostos do interior do tecido celular. Os métodos de extração de óleos essenciais e compostos bioativos variam conforme a localização do óleo volátil na planta e com a proposta de utilização do mesmo. De forma geral, a extração destes compostos pode ser realizada através de técnicas a baixa pressão como a enfleuragem, prensagem a frio, maceração, extração assistida por ultrassom, sistema Soxhlet, destilação direta e a destilação por arraste a vapor de água. Os principais solventes utilizados para a extração são o hexano, o benzeno, os alcoóis metílico, etílico e propílico, a acetona, o pentano e diversos solventes clorados. Após a extração, o solvente é removido por evaporação ou destilação à pressão reduzida, obtendo-se um extrato denso e resinoso (KITZBERGER, 2005; BISCAIA, 2007; AROMALANDIA, 2008). A redução da pressão permite evaporar o solvente, a temperatura reduzida, evitando-se assim a possível degradação térmica dos compostos. Este é um método simples e rápido de evaporação do solvente (PENICHEV, 2010).

Estes procedimentos clássicos possuem desvantagens como tempos de operação longos, operações laboratoriais intensas, manuseio de grandes volumes de solventes perigosos e subsequente etapa de concentração do extrato, o que pode resultar em degradação térmica do composto alvo. Além disso, o solvente pode provocar alterações químicas nas moléculas e causar efeitos tóxicos nos consumidores (SCALIA; GIUFREDDA; PALLADO, 1999).

A solubilidade da matéria-prima no solvente se dá em função de uma afinidade química existente entre as espécies em um sistema. Existem dois tipos de substância no que diz respeito à polaridade: polares e apolares. Um exemplo de substância polar é a água, considerada um solvente universal, excelente para compostos orgânicos polares de baixa massa molecular, como o metanol, etanol, ácido fórmico, ácido acético, dentre outros (MEZZOMO, 2008).

A etapa de recuperação do solvente é crucial no processamento de óleo comestível devido aos problemas de segurança ambiental e

econômicos, além da possibilidade de resíduo do solvente no produto final. Na maioria das situações, tanto para fins sensoriais quanto para fins farmacológicos, o solvente residual pode ser indesejável em um produto devido à sua toxicidade, à sua capacidade reagente ou mesmo pela interferência no aroma e no extrato obtido (DONELIAN, 2004; LI; PORDESIMO; WEISS, 2004; FALKENBERG et al., 2003 apud KITZBERGER, 2005).

Não existe sistema de extração com solventes que seja satisfatório para o isolamento de todos ou de classe específica de antioxidantes naturais, devido a diversos fatores. A natureza química desses compostos nos alimentos varia do simples ao altamente polar, há grande variedade de compostos bioativos nos vegetais (como os ácidos fenólicos, antocianinas e taninos) e diferentes quantidades presentes, além da possibilidade de interação dos compostos antioxidantes com carboidratos, proteínas e outros componentes dos alimentos. Alguns desses complexos, assim como alguns fenólicos com alto peso molecular, são altamente insolúveis em água. Entretanto, os extratos sempre contêm mistura de substâncias fenólicas de diferentes classes que são solubilizadas no solvente do sistema escolhido. Estágios adicionais podem ser necessários para purificar o isolado e remover substâncias fenólicas e não-fenólicas indesejáveis (SHAIIDI e NACZK, 1995).

2.5.2.1 Extração por sistema Soxhlet

A extração pelo sistema Soxhlet é um método simples e conveniente de um número finito de repetição do ciclo de extrações com solvente até a exaustão completa do soluto na matéria-prima. O extrator Soxhlet é constituído por um corpo de vidro, em cujo interior é colocado um cartucho contendo o sólido a ser extraído e na parte inferior há um tubo de sifão e um tubo de destilação. O material do cartucho é de papel filtro com espessura penetrável de solvente (PENICHEV, 2010).

A montagem do sistema Soxhlet consiste de um aparelho extrator em cuja extremidade inferior é acoplado um balão contendo o solvente de extração, e este é aquecido a fim de entrar em ebulição. Na extremidade superior, é conectado um condensador arrefecido por um banho que liquefaz o vapor do solvente. A passagem de vapor segue pelo Soxhlet atravessando todo o cartucho e sobe em direção ao condensador de destilação. Em seguida, no condensador o solvente é liquefeito no ápice do tubo de sifão e segue no retorno do líquido para o balão, juntamente com as substâncias extraídas no extrator e o solvente

no frasco torna-se progressivamente enriquecido em componentes solúveis.

Os extratos brutos obtidos por Soxhlet ficam misturados com o solvente no balão até a etapa do processo de eliminação deste solvente.

O processo Soxhlet, em geral, produz altos rendimentos, porém a ha a necessidade de eliminação do solvente após a extração. Além disso, a possível degradação térmica do extrato, a eliminação incompleta do solvente, por se tratar de um processo lento e a baixa seletividade do produto são os principais problemas que podem ocorrer neste método (REVERCHON; DE MARCO, 2006).

2.5.2.2 Extração por Maceração

O processo de maceração consiste em deixar a matéria-prima em contato com o solvente por um determinado tempo, à temperatura ambiente, para extrair os compostos de interesse. Este processo, mesmo utilizando agitação, pode resultar em longos períodos de extração.

Assim como para a extração por sistema Soxhlet, a maceração requer uma etapa posterior de eliminação do solvente, exigindo um grande dispêndio de energia. Este tipo de extração produz resíduos prejudiciais ao meio ambiente e extratos não totalmente livres de solvente. Além disso, o uso prolongado e de grande quantidade de solventes orgânicos pode acarretar problemas à saúde humana (DÍAZ-REINOSO et al., 2006; ÖZCAN; ÖZCAN, 2004) e baixa seletividade do material a ser extraído.

2.5.2.3 Extração assistida por Ultrassom

A extração assistida por equipamento ultrassônico é um processo que utiliza a energia das ondas sonoras que são transmitidas em frequência superior àquela da capacidade auditiva humana. As ondas sonoras se propagam na matéria, em frequências de 20,0 - 100,0 kHz, criando no meio que se propagam ciclos de expansão e compressão (LUQUE-GARCÍA, CASTRO, 2003; MELECCHI, 2005).

Os principais efeitos do ultrassom na extração de matrizes vegetais são o aumento do estresse mecânico das células (ou fricção interfacial), aumento da permeabilidade das paredes celulares, o que facilita a dilatação e hidratação do material através do aumento do tamanho dos poros da parede celular, melhorando o processo de difusão e de transferência de massa. O aumento no tecido celular pode, em alguns casos, quebrar a parede celular, causando a saída de compostos

da célula, além de aumentar a eficiência da extração e/ou redução do tempo de extração, e aumentar a área de contato entre o sólido e a fase líquida. Contudo, o efeito do ultrassom no processo de extração depende da frequência e da potência do aparelho (VINATORU, 2001; JACQUES, 2005; YANG; ZHANG, 2008).

O ultrassom é utilizado para a extração de compostos voláteis de plantas com solventes orgânicos, em temperatura ambiente. Nesta técnica, a amostra triturada é misturada ao solvente e colocada em um recipiente, que é imerso em um banho de ultrassom, por um tempo determinado (não necessariamente, mas em geral menor que na extração Soxhlet) e a uma frequência própria do banho. Transcorrido esse tempo, o extrato é filtrado e concentrado (ALISSANDRAKIS et al., 2003; JACQUES, 2005).

2.5.3 Extração Supercrítica (ESC)

Em 1879, Hannay e Hogarth observaram experimentalmente o aumento da solubilidade de substâncias com o aumento simultâneo de pressão e da temperatura, obtendo um importante avanço científico e tecnológico: o uso de fluidos supercríticos.

Os fluidos supercríticos apresentam muitas vantagens na extração de produtos naturais. A combinação de propriedades de líquido e gás dos fluidos supercríticos torna estes particularmente adequados para a extração em matrizes vegetais (SCALIA, GIUFREDDA; PALLADO, 1999). Por outro lado, a extração com dióxido de carbono (CO₂) supercrítico exige um investimento maior em relação às extrações convencionais devido aos custos de aquisição de equipamentos de alta pressão, mas é extremamente específica em sua atuação (MISON; UNTHANK, 2000 apud DONELIAN, 2004).

A extração com fluido supercrítico (ESC) é considerada importante, pois não libera resíduos tóxicos de solventes no ambiente (HUI, 1996). A tecnologia supercrítica utilizando CO₂ próximo ao ponto crítico como solvente na extração de compostos tem sido considerada uma alternativa para emprego nas indústrias alimentícia e farmacêutica (MEIRELES, 2003). Uma das aplicações mais difundidas dos fluidos supercríticos é a extração ou eliminação de uma ou mais famílias de compostos a partir de uma matriz natural sólida (REVERCHON; DE MARCO, 2006).

A extração supercrítica em processos industriais é importante principalmente devido aos fatores ambientais e de qualidade envolvidos, pois é um processo livre de resíduos tóxicos, não necessita de pós-

processamento dos extratos para a eliminação do solvente e não provoca a degradação térmica dos extratos, por permitir o emprego de baixas temperaturas, e previne reações de oxidação, pela ausência de luz e oxigênio. Esta extração a alta pressão possui a vantagem sobre as outras técnicas de extração a baixa pressão por ser um processo que possibilita o ajuste contínuo da vazão do solvente e do controle no poder de solvatação. Este último é possível através do ajuste da temperatura e da pressão de extração (BRUNNER, 1994; MARTÍNEZ et al., 2004; ROSA; MEIRELES, 2005b; MICHIELIN et al., 2005; DÍAZ-REINOSO et al., 2006).

Um extrato obtido com CO₂ supercrítico pode ser considerado como natural e os produtos obtidos podem ser aplicados na indústria alimentícia ou farmacêutica por possuir *status* de substância geralmente reconhecida como segura (GRAS - *Generally recognized as safe*) (DÍAZ-REINOSO et al., 2006).

Um fluido submetido à pressão e temperatura acima de seu ponto crítico torna-se supercrítico. Várias propriedades dos fluidos são alteradas sob essas condições, tornando-se parecidas com as de alguns gases e líquidos. A densidade do fluido supercrítico (CO₂) é similar a dos líquidos (60 kg/m³ a 160 kg/m³), sua viscosidade assemelha-se a dos gases (1 x 10⁻⁵ kg/(m.s) a 3 x 10⁻⁵ kg/(m.s)) e sua capacidade de difusão é intermediária entre os dois estados: gases (de 0,1 x 10⁻⁴ m²/s à 0,4 x 10⁻⁴ m²/s) e líquidos (de 0,2 x 10⁻⁹ m²/s a 2 x 10⁻⁹ m²/s). Portanto, o estado supercrítico de fluidos pode ser definido como o estado no qual líquido e gás são indistinguíveis entre si (BRUNNER, 1994; RODRIGUES, 1996; DÍAZ-REINOSO et al., 2006; HERRERO, CIFUENTES e IBANEZ, 2006). Estas propriedades tornam altas as taxas de extração e rendimentos, uma vez que as altas massas específicas dos fluidos conferem grande poder de solvatação, enquanto os baixos valores de viscosidade combinados com valores de difusividade fornecem alto poder de penetração na matriz sólida (AGHEL et al., 2004; TSAO; DENG, 2004).

Os parâmetros na extração supercrítica são a vazão de solvente, tamanho de partícula de sólido e duração do processo. Outros fatores determinantes do processo de extração são o poder de solubilização e a seletividade do solvente com relação aos componentes de interesse e a capacidade de difusão destes no fluido. A seleção adequada destes parâmetros é fundamental para a otimização da extração dos compostos desejados em menor tempo (REVERCHON; DE MARCO, 2006).

Devido à sua baixa viscosidade e alta capacidade de difusão, os fluidos supercríticos apresentam propriedades de transporte melhores

que os líquidos. Podem se difundir facilmente através de materiais sólidos, resultando em melhores rendimentos nas extrações. O dióxido de carbono é o fluido mais utilizado devido a sua moderada temperatura (31,3 °C) e pressão crítica (72,9 atm), é gasoso em temperatura ambiente. Entretanto, o CO₂ supercrítico (pela baixa polaridade) é menos efetivo para a extração de compostos com maior polaridade em fontes naturais. Tal fato é superado com a adição de modificadores, também conhecidos como cossolventes (DEL VALLE e AGUILERA, 1999; RAVENTÓS, DUARTE e ALARCÓN, 2002).

O processo de extração supercrítica pode ser uma alternativa aos métodos convencionais de extração de carotenoides (BABU et al., 2008), podendo ser utilizado com o solvente supercrítico puro, normalmente CO₂ ou com adição de cossolvente.

A obtenção de compostos antioxidantes mediante extração com dióxido de carbono, sob condições críticas de pressão e temperatura constitui método moderno e eficiente. Algumas substâncias, como o etanol, podem ser utilizadas como cossolventes, melhorando o rendimento e a seletividade dos extratos (POKORNY e KORCZAK, 2001).

O CO₂ supercrítico é essencialmente um solvente apolar e seu poder de solvatação varia com a massa específica. Este solvente permite extrair grande variedade de compostos lipofílicos, como os carotenóides, dependendo da pressão aplicada (ARAÚJO, 1999). A solubilidade do soluto no fluido supercrítico aumenta com a pressão de operação a uma temperatura constante, devido ao aumento da massa específica do solvente, porém a seletividade do processo é diminuída (REVERCHON e DE MARCO, 2006).

O aumento da temperatura a uma pressão fixa reduz a massa específica do fluido supercrítico, reduzindo então a solubilidade; ao mesmo tempo aumenta a pressão de vapor dos compostos a serem extraídos, aumentando a tendência de estes compostos passarem para a fase fluida. Estes dois efeitos contrários resultam na inversão das isotermas de rendimento, fenômeno conhecido como retrogradação. Em pressões abaixo do ponto de inversão, o efeito dominante é o da massa específica do solvente. Porém, em pressões acima do ponto de inversão o efeito dominante é o da pressão de vapor do soluto cuja elevação com a temperatura resulta em aumento da solubilidade e, conseqüentemente, do rendimento da extração (CAMPOS et al., 2005; MICHIELIN et al., 2005).

2.5.3.1 Curva de Extração Supercrítica

A solubilidade de um soluto em um fluido supercrítico é um dado de equilíbrio que representa a máxima concentração de soluto na fase solvente, sendo obtida experimentalmente pelo método dinâmico, a partir da inclinação da etapa de taxa constante de extração. Assim, para a obtenção da solubilidade em processos de extração em leito fixo a vazão de solvente deve ser baixa de tal forma que permita a saturação do solvente com o soluto de interesse, e o extrator relativamente longo para que, durante o tempo de contato entre o soluto e solvente, o equilíbrio entre as fases seja alcançado (BRUNNER, 1994; FERREIRA et al., 1999).

As curvas de extração são construídas da massa de extrato acumulado em função do tempo de extração ou da massa de CO₂ consumido, ou ainda pelo rendimento de extração *versus* a razão massa de solvente por massa de amostra (MICHIELIN et al., 2005; KITZBERGER et al., 2009; MEZZOMO; MARTÍNEZ; FERREIRA, 2009). As curvas determinadas pela massa total de óleo extraído em função do tempo de extração são divididas em três etapas de acordo com a taxa de extração (BRUNNER, 1994; SOVOVÁ, 1994; FERREIRA et al., 1999; FERREIRA; MEIRELES, 2002; CAMPOS et al., 2005):

- a) Taxa de extração constante (CER), onde a superfície externa do sólido está completamente recoberta de soluto e a resistência à transferência de massa está na fase solvente;
- b) Taxa de extração decrescente (FER), onde aparecem falhas nas camadas superficiais de soluto que recobrem o sólido;
- c) Taxa de extração quase nula (Etapa difusional), onde a transferência de massa ocorre principalmente pela difusão do soluto no leito e dentro da partícula sólida.

A curva de extração supercrítica pode ser utilizada na determinação de parâmetros como: tempo de extração, caracterização das etapas de extração, determinação da solubilidade e modelagem da transferência de massa do sistema (SILVA, 2004). A modelagem da curva de extração permite a obtenção de informações relacionadas com a pressão, temperatura e vazão de solvente, que possibilitam o *design* e ampliação de escala dos processos de Extração supercrítica (PERRUT, 2000).

De acordo com Brunner (1994), as curvas de extração são obtidas através da seguinte relação:

$$m_{ext} = Q_{CO2} \int_0^{t_{Total}} Y(t) dt \quad (2.1)$$

Onde:

m_{extr} : massa de extrato obtida em kg;

Q_{CO2} : vazão de solvente em kg/h;

t: tempo em h;

Y(t): concentração de soluto na fase solvente em kg/kg.

2.6 Equipamento de alta pressão

O grande inconveniente da extração supercrítica reside na alta pressão necessária para a operação que requer equipamentos excessivamente caros, elevando o custo do produto final. Em contrapartida vantagens como, por exemplo, a alta pureza dos extratos e a grande eficiência do processo podem torná-la viável para aplicação em alimentos (HERRERO, CIFUENTES; IBANEZ, 2006).

Durante o processo de extração, o solvente supercrítico flui através de um extrator com o leito fixo de partículas sólidas e solubiliza os componentes passíveis de extração do sólido. O esgotamento do sólido ocorre na direção do escoamento, enquanto a massa de extrato na fase solvente aumenta na mesma direção. O solvente sai do extrator, carregando os compostos solubilizados, e passa através de uma válvula de expansão, onde o extrato é liberado do meio gasoso devido à menor pressão e coletado (PELLERIN, 1991; BRUNNER, 1994; REVERCHON; DE MARCO, 2006).

2.7 Ampliação de escala

A partir de experimentos de extração supercrítica realizados em laboratório, é possível prever o desempenho do processo em escala maior, ou seja, em escala industrial. Com os dados obtidos no laboratório, ou seja, em escala pequena, são definidas as condições ótimas de extração mediante avaliação de diferentes pressões, temperaturas e vazões de solventes assim como o rendimento e qualidade dos extratos (CLAVIER; PERRUT, 2004). Com estas informações, é feito o estudo que serve de parâmetro para reproduzir em

um equipamento de maiores dimensões, ou seja, em escala maior, os resultados obtidos com sucesso na escala menor.

Casas et al., (2009) comentam que na extração supercrítica antes de uma aplicação industrial é muito importante utilizar um modelo cinético que permite a previsão de curvas em escala de extração, utilizando os parâmetros do modelo ajustado a experimentos de pequena escala. O grande desafio do aumento de escala é a escolha dos critérios, condições e parâmetros de ampliação, para reproduzir em grande escala e avaliar a viabilidade técnica e econômica desse processo (MARTÍNEZ et al., 2007).

A ampliação do processo está sujeita à avaliação do mecanismo de transferência de massa envolvido na extração (CLAVIER; PERRUT, 2004). E, de acordo com Ferreira et al. (1999), o conhecimento das propriedades termodinâmicas, como solubilidade e seletividade, e das propriedades de transporte, como taxa de transferência de massa, é fundamental para o projeto e ampliação da escala de processos a alta pressão. A solubilidade é um parâmetro de grande relevância na determinação das condições de operação enquanto que a seletividade permite a obtenção de informações sobre qualidade e composição dos extratos.

2.8 Projeto e construção de uma unidade de Extração Supercrítica

2.8.1 Componente da unidade de extração a alta pressão

A utilização do fluido supercrítico, até o início da década de 1980, era limitada devido às dificuldades em operar com segurança os equipamentos em temperaturas e pressões elevadas (MELECCHI, 2005).

A necessidade de regulamentar o projeto e a construção de vasos de pressão se fez sentir já nos primórdios do século XIX, como consequência principalmente das frequentes explosões de caldeiras (vasos sob pressão com funcionamento através de uma fonte de aquecimento), que ocorriam nesta época, na qual se iniciava a Revolução Industrial com o uso intensivo de máquina a vapor. Outro fato histórico que aconteceu em Londres no ano de 1915 foi uma explosão catastrófica, que deu origem a uma investigação, pelo parlamento britânico, concluindo que o acidente deveu-se à má construção, a materiais não adequados e à pressão excessiva. Mais tarde com todas estas exigências e preocupação em relação à segurança,

houve grande e importante avanço tecnológico na época. (TELLES, 1996).

Dentre os itens que fazem parte da unidade de extração supercrítica, a coluna de extração ou vaso de pressão é o componente que precisa de uma atenção especial em relação à segurança na sua fabricação e funcionamento. A coluna contém internamente o soluto (matéria-prima) e o solvente, e funciona a alta pressão, sendo o seu dimensionamento e operação baseados nos procedimentos de normas nacionais e internacionais de segurança.

2.8.2 Normas de projeto e de segurança

As Normas Regulamentadoras – NR estão relacionadas à segurança e medicina do trabalho, são de observância obrigatória pelas empresas privadas e públicas e pelos órgãos públicos da administração direta e indireta, bem como pelos órgãos dos Poderes Legislativo e Judiciário, que possuam empregados regidos pela Consolidação das Leis do Trabalho - CLT. (M.T.E, 2014)

De acordo com o Ministério do Trabalho e Emprego (M.T.E., 2014) existe um total de 36 NRs, e as disposições contidas nelas aplicam-se, no que couber, aos trabalhadores avulsos, às entidades ou empresas que lhes tomem o serviço e aos sindicatos representativos das respectivas categorias profissionais e existem órgãos de âmbito nacional competente para coordenar, orientar, controlar e supervisionar as atividades relacionadas com a segurança e medicina do trabalho, inclusive elaborando campanha de prevenção de acidentes do trabalho.

2.8.2.1 Norma Regulamentadora (NR) n° 13

Dentre as NRs do Ministério do Trabalho e Emprego, a que está relacionada com a segurança de equipamento a alta pressão é a Norma Regulamentadora n.º 13. Esta norma abrange Caldeiras, Vasos de Pressão e Tubulações e foi publicada na portaria n° 3.214 de 08/06/1978, sendo a última alteração/atualização na Portaria MTE n.º 594, de 28 de abril de 2014 da Secretaria de Inspeção do Trabalho no Departamento de Segurança e Saúde no Trabalho (DSST).

A NR-13 estabelece requisitos mínimos para gestão da integridade dos equipamentos já citados nos aspectos relacionados à instalação, inspeção, operação e manutenção, visando à segurança e saúde dos trabalhadores. De acordo com o M.T.E., constitui condição de risco grave e iminente o não cumprimento de qualquer item previsto na

NR que possa causar acidente ou doença relacionada ao trabalho, com lesão grave à integridade física do trabalhador.

2.8.2.2 Principais subitens da NR 13

A NR-13 exige que todo vaso de pressão deve possuir, no estabelecimento onde estiver instalado, a seguinte documentação devidamente atualizada:

- a) Prontuário do vaso de pressão: contendo código de projeto e ano de edição; Especificação dos materiais; Procedimentos utilizados na fabricação, montagem e inspeção final e determinação da PMTA; Conjunto de desenhos e demais dados necessários para o monitoramento da sua vida útil; Pressão máxima de operação; Registros documentais do teste hidrostático; Características funcionais; Dados dos dispositivos de segurança; Ano de fabricação; Categoria do vaso.
- b) Registro de Segurança: Deve ser constituído por livro de páginas numeradas, pastas ou sistema informatizado com confiabilidade equivalente onde serão registradas todas as ocorrências importantes capazes de influir nas condições de segurança dos vasos;
- c) Projeto de instalação: Deve conter pelo menos a planta baixa do estabelecimento, com o posicionamento e a categoria de cada vaso e das instalações de segurança.
- d) Projeto de alteração ou reparo: Devem ser concebidos previamente nas seguintes situações: Sempre que as condições de projeto forem modificadas ou forem realizados reparos que possam comprometer a segurança.
- e) Relatório de inspeção, em páginas numeradas: Deve conter no mínimo a identificação do vaso de pressão; Fluidos de serviço e categoria do vaso de pressão; Tipo do vaso de pressão; Data de início e término da inspeção; Tipo de inspeção executada; Descrição dos exames e testes executados; Parecer conclusivo quanto à integridade do vaso de pressão até a próxima inspeção;

Recomendações e providências necessárias; Data prevista para a próxima inspeção;

2.8.2.3 Classificação dos vasos de pressão

a) Classe de Fluido

De acordo com a NR 13, os vasos de pressão são classificados em categorias (Tabela 2.4) segundo a classe de fluido (Tabela 2.2) e o potencial de risco (Tabela 2.3) conforme descrito a seguir:

Tabela 2.2: Classe de fluido

Classes	Tipo de Fluido
Classe A:	Fluidos inflamáveis; Combustível com temperatura superior ou igual a 200 °C; Fluidos tóxicos com limite de tolerância igual ou inferior a 20 (vinte) partes por milhão (ppm); Hidrogênio; Acetileno
Classe B:	Fluidos combustíveis com temperatura inferior a 200 °C; Fluidos tóxicos com limite de tolerância superior a 20 (vinte) partes por milhão (ppm);
Classe C:	Vapor de água, gases asfixiantes simples ou ar comprimido;
Classe D:	Outro fluido não enquadrado acima.

Fonte: NR-13 do MTE, 2014.

b) Grupo potencial de risco do fluido

O potencial de risco é definido em função do produto P.V, onde P é a pressão máxima de operação em MPa e V o seu volume em m³:

Tabela 2.3: Grupo potencial de risco do fluido

Grupos	Relação P.V
Grupo 1:	$P.V \geq 100$
Grupo 2:	$P.V < 100$ e $PV \geq 30$
Grupo 3:	$P.V < 30$ e $PV \geq 2,5$
Grupo 4:	$P.V < 2,5$ e $PV \geq 1$
Grupo 5:	$P.V < 1$

Fonte: NR-13 do MTE, 2014.

c) Categoria de Vaso de Pressão

Tabela 2.4: Categoria do vaso de pressão

Classe de Fluido	Grupo de Potencial de Risco				
	1	2	3	4	5
		P.V < 100 ou P.V ≥ 30	P.V < 30 ou P.V ≥ 2,5	P.V < 2,5 ou P.V ≥ 1	P.V < 1
Categorias					
A					
Fluido inflamável, combustível com temperatura ≥ 200 °C; Tóxico com limite de tolerância ≤ 20 ppm; Hidrogênio; Acetileno	I	I	II	III	III
B					
Combustível com temperatura < 200 °C; Tóxico com limite de tolerância > 20 ppm.	I	II	III	IV	IV
C					
Vapor de água; Gases asfixiantes simples e Ar comprimido	I	II	III	IV	V
D					
Outro fluido	II	III	IV	V	V

Fonte: NR-13 do MTE, 2014.

2.8.2.4 Dispositivo de segurança de acordo com a NR 13

De acordo com a NR-13 os vasos de pressão devem ser dotados dos seguintes itens:

- a) Válvula ou outro dispositivo de segurança com pressão de abertura ajustada em valor igual ou inferior à PMTA;
- b) Dispositivo de segurança contra bloqueio inadvertido da válvula quando este não estiver instalado diretamente no vaso;
- c) Instrumento que indique a pressão de operação, instalado diretamente no vaso ou no sistema que o contenha.

2.8.3 Norma de projeto: Código ASME

Muitas associações de engenharia e agências governamentais desenvolveram normas para áreas específicas de projeto de engenharia. A maior parte delas são recomendações, mas algumas têm a força da lei (NORTON, 2004). A norma que oferece orientações e recomendações para caldeiras a vapor (*Power Boilers*) e vasos sob pressão (*Pressure Vessels*) é o código ASME (*American Society of Mechanical Engineers - Sociedade Americana de Engenheiros Mecânicos*). Este código abrange critérios como fórmulas de cálculos, exigências de detalhes de projeto, fabricação, montagem, inspeção de vasos de pressão e limitações referentes a materiais. Tudo isso visa garantir condições mínimas de segurança contra acidentes na fabricação, montagem e operação do equipamento (TELLES, 1996).

O código ASME é dividido em seções. Dentre elas, a exclusiva para Vasos de Pressão (*Pressure Vessels*) é a Seção VIII. Esta, por sua vez, é dividida em duas: Divisão 1- Regras de Projeto Padrão; Divisão 2- Regras de Projeto alternativo.

A Seção VIII Divisão 1 é organizada em subseções (A - Requisitos Gerais; B - Requisitos pertinentes aos Métodos de fabricação e C - Requisitos pertinentes às Classes de Materiais). Por sua vez cada uma delas é dividida em Partes. Dentre todas elas na subseção A, a “Parte-UG” (Requisitos Gerais para todos os Métodos de Fabricação e todos os Materiais) merece maior atenção, pois são requisitos gerais aplicáveis a todos os vasos de pressão e a todos os componentes do vaso, devendo até ser usada em conjunto com os requisitos específicos prescrito nas subseções B e C (ASME,1986).

2.8.3.1 Dimensionamento do cilindro ou costado do vaso de pressão de acordo com o Código ASME

Para o dimensionamento são consideradas separadamente todas as resistências à pressão interna dos cascos (paredes) cilíndricos e dos tampos do vaso de acordo com o código ASME, Seção VIII, Divisão I. Este código é mais aceito universalmente para construção de vasos de pressão.

De acordo com o Parágrafo UG-27 do código ASME, Seção VIII, Divisão I a espessura dos cascos sujeitos à pressão interna não deve ser menor do que a espessura calculada pelas equações das tensões (2.2, 2.3 e 2.4). A direção das tensões circunferencial e longitudinal do vaso de pressão estão indicadas na Figura 2.6. Os símbolos utilizados nas equações das tensões estão definidos na Tabela 2.5.

Tabela 2.5: Símbolos utilizados nas equações 2.2, 2.3 e 2.4 das tensões

Símbolo	Definição
e	Espessura mínima requerida
P	Pressão interna de projeto ou pressão máxima de trabalho admissível
R	Raio interno do cilindro
σ_{adm}	Tensão admissível do material
E	Coefficiente de eficiência da solda
d	Diâmetro interno
N	Fator adimensional depende do tipo de tampo e do sistema de fixação ao casco (parede)

Fonte: ASME, 1986.

a) Tensão circunferencial (junta longitudinal)

Para esses cascos dos tubos/cilindros, quando a espessura não exceder a metade do raio interno ou quando P não exceder o valor $0,385\zeta_{Adm}E$ e de acordo com o parágrafo UG-27 do código ASME a equação da espessura mínima necessária é definida:

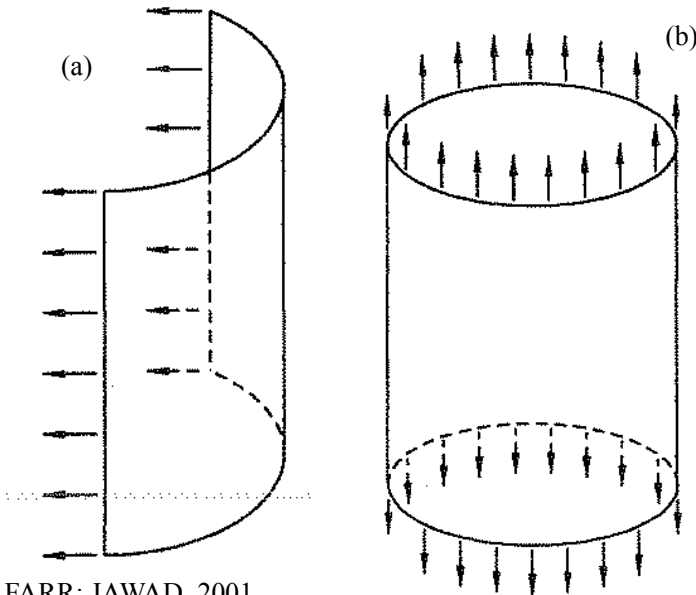
$$e = \frac{P \times R}{\sigma_{adm} \times E - 0,6 \times P} \quad (2.2)$$

b) Tensão longitudinal (junta circumferencial)

Quando a espessura não exceder a metade do raio interno ou quando P não exceder o valor $1,25\zeta_{Adm}E$. e de acordo com o parágrafo UG-27 do código ASME a equação da espessura mínima necessária é definida:

$$e = \frac{P \times R}{2 \times \sigma_{adm} \times E + 0,4 \times P} \quad (2.3)$$

Figura 2.6: Tensões na parede do vaso de pressão: Circunferencial (a); Longitudinal (b).



Fonte: FARR; JAWAD, 2001.

c) Tensão nos tampos planos circulares

A equação para o cálculo da espessura é definida de acordo com o parágrafo UG-34 do código ASME:

$$e = d \times \sqrt{\frac{N \times P}{\sigma_{Adm}}} \quad (2.4)$$

2.8.3.2 Tensões de cisalhamento em rosca

Rosca, pela norma NBR 5876, é uma superfície composta, gerada por um ou mais perfis, quando todos os seus pontos descrevem hélices (rosca cilíndricas) ou espirais cônicas (rosca cônicas) coaxiais e de mesmo passo (STEMMER, 2008).

De acordo com Stemmer (2008) as roscas são usadas intensivamente em numerosos elementos de máquinas e são classificados como roscas de fixação como as usadas em parafusos, porcas, hastes roscadas e dentre outros ou rosca de movimento para transmitir potência e movimento.

A união por elementos rosqueáveis tem a vantagem quanto à facilidade de separação das partes em uniões provisórias ou desmontáveis quando permitem a desmontagem e montagem com facilidade sem danificar as peças componentes.

Quando uma porca engaja um parafuso, teoricamente todos os filetes de rosca devem compartilhar a carga. Um possível modo de falha por cisalhamento envolve o rasgamento de filetes de rosca tanto por porca quanto por parafuso (NORTON, 2004).

De acordo com Norton (2004), a área de cisalhamento de rasgamento para um filete de rosca é a área do cilindro do seu diâmetro que está representado na Equação 2.5 e cujos símbolos estão definidos na Tabela 2.6. É necessário definir na Tabela 2.7 o fator de área de acordo com o tipo de rosca escolhido para ser utilizado na Equação 2.5. Com o resultado da área de cisalhamento é realizado o cálculo da tensão de cisalhamento na rosca de acordo com a Equação 2.6.

Área de cisalhamento de rasgamento para um filete de rosca:

$$A_S = \pi \times d \times w \times p \quad (2.5)$$

A tensão de cisalhamento para rasgamento de rosca é calculada por:

$$\tau_S = \frac{F}{A_S} \quad (2.6)$$

Tabela 2.6: Símbolos utilizados nas equações de cisalhamento de rosca.

Símbolo	Definição
p	Passo de rosca
w	Fator tabelado que define a porcentagem do passo ocupado pelo metal no diâmetro
d	Diâmetro

Fonte: NORTON, 2004.

Tabela 2.7: Fatores de área para área de cisalhamento por corte de roscas

Tipo de rosca	W_i (menor)	W_0 (maior)
UNS/ISSO	0,80	0,88
Quadrada	0,50	0,50
Acme	0,77	0,63
Botaréu	0,90	0,83

Fonte: NORTON, 2004.

Na Tabela 2.8 é definido o número mínimo de fios de rosca necessário e a espessura mínima da chapa de acordo com o diâmetro da conexão tubular em polegadas (pol.) escolhido para o dimensionamento.

Tabela 2.8: Número mínimo de fios de rosca para fixação de conexões tubulares roscadas de acordo com a UG-43 do código ASME.

Bitola da conexão tubular NPS (pol.)	$\frac{1}{2}$ e $\frac{3}{4}$	$1,1 \frac{1}{4}$ e $1 \frac{1}{2}$	2	$2 \frac{1}{2}$ e 3
Nº de fios de rosca utilizados na fixação	6	7	8	8
Espessura mínima requerida da chapa, mm	11	16	18	25

Fonte: NORTON, 2004.

2.8.3.3 Pressão Máxima de Trabalho Admissível e Teste Hidrostático

De acordo com os parágrafos UG-98 e UG-99 do código ASME os valores os valores da pressão máxima de trabalho admissível (PMTA) e do teste hidrostático (TH) são determinado através dos seguintes cálculos:

Pressão Máxima de Trabalho Admissível (PMTA)

$$P_{PMTA} = P_{proj} = 1,1 \times P_{max.oper} \quad (2.7)$$

Pressão de Teste Hidrostático (TH)

$$P_{TH} = 1,3 \times P_{PMTA} \quad (2.8)$$

2.8.4 Dimensionamento da coluna de extração da ESC

Em uma unidade de extração supercrítica o extrator opera em condições de alta pressão. Desta forma, para o dimensionamento de um extrator supercrítico são feitos cálculos de espessura de parede do cilindro realizados de acordo com o código internacional ASME (*American Society of Mechanical Engineers*). Em relação à segurança de operação e instalação do equipamento, no Brasil é obrigatório por lei que os vasos de pressão obedeçam ao prescrito na norma NR-13, da Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT).

Diferentemente do que acontecem com a fabricação de máquinas, veículos, objetos e outros, de acordo com Telles (1996), há vasos de pressão projetados e construídos por encomenda, sob medida, para atenderem, em cada caso, a determinados requisitos e especificações, sendo bastante raros os casos em que estes equipamentos sejam padronizados de linha de produção de algum fabricante.

2.8.5 Definição dos dados gerais do projeto

A definição dos dados gerais de projeto consiste na informação de uma série de dados relativos às condições locais, e na definição de pontos que envolvem decisão ou preferência do usuário. Todas essas informações irão servir de base para o desenvolvimento do projeto da instalação onde ficará o equipamento. A etapa do projeto consiste na determinação ou cálculos dos dados relativos ao desempenho operacional do vaso, dados esses que normalmente figuram nos fluxogramas de processo referente à instalação da qual o vaso faz parte (TELLES, 1996). De acordo com Telles (1996) os dados incluem:

- a) Tipo geral de vaso de pressão: vaso de armazenamento
- b) Vazão, temperatura e pressão de todas as correntes fluidas que entram ou que saem do equipamento (valores de regime e valores máximos e mínimos possíveis de ocorrer).
- c) Temperatura e pressão de operação do equipamento
- d) Volume armazenado, ou tempo de resistência necessário
- e) Temperatura, viscosidade e massa molecular do fluido

2.9 Estado da Arte

De acordo com a revisão apresentada neste documento, uma grande contribuição está reservada para a área alimentícia na obtenção de produtos naturais a partir de subprodutos da indústria alimentícia. Isto exige cada vez mais um detalhamento nos projetos de unidades de extração supercrítica que atendam às normas de segurança, mantendo bom desempenho e qualidade.

As técnicas de extração a baixa pressão utilizam grandes quantidades de solventes e/ou não possuem controle adequado no processo de extração. Em contrapartida, a tecnologia supercrítica aplicada à extração apresenta inúmeras vantagens quanto à qualidade dos extratos, permitindo o controle efetivo das propriedades de interesse a partir de intensa investigação a respeito das variáveis envolvidas (MEZZOMO, 2012).

No caso da extração supercrítica, estudos relacionados à obtenção de compostos de interesse para a indústria de fármacos, alimentos e cosmética, vêm sendo intensamente publicados na literatura, com aplicações industriais já consolidadas. Em contrapartida, investigações envolvendo resíduos de processamento de alimentos com objetivo de agregar valor a um subproduto vêm se desenvolvendo na última década e são de grande interesse para a indústria de alimentos. (VARONA et al., 2010).

A utilização das extrações convencionais a baixa pressão e principalmente com fluidos supercríticos como solventes a alta pressão para extração de compostos a partir do resíduo do processamento de alimentos como a casca de manga, terá a vantagem de otimizar o processo extrativo em função de suas variáveis operacionais, obtenção de parâmetros para uso em previsão do processo em escalas maiores, bem como uma estimativa dos custos do processo, é de grande interesse para a comunidade científica e industrial, podendo ser um processo atraente quanto à qualidade do produto final. Da mesma forma, mostram-se uma tecnologia interessante, pelos fatores de qualidade e de segurança ambiental envolvidos, garantindo suas funcionalidades, aplicações e ao mesmo tempo aproveitando os resíduos gerados na agroindústria, evitando prejuízos ao meio ambiente e à população. Na literatura não há um estudo aprofundado utilizando a extração supercrítica na casca de manga da variedade Tommy Atkins produzida no Nordeste do Brasil.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Obtenção da matéria-prima

A manga Tommy Atkins foi fornecida nos meses de Dezembro de 2012 a Maio de 2013 em diferentes lotes por alguns produtores de fruta da região do submédio do Vale do São Francisco no município de Petrolina-PE, localizada a 9° 34" de latitude sul, 40° 26" de longitude oeste e altitude de 375 m, onde o clima é do tipo semiárido (FONSECA et al., 2005).

As frutas foram coletadas em dias de produção diferentes e misturadas com a finalidade de obter uma amostragem representativa e que abrangesse a composição média do resíduo de processo da manga, uma vez que ocorrem variações na composição dos frutos colhidos em função da época do ano e da região de plantio. As frutas foram lavadas, enxugadas e depois retiradas as suas cascas.

3.2 Preparo da matéria-prima

A separação da casca e polpa da manga foi realizada manualmente, com o auxílio de faca de cozinha. As fatias foram cortadas em tiras com medida de espessura variando de $1,787 \pm 0,002$ a $3,546 \pm 0,005$ mm, mensurada por micrômetro externo digital (INSIZE, capacidade 0-25mm/0-1", resolução 0,001mm/0,00005", Belenzinho, São Paulo/SP).

As amostras das cascas de manga foram secas de duas formas: secagem natural ao ar livre e secagem artificial por estufa com circulação forçada de ar.

A secagem natural foi realizada na cidade de Petrolina-PE com ventilação e temperatura ambiente. De acordo com o Climatempo (<http://www.climatempo.com.br/>) Petrolina-PE apresenta valores médios de velocidade do vento Sul-Sudeste (SSE) 14 a 25 km/h, temperatura 23 a 36 °C e umidade relativa do ar entre 30 a 80%. A secagem natural foi realizada nos meses de dezembro de 2012 a março de 2013 durante o período médio de 7 dias e, de acordo ao recomendado por Simões et al. (2010), esta secagem foi realizada preferencialmente à sombra para evitar que a radiação solar altere a constituição química do material e em local limpo, isento de insetos e convenientemente seco disposto sobre papel toalha para a absorção da umidade.

A secagem por estufa foi realizada entre os meses de fevereiro a junho de 2013. As amostras foram secas no equipamento (Desidratador

Pardal PE 30, 220V, 900W, Petrópolis/RJ) com circulação forçada de ar a temperatura de aproximadamente 40 °C durante 24 horas no Laboratório Experimental de Alimentos (LEA) do IF Sertão-PE.

As cascas secas por secagem natural e por estufa foram separadas em porções, colocadas em sacos de polietileno selados, revestidos em papel alumínio, identificadas e acondicionadas em refrigerador doméstico (Electrolux *Frost Free* DWX 50, Curitiba/PR) a 3 °C até o transporte e chegada à UFSC na cidade de Florianópolis-SC.

As cascas secas foram recebidas no LATESC/UFSC, foram moídas em um moinho de facas (De Leo, tipo *Willey* EDB 5, 1/3 HP, Bento Gonçalves/RS) e submetidas à separação e classificação granulométrica em agitador de peneiras (Bertel Indústria Metalúrgica Ltda., Caieiras/SP, Brasil), com a finalidade de fracionar a matéria-prima em diferentes tamanhos de partícula para determinar o diâmetro médio das partículas. Pesaram-se cerca de 100 g de amostra em balança semi-analítica (BG 2000, Gehaka Ind. e Com. de Eletroeletrônicos Ltda., São Paulo/SP, Brasil), com precisão de duas casas decimais de grama, para cada batelada e, utilizando as peneiras da série *Tyler* de *mesh* 6, 16, 20, 25, 32, 48 e fundo, o conjunto foi agitado por 30 minutos.

Após a separação granulométrica, a matéria-prima foi acondicionada em embalagens plásticas identificadas, e mantida congelada, em *freezer* doméstico (*Freezer* 260, Brastemp, São Paulo/SP), a -18 °C até a realização dos experimentos.

3.3 Determinação do teor de umidade e substâncias voláteis da matéria-prima *in natura* e seca

O teor de umidade e substâncias voláteis da casca de manga após a secagem foi determinado baseado no método n° 925.09 da AOAC (2005).

Foram utilizadas cápsulas de alumínio inicialmente vazias e aquecidas em estufa (E.L. 003, Odontobrás, Ribeirão Preto/SP) por um período de 1h a 105 °C, sendo retiradas as cápsulas da estufa depois deste tempo e resfriadas em um dessecador até ficarem a temperatura ambiente para serem medidas as suas massas iniciais. Depois desta etapa foram adicionados 5g de casca de manga nas cápsulas e novamente aquecida, em estufa a mesma temperatura de 105 °C por mais 3 h. O processo seguia retirando as cápsulas e resfriando-as em dessecador até temperatura ambiente e depois pesando-as em balança. Repetiram-se estas operações de aquecimento, resfriamento e pesagem da amostra em

intervalos de duas horas, até a massa da matéria prima não perder umidade, ou seja, ficar constante. A umidade das amostras da casca de manga foi calculada através da Equação (3.1):

$$\text{Teor de umidade e voláteis (\%)} = \frac{m_i - m_f}{m_i} \times 100\% \quad (3.1)$$

Onde:

m_i é a massa inicial da amostra (g) e m_f é a massa final da amostra (g).

O teor de umidade da amostra da casca de manga foi realizado em triplicata e os resultados expressos como média \pm desvio padrão.

3.4 Técnicas de extração a baixa pressão

Os processos de extração a baixa pressão da casca de manga foram realizados através da extração com solvente orgânico. Estas técnicas são empregadas para avaliar o rendimento do processo e qualidade dos extratos, representados pela composição, Teor de Fenólicos Totais (TFT) e Atividade Antioxidante (AA), comparando com os resultados obtidos através da extração supercrítica. As extrações a baixa pressão foram realizadas em duplicata.

Os solventes utilizados nas extrações a baixa pressão foram o etanol P.A. (EtOH), por ser utilizado comumente nas indústrias de alimentos; hexano P.A. (Hx), por apresentar polaridade nula e por isto ser comparado ao CO₂ supercrítico; acetato de etila P.A. (EtAc), por apresentar bons resultados na literatura na extração de compostos fenólicos (MEZZOMO, 2008). A extração com solvente orgânico foi realizada através dos métodos Soxhlet, maceração e ultrassom. A Tabela 3.1 apresenta o índice de polaridade destes solventes.

Tabela 3.1: Índice de polaridade de solventes utilizados nos processos de extrações a baixa pressão.

Solventes	Índice de polaridade
Etanol	5,2
Hexano	0
Acetato de Etila	4,4

Fonte: BYERS, 2007.

3.4.1 Extração por sistema Soxhlet

O sistema Soxhlet consiste em um extrator que é acoplado na extremidade inferior a um balão volumétrico e na extremidade superior a um condensador arrefecido por um banho. Esta extração foi realizada de acordo com o descrito pelo Instituto Adolfo Lutz (BRASIL, 2005) no Laboratório LATESC/UFSC. Neste processo foram utilizados 150 mL do solvente selecionado, o qual foi acondicionado no balão volumétrico de fundo redondo com capacidade de 250 mL e aquecido através de uma manta de aquecimento na temperatura de ebulição do solvente utilizado. De acordo com o método 920.39C da AOAC (2005), para cada extração foram utilizadas 5 g de amostra da casca de manga moída, que eram pesadas em balança analítica, com precisão de um décimo de miligrama, envolvidos em um cartucho de papel filtro que foi inserido no extrator.

Em todas as extrações com Soxhlet, manteve-se a proporção amostra-solvente igual à 1:30 (m/v), utilizando-se novo solvente a cada procedimento. Com a evaporação do solvente, este último entra no condensador e volta à forma líquida, entrando em contato com a amostra e ocorrendo a extração dos compostos solúveis. Quando a mistura soluto/solvente preenche o sifão, este é esvaziado, retornando ao balão onde é novamente aquecido e o processo é repetido. O tempo total da extração é de 6 h.

As extrações foram realizadas no mínimo em duplicata e os extratos brutos obtidos foram mantidos em refrigerador doméstico a 3 °C até o processo de eliminação do solvente, como descrito na seção 3.4.4.

3.4.2 Extração por Maceração

O método de maceração consiste em uma extração da matéria-prima a temperatura ambiente, utilizando solvente orgânico. O procedimento foi realizado no LATESC no mínimo em duplicata, de acordo ao recomendado por Sachindra et al. (2006) foram acondicionados 25 g de matéria-prima pré-tratada em um balão de fundo chato e adicionados 100 mL de solvente. A mistura da matéria-prima com o solvente foi mantida protegida ao abrigo da luz por um período de 5 dias a temperatura ambiente e com agitação manual uma vez ao dia. A separação da amostra e extrato foi realizada através da filtração com auxílio de bomba de vácuo em funil de Büchner com papel-filtro (filtro qualitativo, J. Prolab 80 g com diâmetro de 12,5 cm, abertura dos poros de 14 µm e espessura de 205 µm), sendo o filtrado recolhido em um

Kitasato. Os extratos brutos obtidos foram mantidos em refrigerador doméstico a 3 °C até ser realizado o processo de eliminação dos solventes descrito na seção 3.4.4.

Para se obter massa da fração bruta de maceração para a avaliação da qualidade do extrato foram realizadas extrações com quantidades de amostra e solvente, mantendo na proporção de 1:4 (m/v).

3.4.3 Extração assistida por Ultrassom

A extração assistida por ultrassom foi realizada no mínimo em duplicata e adaptada de Gu et al. (2008) no LATESC. O método assistido por ultrassom consiste em uma extração da matéria-prima a temperatura ambiente no qual foi adicionado 5 g de matéria-prima pré-tratada a 150 mL de solvente orgânico em um balão de 250 mL. O balão foi conectado, em sua parte superior, a um condensador de bolas interligado a um banho refrigerado. O balão com a solução foi mergulhado em um banho e submetido ao tratamento indireto em ultrassom com o uso de uma lavadora ultrassônica (USC-700/55 kHz, Unique Ind. e Com. de Produtos Eletrônicos Ltda., Indaiatuba/SP, Brasil) pelo tempo de extração de 60 min. Após a extração, solução de extrato foi separada da matriz à temperatura ambiente através da filtração com auxílio de bomba de vácuo em funil de Büchner com papel-filtro (filtro qualitativo, J.Prolab 80g com diâmetro de 12,5 cm, abertura dos poros de 14 µm e espessura de 205 µm), sendo o filtrado recolhido em *Kitasato*.

Os extratos obtidos foram mantidos em refrigerador doméstico a 3 °C até ser realizado o processo de eliminação dos solventes, descrito na seção 3.4.4.

3.4.4 Tratamento dos extratos e eliminação dos solventes

A separação do solvente do extrato é feita usando o dispositivo chamado rota- evaporador. Durante a evaporação, o frasco com a amostra é colocado em rotação e imerso em um banho de água aquecido. O dispositivo é equipado com um condensador ligado ao banho de arrefecimento. A rotação do frasco cria uma superfície de troca por causa da maior mistura, permitindo assim realizar a evaporação rápida.

As misturas (solventes + extratos) obtidos da através da extração por sistema Soxhlet, maceração e ultrassom foram evaporados em rota- evaporador (modelo 801, Fisatom, São Paulo/SP, Brasil) funcionando

com rotação de 60 rpm, sob controle de vácuo (NT 613, Nova Técnica Piracicaba/SP, Brasil) com valor médio de – 650 mmHg e arrefecimento (MQBTZ99-20, Microquímica Ind. Com. e Repr. Ltda., Palhoça/SC, Brasil). As temperaturas de evaporação foram ajustadas para valores inferiores aos pontos de ebulição dos solventes utilizados, para evitar alterações do extrato devido à aplicação de calor. As massas de extrato seco foram medidas em balança analítica de precisão de 0,0001 (AY220, SHIMADZU do Brasil Ltda., São Paulo/SP, Brasil). O rendimento foi calculado em termos de massa de casca de manga utilizada e os resultados expressos em b.s. como média \pm desvio padrão. Os frascos âmbar coletores foram previamente pesados vazios e depois adicionados a mistura da amostra e solvente. Após a eliminação do solvente, os extratos obtidos ficam acondicionados nos frascos âmbar, passado por um processo de inertização, ou seja, a injeção de nitrogênio gasoso a fim de substituir atmosfera local por outra inerte, diminuindo assim o produto de contaminação e degradação. Os frascos com extratos foram pesados para obter a massa de extrato e depois armazenados no freezer doméstico a -18 °C até a realização das análises de caracterização.

3.5 Caracterização do leite de partículas na extração supercrítica

De acordo com Mezzomo (2008), a caracterização do leite de partículas na extração supercrítica é fundamental para a compreensão da cinética do processo. Parâmetros como o diâmetro das partículas utilizadas na formação do leite, massa específica do sólido e a porosidade do leite influenciam diretamente no processo.

3.5.1 Determinação do diâmetro médio de partículas

De acordo com o apresentado por Gomide et al. (1983) foi realizado o cálculo do diâmetro médio da partícula. Pesaram-se 100 g de amostra em balança com precisão de 0,01 g, utilizando as peneiras de 06 a 48 *Mesh* e agitado por um tempo médio de 30 minutos. As massas retidas sobre cada peneira também foram pesadas na mesma balança para o cálculo do diâmetro médio de partícula, conforme as Equações 3.2 e 3.3.

$$\overline{d}_s = \sqrt{\frac{\sum_1^n \frac{\Delta l_i}{d_i}}{\sum_1^n \frac{\Delta l_i}{d_i^3}}} \quad (3.2)$$

$$\Delta l_i = \frac{m_i}{M} \quad (3.3)$$

Onde:

\overline{d}_s = diâmetro médio superficial das partículas (cm);

m_i = massa de amostra retida na peneira i (g);

M = massa total de amostra (g);

\overline{d}_i = diâmetro médio /abertura das malhas da peneira i (cm);

n = número total de frações.

3.5.2 Determinação da massa específica aparente (ρ_a)

A determinação da massa específica aparente (ρ_a) das partículas da casca de manga foi calculada através da relação entre a massa de amostra utilizada nas extrações pelo volume do leito de acordo com a Equação 3.4, incluindo assim apenas os poros do leito e não os poros do interior das partículas.

$$\rho_a = \frac{m_{\text{amostra}}}{V_{\text{leito}}} \quad (3.4)$$

Onde:

ρ_a = massa específica aparente (g/cm³);

m_{amostra} = massa de amostra utilizada (g);

V_{leito} = volume ocupado pelo leito (cm³);

A massa de amostra utilizada (m_{amostra}) foi medida na balança com precisão de 0,0001 g, e o volume ocupado pelo leito (V_{leito}) foi calculado através das medidas de altura e diâmetro do extrator com o uso de um paquímetro, com precisão de 0,02 mm.

3.5.3 Determinação da massa específica real (ρ_r)

A determinação da massa específica real (ρ_r) da amostra de casca de manga foi realizada no LATESC utilizando o método de picnometria com gás hélio através do equipamento AccuPyc II 1340 da Micromeritics.

O gás hélio penetra nos poros da matriz vegetal devido a sua baixa tensão superficial sem alterar as características das partículas. Esta última só aconteceria se fosse utilizada a água como fluido picnométrico. Com isso, a massa específica foi determinada através desta técnica utilizando o gás hélio devido à exatidão no resultado (CAMPOS et al., 2005).

3.5.4 Porosidade do leito (ϵ)

O cálculo da porosidade do leito (ϵ) de extração é determinado através da relação entre a massa específica aparente e real da amostra da casca de manga, incluindo os poros do leito e do interior das partículas. O leito de partículas foi formado utilizando algumas gramas de amostra da casca seca e moída. A porosidade é calculada através da Equação 3.5.

$$\epsilon = 1 - \frac{\rho_a}{\rho_r} \quad (3.5)$$

Onde:

ρ_a = Massa específica aparente do leito (kg/m^3);

ρ_r = Massa específica real das partículas (kg/m^3).

3.6 Determinação da massa específica (ρ) do solvente supercrítico

A massa específica (ρ) do solvente (CO_2) supercrítico foi determinada, nas condições de operação utilizadas, através da equação de Angus et al. (1976). Estes valores são utilizados na avaliação da influência da temperatura e da pressão na variação da massa específica do solvente, solubilização do soluto.

3.7 Extração Supercrítica (ESC)

Os experimentos de extração supercrítica realizados serviram para determinar as condições de temperatura e pressão nas quais o maior rendimento global e os melhores parâmetros de qualidade pudessem ser obtidos, levando em consideração os limites de operação do equipamento utilizado. Conhecidos estes requisitos, foi adicionado cossolvente na melhor condição de rendimento global.

As condições operacionais utilizadas nas extrações da casca de manga foram selecionadas visando abranger uma ampla faixa de condições de massa específica de solvente, buscando evitar a degradação de compostos termossensíveis.

3.7.1 Equipamento de extração supercrítica

Os experimentos de extração supercrítica foram realizados no LATESC, do Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos da UFSC, onde se encontra disponível uma unidade que opera até uma pressão máxima de 300 bar e vazões de solvente de 0,1 kg/h a 2,2 kg/h.

A unidade disponível no LATESC é apresentada na Figura 3.1 e foi completamente desenvolvida e construída pelo Laboratório *Thermische Verfahrenstechnik* da *Technische Universität Hamburg-Harburg* (TUHH), na Alemanha. O equipamento, conforme esquema apresentado na Figura 3.2, constitui-se de um cilindro de CO₂ (1) com 99,9% de pureza (White Martins, Brasil) equipada com um tubo pescador que alimenta diretamente a linha de extração. O CO₂ segue para um banho termostático (B₁) (C10-K10, Thermo Haake, Karlsruhe, Alemanha) com temperatura programada para atingir de aproximadamente -10 °C, garantindo assim que o solvente (CO₂) esteja no estado líquido antes de sua entrada na bomba pneumática para líquido (2) (M111, Maximator, Niedersachsen, Alemanha). A solução de etileno glicol proveniente do banho termostático circula em uma mangueira que envolve a bomba. A frequência de funcionamento da bomba hidropneumática é controlado pela válvula (V₂) que recebe o ar comprimido filtrado de um compressor que trabalha a pressão de até 5 bar. A regulagem da válvula (V₂) é quem define a pressão de operação no sistema. O extrator (4) constitui-se de um cilindro de aço inoxidável encamisado de 31,60 cm de comprimento, 2,012 cm de diâmetro, volume de 103,28 mL e extremidades rosqueadas. A linha que liga a bomba ao extrator bem como a linha após o extrator é mantida submersa

em um banho termostático (B₃) (MQBTZ99-20, Microquímica, Palhoça/SC) programado para manter a temperatura média de 65 °C, de modo a evitar o congelamento das válvulas macrométrica (V₃ e V₄) (Sitec Shutoff valve 710.3010, Zurique, Alemanha) e micrométrica (V₅) (Sitec Microvalve 710.3012, Zurique, Alemanha). Antes do início do processo de extração, pode existir ar no interior do sistema, sendo por isso necessário abrir todas as válvulas para circular o CO₂ na linha permitindo a saída desse ar. Em seguida, iniciando o processo de extração, a válvula (Maximator Cat no 3710.0104, Alemanha) de entrada da coluna é mantida fechada e após a pressurização do solvente esta é aberta para permitir a passagem do CO₂ para o extrator. A temperatura do extrator é mantida constante na temperatura de extração desejada através de um banho termostático (B₂) (Thermo Haake, DC30-B30). A válvula macrométrica, também conectada na saída do extrator, auxilia a válvula micrométrica na despressurização e controle da vazão de solvente. Na saída do extrator, após passar pela válvula micrométrica, o soluto é coletado em frascos âmbar (5) para a coleta da amostra e a vazão de CO₂ é medido no rotâmetro (6) (10A61ABB, Automation Products), regulado pelas válvulas de saída do extrator.

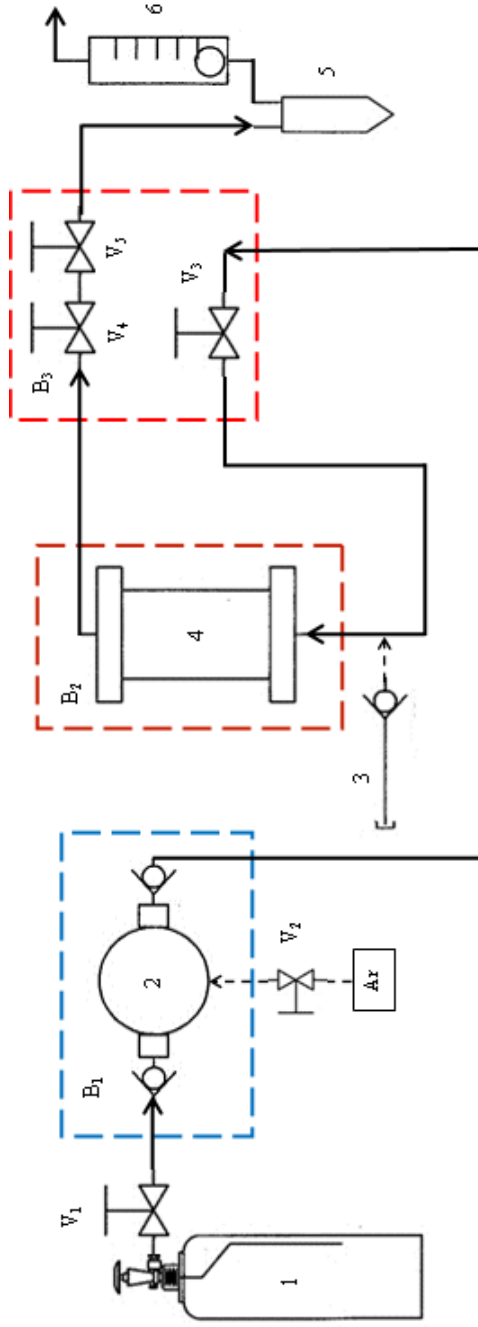
Os experimentos da extração supercrítica foram realizados no mínimo em duplicata, variando a temperatura (40, 50 e 60 °C) e pressão (100, 200 e 300 bar) de operação do equipamento. Na condição de melhor rendimento global, foi adicionado cossolvente (3) nas proporções de 2,5, 5,0 e 7,5% de etanol. Foi utilizando aproximadamente 15 g de matéria-prima que ocupa uma altura média de $65,0 \pm 0,5$ mm no extrator. As extremidades internas da coluna foram revestidas com algodão e compactadas com o intuito de evitar a entrada de partículas sólidas na linha de extração, além de preencher o espaço restante do leito com esferas de vidro, e completadas novamente com algodão já que a altura total do leito é de 300 mm.

Os frascos contendo os extratos foram pesados em balança com precisão de 0,0001 g antes e após a extração e no final do processo de extração armazenados em freezer a -18 °C até a realização dos ensaios para análise dos extratos.

Figura 3.1: Equipamento de Extração Supercrítica (ESC) do LATESC. Vista lateral esquerda (a) e vista lateral direita (b).



Figura 3.2: Diagrama esquemático da unidade de extração supercrítica.



Legenda:

- 1: Cilindro de CO₂; V₁: Válvula de entrada do fluido no sistema; 2: Bomba pneumática para líquido; B₁: Banho termostático para resfriamento da bomba; V₂: Válvula de entrada de ar para controle da frequência da bomba; V₃: Válvula de entrada de CO₂ no extrator; 3: Coluna de extração (extrator); B₂: Banho termostático para aquecimento da coluna; V₄: Válvula de saída do extrator (Macrométrica); V₅: Válvula de saída da coluna; B₃: Banho termostático para aquecimento das válvulas de entrada e saída da coluna; 5: Frasco âmbar; 6: Rotômetro.

3.7.2 Rendimento Global dos extratos (X_0)

O rendimento global de extração (X_0) é definido como a quantidade total de compostos presentes na matriz sólida, possíveis de serem extraídas pelo solvente, em função das condições de extração estabelecidas (SILVA, 2004) sendo calculado através da razão entre a massa de extrato (m_{ext}) obtida e a massa de casca de manga em base seca (M) utilizada para formar o leito conforme a Equação (3.6).

$$X_0 = \frac{m_{ext}}{M} \times 100 \quad (3.6)$$

Na extração supercrítica, a avaliação do rendimento global de extração, obtido nas diferentes condições de temperatura e pressão utilizando o CO_2 puro indica o efeito de solubilização do solvente e conseqüentemente a influência sobre o rendimento do processo (SILVA, 2004).

A massa de extrato obtido na extração supercrítica é determinada através da balança com precisão de 0,0001 g. Os frascos âmbar com este produto foram armazenados em um freezer doméstico a $-18\text{ }^\circ\text{C}$ até a realização dos ensaios de avaliação da qualidade do extrato como, por exemplo, o teor de fenólicos totais e atividade antioxidante.

3.7.3 Curvas de Extração Supercrítica

Os experimentos cinéticos para a obtenção das curvas de extração foram realizados nas amostras de casca de manga, utilizando 15 g de matéria-prima medidos em balança, com precisão de 0,0001 g. A quantidade da casca de manga utilizada no experimento foi definida satisfazendo a relação da altura x diâmetro do leito. Ou seja, o leito formado teve a altura maior ou igual o dobro do diâmetro do extrator, pois nessa relação entre altura e diâmetro do leito, a dispersão axial é desprezada. As massas dos frascos de coleta também foram previamente medidas em balança analítica, com precisão de 0,0001 g, e a coleta dos extratos foi realizada em intervalos de tempo pré-determinados. Após a coleta dos extratos, as massas dos frascos foram medidas novamente, determinando a massa de extrato obtida em função do tempo de extração. Nos parâmetros para avaliar a cinética das extrações, os tempos de cada um dos períodos de extração foram calculados a partir da curva de extração, apresentada na seção 5.1.2 utilizando o CO_2 puro

na pressão de 200 bar, temperatura de 50 °C e vazão de solvente de 0,5 kg/h.

Os tempos de cada um dos períodos de extração foram calculados a partir das curvas de extração e os tempos da taxa de extração constante (t_{CER}) e da taxa de extração decrescente (t_{FER}) representam o final das etapas constante e decrescente de extração, respectivamente. A taxa de transferência de massa na etapa CER (M_{CER}) foi obtida a partir de regressão linear da curva de extração no período CER, realizada com auxílio do *software* Microsoft Excel, enquanto a concentração de soluto na fase solvente na etapa CER foi determinada pela razão entre M_{CER} e Q_{CO_2} .

3.8 Teor de compostos fenólicos totais (TFT)

A determinação do teor de compostos fenólicos totais (TFT), representados pela capacidade redutora dos extratos na casca de manga, foi realizada no LATESC pelo método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu (ROSSI; SINGLETON, 1965; PESCHEL et al., 2006).

Para a análise dos resultados foi necessário preparar uma curva analítica de ácido gálico, com o objetivo de representar a absorvância da amostra frente à concentração da curva padrão. Desta forma, dissolve-se cerca de 5,0 g de ácido gálico (Nuclear, CAQ Ind. e Com. Ltda., Brasil), pesados em balança (AY220, SHIMADZU do Brasil Ltda., São Paulo/SP, Brasil) com precisão 0,001 g, em H₂O destilada de modo a obter uma solução de concentração 5 mg/L (50 ppm) de ácido gálico. A partir desta solução estoque, são diluídas alíquotas em balões volumétricos de 100 mL para a obtenção de soluções de concentrações finais de 0, 50, 100, 150, 200, 250, 350 e 500 mg/L. A reação de oxidação foi realizada em balões volumétricos de 10 mL, sendo transferido para estes 10 µL de cada uma das diluições, aos quais foram adicionados 2 mL de água destilada e 0,5 mL do reativo de Folin-Ciocalteu (Sigma-Aldrich, USA). Após 30 segundos e antes de 8 minutos após a adição do reativo, foi adicionado 1,5 mL de solução aquosa de carbonato de sódio (Nuclear, CAQ Ind. e Com. Ltda., Brasil) a 20 % (m/v). Os balões foram completados com água destilada até a marca de 10 mL, agitados e deixados em repouso ao abrigo da luz e temperatura ambiente por 2 horas para que a reação ocorresse. A absorvância de cada uma das soluções foi medida a 765 nm em espectrofotômetro (8500II-UV/VIS, Techcomp Ltda., Kowloon, Hong

Kong) e o branco realizado com todos os reagentes, substituindo-se a amostra por água destilada. A curva analítica de ácido gálico é

apresentada através do gráfico de absorvância (ABS) versus concentração de ácido gálico (mg/L). A curva analítica de ácido gálico é apresentada no Apêndice 2 - Figura I.

Cada um dos extratos testados foi diluído em etanol P.A. (Merck S.A., Brasil) na concentração final de 1,667 mg/L, seguindo-se o mesmo procedimento de reação de oxidação descrito para a curva analítica. O branco foi realizado com todos os reagentes, substituindo-se a amostra por água destilada. Os valores de absorvância obtidos para cada um dos extratos foram correlacionados com a curva padrão de ácido gálico e o teor de compostos fenólicos totais (TFT) foi determinado através da Equação 3.7. A análise foi realizada em triplicata e o resultado expresso em mg EAG/g de extrato, como média \pm desvio padrão.

Os compostos fenólicos são os principais responsáveis pela atividade antioxidante de extratos de produtos naturais. Apesar do método de determinação do TFT não caracterizar a atividade antioxidante, ele é um dos mais satisfatórios para a estimativa da atividade antioxidante de amostras de alimentos (ROGINSKY; LISSI, 2005).

$$TFT(\text{mgEAG/g}_{\text{Ext}}) = \left\{ \frac{[\text{EAG} \times 1000]}{D_{\text{Ext}}} \right\} \quad (3.7)$$

Onde:

EAG: Equivalente em ácido gálico obtido através da curva padrão (mg EAG/L),

D_{Ext}: diluição das amostras (mg_{EXT}/L).

3.9 Atividade Antioxidante (AA)

3.9.1 Determinação pelo método do radical cátion 2,2'-azinobis [3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico] (ABTS)

A atividade antioxidante pelo método do radical cátion 2,2'-azinobis [3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico] (ABTS) dos extratos de casca de manga foi avaliada de acordo com a metodologia descrita por Re et al. (1999) e Andrade et al. (2012). Utilizou-se o Trolox, vitamina - E sintética (6-hidroxi-2,5,7,8- tetrametilcromo-2-ácido carboxílico) (Sigma-Aldrich Co, St. Louis, EUA) como antioxidante referência, que foi preparado em etanol e estocado como solução padrão. O ABTS foi dissolvido em água até a concentração de 7,0 mM, e submetido à reação com 2,45 mM de persulfato de potássio para a

formação do radical. A mistura ficou mantida em refrigerador doméstico à temperatura de 3 °C e protegida da luz, por no mínimo 16 horas antes das análises. A solução do radical ABTS·+ foi diluída em etanol até uma absorbância de $0,70 \pm 0,05$ a 754 nm. As leituras foram feitas em espectrofotômetro, com o tempo de 6 minutos para homogeneização da reação após a adição da amostra na solução de ABTS·+. A partir das leituras realizadas a porcentagem de inibição do radical foi calculada através da Equação 3.8:

$$\% \text{ Inibição} = 1 - \left[\frac{\text{Abs}_f}{\text{Abs}_0} \right] \times 100 \quad (3.8)$$

Onde:

Abs_f = absorbância após a adição da amostra ao radical ABTS para o tempo de 6 minutos

Abs_0 = absorbância do radical.

Uma curva analítica foi construída expressando a porcentagem de inibição do radical ABTS em função das diferentes concentrações de Trolox ($\mu\text{M}/\text{mL}$). A curva analítica de Trolox é apresentada no Apêndice 2 - Figura II. Após a obtenção do percentual de inibição do respectivo extrato a atividade antioxidante (AA) foi calculada através da Equação 3.9 com base na curva analítica de Trolox.

$$AA = \left[\frac{C_a}{C_e} \right] \quad (3.9)$$

Onde:

C_a = concentração referente ao percentual de inibição obtido através das leituras espectrofotométricas do extrato ($\mu\text{M}/\text{mL}$);

C_e = concentração do extrato utilizada na técnica ($\mu\text{M}/\text{mL}$).

Desta forma, os resultados foram expressos em μM TEAC (capacidade antioxidante equivalente ao Trolox) por g de extrato.

3.9.2 Determinação pelo método do radical 1,1-difenil-2-picrilhidrazina (DPPH)

Este método de determinação de atividade antioxidante é baseado na reação do composto em análise em uma solução etanólica de 1,1-difenil-2-picrilhidrazina (DPPH) na concentração de 0,3 mM (ou mmol/L) e com concentrações nos valores de 5, 10, 25, 50, 125, 250 e 500 mg/mL (ou $\mu\text{g}/\text{mL}$) dos extratos analisados. O DPPH é considerado

um radical estável e tem sua absorção máxima em 517 nm. Quanto maior a atividade antioxidante da amostra testada, mais estável o radical DPPH se torna, provocando a descoloração da solução (DPPH + extrato) e diminuindo a absorbância (MENSOR et al., 2001).

O método definido por Mensor et al. (2001), foi realizado no LATESC e constitui de uma reação com tempo de 30 min, à temperatura ambiente e protegida da luz, e o composto em análise está em uma solução etanólica de DPPH dos extratos de casca de manga, em etanol P.A. com posterior leitura da absorbância em espectrofotômetro (8500II-UV/VIS, Techcomp Ltda.). Deste modo, o percentual de inibição das amostras testadas sobre o radical DPPH pode ser calculado convertendo a absorbância em percentual de capacidade antioxidante (%AA), conforme a Equação (3.10).

$$AA\% = 100 - \left\{ \left[(Abs_{amostra} - Abs_{branco}) \times 100 \right] / Abs_{controle} \right\} \quad (3.10)$$

Onde:

$Abs_{amostra}$ = absorbância da amostra após 30 min de reação;

Abs_{branco} = absorbância do branco após 30 min de reação;

$Abs_{controle}$ = absorbância do controle após 30 min de reação.

A concentração das amostras necessária para captar 50% do radical livre DPPH (EC_{50} *Effective Concentration*) é calculada por análise de regressão exponencial e linear (MENSOR et al., 2001). Os valores da atividade antioxidante calculado (%AA) são referentes à maior concentração de extrato testada (500 µg/mL). Todos os extratos obtidos pelas tecnologias a baixa pressão (Soxhlet, Maceração e Ultrassom) e alta pressão foram avaliados pela técnica do DPPH, sendo que os resultados encontrados de concentração efetiva (EC_{50}) e atividade antioxidante (%AA) foram expressos como média ± desvio padrão.

3.9.3 Determinação pelo sistema β-caroteno/ácido linoleico

A metodologia utilizada é descrita por Matthäus (2002) e Kang et al. (2006), na qual o sistema formado por β-caroteno e ácido linoleico é induzido a uma rápida descoloração na ausência de um composto antioxidante. O radical livre é formado pelo ácido linoleico e por um átomo de hidrogênio retirado de um dos grupos metila da molécula de β-caroteno.

A atividade antioxidante pelo método β -caroteno é medida pelo espectrofotômetro com comprimento de onda de 470 nm verificando a leitura no tempo inicial e após 120 minutos. Esta atividade é baseada na perda de coloração (oxidação) do β -caroteno induzida por produtos de degradação oxidativa do ácido linoléico (MATTHÄUS, 2002; KANG et al., 2006).

De acordo com a metodologia, inicialmente se faz a preparação de duas emulsões, uma com adição de β -caroteno e outra sem (branco). Para o preparo da emulsão de β -caroteno, foram transferidos para um balão de 250 mL, 40 mg de ácido linoléico, 400 mg de Tween-20 e 3,4 mg de β -caroteno. A este balão adicionou-se 1 mL de clorofórmio e agitou-se até a completa solubilização das partículas de β -caroteno. O clorofórmio foi então removido em evaporador rotativo (Mod. 550 e 802, Fisatom) com arrefecimento (MQBTZ99-20, Microquímica Ind. Com. e Repr. Ltda.) e controle de vácuo (NT 613, Nova Técnica) a 40 °C e, à mistura, foram adicionados 100 mL de água destilada, sendo manualmente agitada para formar uma solução estável. A emulsão de branco foi preparada com 40 mg de ácido linoléico, 400 mg de Tween-20 e 100 mL de água destilada, sendo também agitada manualmente. As duas emulsões foram mantidas refrigeradas e ao abrigo da luz até a realização das análises.

As soluções de amostras/extratos foram preparadas nas quantidades de 5 mL da emulsão de β -caroteno adicionando 200 μ L do extrato, e cada um deles diluído em etanol P.A. na concentração final de 1667 μ g/mL. Conjuntamente, as soluções de branco, foram preparadas com 5 mL emulsão de branco e 200 μ L do extrato. As soluções do β -caroteno e do branco foram colocadas em tubos de ensaio e em seguida medidas as respectivas absorbâncias das soluções em um espectrofotômetro (8500II-UV/VIS, Techcomp Ltda.) no tempo inicial zero. Em seguida os tubos de ensaio com as soluções foram imersos em banho termostatizado (Biomatic Aparelhos Científicos Ltda.) a 50 °C, realizando-se leituras nos tempos finais das reações durante 120 minutos. Simultaneamente foi realizado o controle do teste, no qual a amostra foi substituída por etanol. Os resultados da atividade antioxidante (AA %) foram calculados pela equação (3.11) e expressos como média \pm desvio padrão.

$$\%AA = 1 - \left\{ \left[\frac{(Abs_{120\text{min}} - Abs_{0\text{min}})}{(Abs_{\text{controle } 120\text{min}} - Abs_{\text{controle } 0\text{min}})} \right] \times 100 \right\} \quad (3.11)$$

Onde:

Abs_{120min} = absorvância da amostra após 120 min de reação;

Abs_{0min} = absorvância da amostra no instante inicial de reação;

Abs_{controle 120min} = absorvância do controle após 120 min de reação;

Abs_{controle 0min} = absorvância do controle no instante inicial de reação.

3.10 Análise por cromatografia líquida (CLAE)

Os compostos fenólicos utilizando a técnica de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) foram identificados e quantificados nas amostras dos diferentes extratos da casca de manga obtidos na extração a alta e baixa pressão através do equipamento cromatógrafo de fabricação WATERS modelo Alliance e2695, equipado com bomba de solvente quaternário e injetor automático acoplado aos Detectores de Arranjo de Diodo (DAD) e Detector de Fluorescência (DF), conforme metodologia descrita por Corrêa et al. (2012). A obtenção e processamento dos dados foram realizados utilizando o Software Empower™ 2 (Milford, EUA).

No cromatógrafo, foram rodados 18 padrões de identificação e quantificação dos compostos fenólicos nos extratos da casca de manga. Nos padrões do DAD, foram utilizados os comprimentos de onda de 280 nm para o ácido siríngico; 320 nm para o estilbeno trans-resveratrol e os ácidos fenólicos: cinâmico, o-cumárico e p-cumárico; 360 nm para os flavonóis: kaempferol 3-*O*-glicosídeo, miricetina, quercitina, quercetina piranosídeo, rutina e isoramnetina. Para os padrões do DF, com excitação em 280 nm e emissão em 320 nm, foi utilizado na quantificação identificação do ácido fenólico benzóico e dos flavanóis: catequina, epicatequina e procianidinas (A2, B1 e B2).

A separação dos compostos foi realizada em coluna C18 (150 mm x 4,60 mm x 3 μm) e pré-coluna Gemini-NX C18 (4,0 x 3,0 mm), ambas da Phenomenex®, utilizando como fase móvel fosfato de potássio diácido, acetonitrila e metanol (gradiente), tempo de corrida 60 minutos, temperatura do forno 40 °C, vazão de 0,6 ml/min e volume de injeção 10 μl de extrato da casca de manga previamente filtrado em membrana nylon de 0,45 μm (Merk Millipore), com vazão de 0,5 ml/min.

O equipamento CLAE utilizado nas análises das amostras de extrato de casca de manga é do laboratório de cromatografia da Empresa Brasileira de Pesquisas Agropecuárias (EMBRAPA) unidade Semiárido, localizado na cidade de Petrolina-PE.

Foi realizada a relação entre os compostos identificados na CLAE e a atividade antioxidante utilizando os coeficientes de correlação de

Pearson obtidos entre compostos fenólicos, teor de fenólicos e as atividades antioxidantes dos radicais ABTS, DPPH e β -caroteno/ácido linoleico. Para fins de discussão foram utilizado os coeficientes positivos de correlação, significativos a 1% de probabilidade de erro ($p < 0,01$), entre os compostos analisados e as atividades antioxidantes obtidas.

3.11 Análise estatística

Os resultados de rendimentos de extração, teor de fenólicos totais, atividade antioxidantes e da análise por cromatografia líquida obtidos dos extratos de casca de manga, foram avaliados separadamente através de análise de variância (ANOVA) ao nível de 5% de significância ($p < 0,05$), com o auxílio do *software* SPSS *Statistics* 17.0 aplicando o teste de *Tukey* que avalia as diferenças entre os pares de tratamentos entre si (MONTGOMERY, 2005).

3.12 Resumo dos ensaios

O Quadro 3.1 apresenta o resumo dos ensaios e atividades realizadas nos extratos da casca de manga

Quadro 3.1: Resumo dos ensaios realizados atividades realizadas nos extratos da casca de manga

Extração	TÉCNICA DE EXTRAÇÃO (CONDIÇÕES)		Análises				Tratamentos			
			Atividade Antioxidante (AA)		Teor de Fenólicos	Composição e Quantificação	X ₀	Análise Estatística		
			ABTS	DPPH					β-Caroteno	CLAE
SOXHLET	Natural	Solvente								
		Etanol	X	X	X	X	X	X	X	
		Hexano	X	X	X	X	X	X	X	
	Estufa	Acetato de Etila	X	X	X	X	X	X	X	X
		Etanol	X	X	X	X	X	X	X	X
		Hexano	X	X	X	X	X	X	X	X
MACERAÇÃO	Natural	Acetato de Etila	X	X	X	X	X	X	X	X
		Etanol	X	X	X	X	X	X	X	X
		Hexano	X	X	X	X	X	X	X	X
	Estufa	Acetato de Etila	X	X	X	X	X	X	X	X
		Etanol	X	X	X	X	X	X	X	X
		Hexano	X	X	X	X	X	X	X	X

ULTRASSOM	Natural	Etanol	X	X	X	X	X	X	X
		Hexano	X	X	X	X	X	X	X
		Acetato de Etila	X	X	X	X	X	X	X
	Estufa	Etanol	X	X	X	X	X	X	X
		Hexano	X	X	X	X	X	X	X
		Acetato de Etila	X	X	X	X	X	X	X
ESC	Natural	-	-	-	-	-	-	-	
	Estufa	-	X	X	X	X	X	X	

Local de realização dos ensaios: ABTS, DPPH, β -Caroteno e TTT: LATESC/UFSC; CLAE:EMBRAPA-Semiarido.

3.13 Avaliação de segurança no equipamento ESC-2.

Neste trabalho foi elaborado o projeto e confecção da coluna (C-2) visando o estudo da ampliação de escala e realizada a inspeção de segurança inicial nas colunas de extração de volume 138,2 mL (C-1) e de volume 30,7 mL (C-2) através da inspeção por ultrassom e do teste hidrostático de acordo com o código de fabricação do equipamento (ASME) e a NR-13.

3.13.1 Componentes da unidade de extração a alta pressão

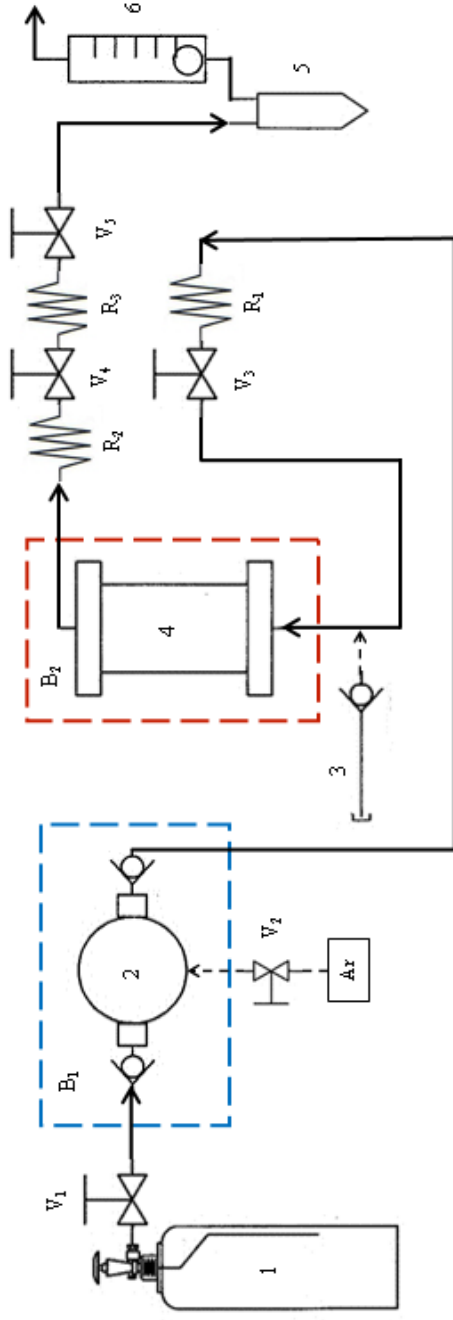
Mezzomo (2012) dimensionou e montou no LATESC um equipamento de extração supercrítica (ESC-2) de acordo com o princípio de funcionamento do equipamento apresentado por Zetzl et al. (2003) com algumas adaptações, mostrado nas Figuras 3.3 e 3.4.

Figura 3.3: Constituintes do equipamento ESC-2.



Fonte: Próprio Autor

Figura 3.4: Diagrama esquemático da unidade ESC-2.



Fonte: Próprio Autor

Legenda: 1: Cilindro de CO₂; V₁: Válvula de entrada do fluido no sistema; 2: Bomba pneumática para líquido; B₁: Banho termostático para resfriamento da bomba; V₂: Válvula de entrada de ar para controle da frequência da bomba; V₃: Válvula de entrada de CO₂ no extrator; 3: Entrada de solvente; 4: Coluna de extração (extrator); B₂: Banho termostático para aquecimento da coluna; V₄: Válvula de saída do extrator (Macrométrica); V₅: Válvula de saída do extrator (micrométrica); R₁, R₂ e R₃: Fitas de aquecimento das válvulas de entrada e saída do extrator 5: Frasco âmbar; 6: Rotâmetro.

Como apresentado nas Figuras 3.3 e 3.4, o equipamento da ESC-2 é constituído por:

1: Cilindro de armazenamento de CO₂ equipado com tubo pescador e a alta pressão;

V₁: Válvula reguladora de pressão do cilindro (suprimento) de CO₂. O ajuste de pressão é feito através de pistão, de simples estágio com manómetro cromado, pressão máxima de entrada 3000 psi (206,89 bar), pressão máxima de saída de 1500 psi (103,4 bar). É o componente primário do sistema de distribuição do gás e o regulador é conectado no cilindro de CO₂ mantendo a pressão de funcionamento deste sistema na faixa de 50-70 bar (Concoa, Registro Pistão);

B₁: Banho termostaticado 1 (Banho 1) para resfriamento com a função de garantir que o CO₂ esteja no estado líquido. O banho é abastecido com etileno glicol para manter a temperatura máxima de 0 °C (Microquímica, MQBMP-01);

B₂: Banho termostaticado 2 (Banho 2) para aquecimento da coluna de extração. O banho é abastecido com água pura ou destilada (Microquímica, MQBTC99-20);

2: Bomba hidropneumática de alta pressão (*Air drive pump liquid*): operando com CO₂ no estado líquido na pressão máxima de 1.050 bar (15.225 psi) no modo intermitente e 1.000 bar (14.500 psi) no modo contínuo (Maximator, M111);

Ar: Suprimento de ar comprimido utilizado para acionamento da bomba de alta pressão através de canalização conectado ao um compressor (Schulz, CSL 20 BRAVO);

V₂: Válvula de controle de frequência da bomba de alta pressão (Festo, Lubrifiltro 0-10 bar);

R₁: Fitas de aquecimento cobertas por malha de fibra de vidro com reguladores de temperatura para aquecimento das válvulas V₃, evitando o congelamento das mesmas e da tubulação que as conecta devido ao efeito Joule-Thompson provocado pela expansão de CO₂ no sistema (Fisatom, mod 407; 60 Hz; 115- 230 V);

V₃: Válvula agulha de ajuste macrométrico: localizada antes da entrada da coluna de extração (HIP, 10.000psi);

3: Entrada de cossolvente;

4: Coluna de extração: principal componente do sistema de extração capaz de resistir às máximas pressões desejadas. O material da coluna é em aço inoxidável 316L e encamisadas em aço galvanizado para a circulação de água aquecida (Metalporto, 138,2 mL);

R₂: Fitas de aquecimento cobertas por malha de fibra de vidro com reguladores de temperatura para aquecimento das válvulas V₄ (Fisatom, mod 407; 60 Hz; 115- 230 V);

V₄: Válvula agulha com ajuste macrométrico localizado na saída do extrator: utilizada para promover a expansão do CO₂ e, conseqüentemente a separação do dióxido de carbono gasoso e extrato (HIP, 10.000 psi);

R₃: Fitas de aquecimento cobertas por malha de fibra de vidro com Reguladores de temperatura para aquecimento das válvulas V₅(Fisatom, mod 407; 60 Hz; 115- 230 V);

V₅: Válvula agulha de ajuste micrométrico realiza a regulação da vazão de CO₂ na saída da coluna de extração (HIP, 10.000 psi);

M: Manômetros (M₁ = Linha de CO₂; M₂ = Entrada da Coluna; M₃ = Saída da coluna) (C.G., 0-100 bar e C.G., 0-1000 bar);

5: Frasco coletor: Recipiente de vidro com coloração âmbar e serve para a coleta do extrato;

6: Rotâmetro: Serve para medir da vazão de CO₂ na saída do sistema (Swagelok, 0-1000 NI/hr).

Acessórios:

- Tubulações de aço inoxidável 316L: Resistentes as altas pressões máximas desejadas nos diâmetros estabelecidos na entrada e saída da bomba DN 1/4" e 1/8" (6,35 e 3,175 mm) respectivamente (*Sandvik*, 316L);
- Mangueira ou tubulação flexível: Utiliza mangueira com camada trançada de aço inoxidável 316L para o fluxo de CO₂ da conexão da válvula reguladora de pressão até a linha de entrada da tulação da bomba de alta pressão (*Sandvik*, 316L);
- Anilhas, roscas, têes, conexões de aço inoxidável 316L: São resistentes a alta pressão e com diâmetros DN 1/4" e 1/8" (*Swagelok*, 316L);

- Mangueira para ar ou água ½ pol. (12,70 mm) - 500 PSI (33 bar); Plastificado com poliéster para a condução de ar comprimido (Festo, 0-10 bar);
- Filtro regulador de ar com entrada de ½ pol. (12,70 mm); Pressão máxima: 150 lbf/pol² (psi) / 10 kgf/cm² e com adaptadores de ½ pol rosca macho para mangueira ½ pol (Festo, Lubrifiltro 0-10bar).

3.13.2 Princípio de funcionamento da unidade de extração supercrítica a alta pressão

O funcionamento da unidade de extração supercrítica é iniciado pela alimentação de CO₂ (99,9 % de pureza), que é armazenado em um cilindro equipado com vara pescadora, para garantir a captação do fluido no seu estado líquido, e o regulador de pressão do cilindro é ajustado até a pressão ideal de alimentação. O fluido segue pelo equipamento, que é arrefecido indiretamente por um banho termostatizado para resfriamento B1 (Figura 3.3). Este banho tem como fluido de refrigeração o etileno glicol, mantendo-o a temperatura de aproximadamente 0 °C, e desta forma, garantindo que CO₂ esteja no estado líquido na entrada da bomba. A bomba hidropneumática (Maximator, M111) é acionada pelo sistema pneumático através do ar comprimido filtrado, isento de umidade e opera na razão de pressão 1:130 ($P_{ar}/P_{sistema}$).

Antes do início do processo de extração pode existir ar no interior do sistema, sendo por isso necessário abrir todas as válvulas para circular o CO₂ na linha permitindo a saída desse ar. Em seguida, as válvulas agulha de entrada (macrométrica) e saída (macrométrica e micrométrica) do extrator, devem estar fechadas para a pressurização do sistema. Após a pressurização do solvente, a válvulas de entrada é aberta para permitir a passagem do CO₂ para o extrator. O extrator constitui-se de um cilindro em aço inoxidável encamisado e com tampas rosqueadas nas extremidades.

A extração é iniciada pela abertura das válvulas agulha de saída e a regulagem da vazão de CO₂ é realizada, mantendo o sistema em operação contínua na pressão de operação desejada até o tempo de extração pré-determinado para cada amostra.

A temperatura do extrator é mantida constante através de banho termostatizado para aquecimento B2 (Figura 3.3) tendo como fluido de refrigeração a água que é programada para manter a temperatura de extração desejada.

O processo de extração ocorre a partir do escoamento de CO₂ através de um leito fixo constituído de partículas sólidas acomodadas no interior da coluna de extração, solubilizando assim os componentes presentes na matriz sólida. O esgotamento do sólido ocorre na direção do escoamento, enquanto a massa de extrato na fase solvente aumenta na mesma direção. O solvente atravessa o leito fixo saindo carregado de soluto e, na saída do extrator, passa através de uma válvula de expansão, passando ao estado gasoso e, finalmente, o soluto é coletado (BRUNNER, 1994; REVERCHON e DE MARCO, 2006).

A válvula macrométrica é conectada na saída do extrator e auxilia a válvula micrométrica na despressurização e controle da vazão de solvente. Após passar pelas válvulas, o soluto é conectado em um frasco de vidro âmbar e o fluxo de CO₂ é medido no rotâmetro e regulado naquelas válvulas (MEZZOMO, 2012).

3.13.3 Projeto das colunas de extração para alta pressão

As colunas de extração, uma de maior volume C-1 (138,2 mL) e a outra de menor volume C-2 (30,7 mL) foram projetadas para suportar pressão máxima de até 400 bar. Os cálculos das espessuras de parede dos cilindros foram realizados de acordo com as instruções técnicas do código internacional utilizado para construção de vasos de pressão: Código A.S.M.E. (*American Society of Mechanical Engineers*, CARLSON, 2000). Já os aspectos relacionados à instalação, inspeção, operação e manutenção de equipamento a alta pressão, visando à segurança e saúde dos trabalhadores, estão de acordo com a NR-13 do Ministério do Trabalho e Emprego (M.T.E.).

Os cálculos consideram a pressão de trabalho, atribuída a 400 bar, a tensão máxima admissível para o aço inoxidável 316L, o raio interno do tubo e a eficiência da junta. A partir desses dados, calculou-se a tensão circunferencial, tensão longitudinal, tensão das tampas e tensão das roscas e atribuindo um coeficiente de segurança (ou fator de segurança). De acordo com o código ASME é atribuído no dimensionamento do vaso de pressão, por questão de segurança, um coeficiente de segurança. Este é definido pela relação entre os valores tabelados (ASME UHA-23) do limite de resistência (ruptura) / elasticidade e a tensão admissível do material na temperatura de trabalho considerada (TELLES, 1996). No caso do aço inoxidável 316L, esta margem de segurança é um valor de pelo menos 60% do maior valor da espessura calculada.

Assim, as especificações de diâmetro interno, externo, espessura de parede e dados da camisa da coluna de extração do equipamento construído apresentados a seguir.

3.13.4 Cálculo de espessura no casco cilíndrico e tampos sob pressão interna:

De acordo com a NR-13, por questão de segurança são estabelecidos requisitos mínimos para gestão da integridade estrutural de caldeiras a vapor e vasos de pressão. Ou seja, toda máquina que tem a possibilidade real de explosão e com isso colocar em risco a vida de pessoas, terá que ser inspecionado por profissional habilitado. Na seção inspeção de segurança de vasos de pressão (13.10.2), a inspeção de segurança inicial deve ser feita em vasos novos, antes de sua entrada em funcionamento, no local definitivo de instalação, devendo compreender exame externo, interno e teste hidrostático.

Nas colunas (C-1 e C-2) do equipamento de extração supercrítica do LATESC, de acordo com a NR-13 e o código ASME, foi realizado o teste hidrostático e ensaio não-destrutivo (END) por equipamento medidor de espessura por ultrassom. No teste hidrostático, a coluna foi submetida à alta pressão utilizando a água como fluido para a verificação de possíveis vazamentos. Já na verificação da espessura de parede por ultrassom, os resultados dessas medições foram utilizados para comparação com os resultados dos cálculos de projeto do código ASME que define a espessura mínima necessária para a utilização do equipamento com segurança. Tudo isso é realizado por profissional habilitado na obtenção de informações para subsídios na elaboração do prontuário do vaso de pressão.

Os cálculos da espessura mínima (e) e da pressão máxima de trabalho admissível (PMTA) dos vasos de pressão do extrator supercrítico foram baseados nas forças de tensão do casco sujeito a pressão interna, definida na seção 2.8.3.1, de acordo com o código ASME, seção VIII – divisão I nos parágrafos UG-27 (para casco cilíndrico) e UG-34 (para tampos).

De acordo com o código ASME, na tabela UHA-23 (valores da tensão máxima admissível em tração para aços de alta liga), no item tubo para condução sem costura (Especificação: ASTM A-312), a tensão admissível do material (ζ_{adm}) aço inoxidável 316L é 108 MPa. E de acordo com a tabela UW-12 do mesmo código, utilizando o grau de inspeção na radiografia total, a eficiência da Junta Soldada (E) será igual a um (1).

O equipamento de extração supercrítica, desenvolvido por Mezzomo (2012), possui uma válvula de segurança com disco de ruptura. O acessório é calibrado e atestado pelo fabricante HIP, no qual o disco se rompe quando ultrapassa a pressão de calibragem, tendo que ser substituído por outro. Sendo assim, nesta válvula de segurança não é possível verificar periodicamente se a pressão de abertura está ajustada em valor igual ou inferior à PMTA, de acordo com os requisitos exigidos pela norma. Além da válvula de segurança, o equipamento possui também uma válvula de alívio calibrada para abrir quando o sistema atinge a PMTA. Na válvula de alívio é possível, periodicamente, realizar o teste de acionamento/fechamento da válvula quando montada no equipamento para verificar se a pressão de abertura está ajustada em valor igual ou inferior à PMTA, de acordo com os requisitos exigidos pela norma.

3.13.5 Avaliação da coluna de extração (C-1):

A coluna C-1 foi projetada por Mezzomo (2012) e por isso foi realizada inicialmente a inspeção por ensaio não-destrutivo através de medição de espessura por equipamento ultrassônico no corpo do vaso de pressão de material aço inoxidável 316L. Essa inspeção foi executada apenas para a simples conferência da atual espessura da coluna já que ela era um produto existente no projeto inicial do equipamento ESC-2.

Na inspeção foi utilizado o aparelho medidor de espessura de chapa por ultrassom (Figura 3.5), modelo ME-215 fabricação Instrutherm, com certificado de calibração, apresentando incerteza de medição de $\pm 0,1$ mm e nível de confiança de aproximadamente 95%. O aparelho tem cabeçote transdutor ultrassônico convencional de cristal piezoelétrico com frequência de 5 MHz e diâmetro 8 mm. No ensaio foi utilizado o acoplante tipo gel para ultrassom com método de aplicação por espalhamento no local da medição.

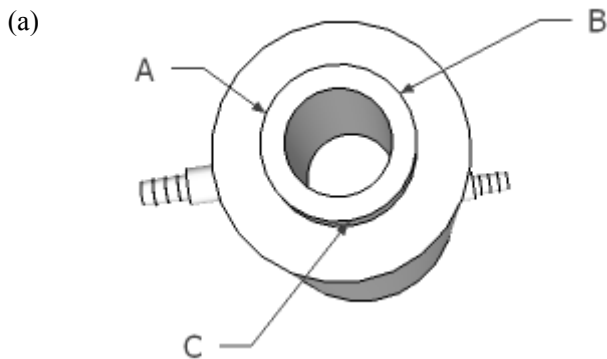
A parede do vaso de pressão foi inspecionada com o cabeçote do equipamento posicionado em diversos pontos da superfície da coluna de extração, como é mostrado nas Figuras 3.5 e 3.6. Foram realizadas duas medições por lado, com repetição da inspeção quando houve valores de leitura inconsistentes ocasionados por problemas de acoplamento do cabeçote com a peça.

Figura 3.5: Medição de espessura por equipamento ultrassônico em diferentes pontos da coluna de extração.



Fonte: Próprio autor

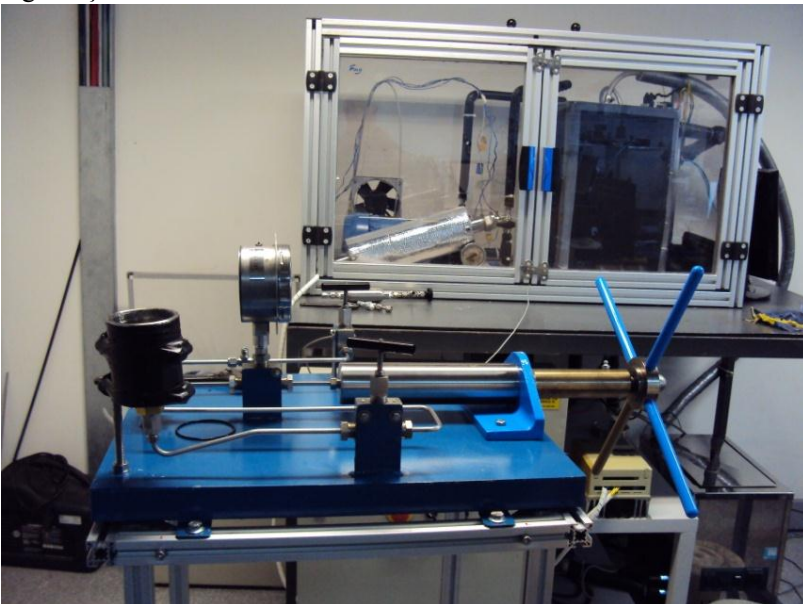
Figura 3.6: Pontos de medições de espessura no casco da coluna de extração C-1: vista superior (a) e vista lateral (b).





O ensaio do teste hidrostático na coluna de extração C-1 foi realizado no Laboratório de Pesquisa em Refrigeração e Termofísica (POLO) localizado no Departamento de Engenharia Mecânica da UFSC. O equipamento para teste de pressão hidrostática (Figura 3.7) utilizado no ensaio foi do fabricante PALM-Tecnologia em Alta Pressão, modelo 8765 UTH de pressão máxima 5000 psi, ano de fabricação 2013, com manômetro calibrado e usando como fluido de pressurização a água isenta de óleo, graxa e/ou partículas sólidas.

Figura 3.7: Equipamento de teste hidrostático com proteção de segurança em acrílico utilizado na coluna C-1.



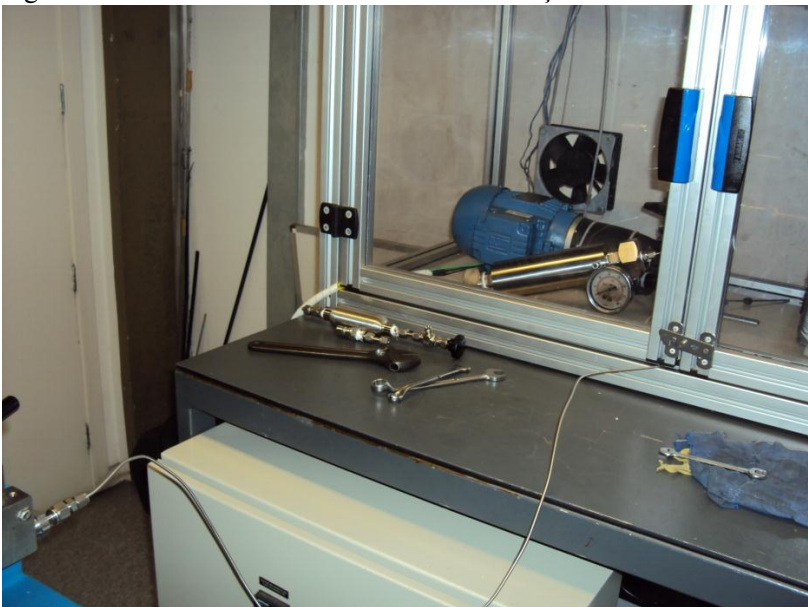
Fonte: Próprio autor.

Durante o ensaio do teste hidrostático, a coluna, quando submetida à alta pressão, ficou localizada dentro de uma área de proteção em acrílico como mostra a Figura 3.7. A coluna de extração foi conectada ao equipamento de teste hidrostático através de uma tubulação de diâmetro 1/8” de material aço inoxidável 316L.

3.13.6 Avaliação da coluna de extração (C-2):

O ensaio do teste hidrostático na coluna de extração C-2 (Figura 3.8) também foi realizado no Laboratório de Pesquisa em Refrigeração e Termofísica (POLO) localizado no Departamento de Engenharia Mecânica da UFSC. O equipamento para teste de pressão hidrostática, utilizado no ensaio foi o mesmo do teste executado na coluna C-1.

Figura 3.8: Teste hidrostático na coluna de extração C-2.



Fonte: Próprio autor.

3.13.7 Dispositivos de segurança e instrumentos indicadores de pressão instalados no equipamento de ESC-2

De acordo com a NR-13 na seção vasos de pressão - disposições gerais, os vasos devem ser dotados dos seguintes acessórios de segurança:

- Válvula ou outro dispositivo de segurança com pressão de abertura ajustada em valor igual ou inferior a PMTA;
- Instrumento que indique a pressão de operação, instalado diretamente no vaso ou no sistema que o contenha.

A unidade de ESC-2 contém dois (02) dispositivos de segurança. Um deles é o dispositivo de disco de ruptura que é definido de acordo com o código ASME seção VIII divisão 1, UG-127 como um dispositivo de alívio de pressão sem retorno espontâneo a sua posição fechada. O disco de ruptura já era parte do projeto inicial ESC-2 de Mezzomo (2012), no qual atuava quando atingia a pressões de 8000 psi (540 bar) rompendo o disco de segurança, o qual deverar ser substituído por outro após seu rompimento.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Ensaio iniciais

Neste estudo, os testes iniciais realizados com a casca de manga foram necessários para definir as condições de extração utilizadas e a caracterização da matéria-prima.

4.1.1 Caracterização da matéria-prima

Os valores do teor de umidade e substâncias voláteis da matéria-prima *in natura* e da pós-secagem utilizada nas extrações foram obtidos a partir de ensaios em triplicata, e os resultados apresentados como média \pm desvio padrão. Obtendo os resultados da umidade em base seca *in natura* da matéria-prima ($26,2 \pm 0,3\%$), pós-secagem natural ($3,20 \pm 0,02\%$) e umidade pós-secagem em estufa ($7,9 \pm 0,4\%$). O teor de umidade da casca de manga *in natura* era de $26,2\%$ ou seja, $87,8\%$ superior à umidade da casca apresentada após a secagem natural e $69,8\%$ superior a casca da secagem por estufa. Já o teor de umidade das pós-secagens apresentou valor de $7,9\%$ na secagem por estufa e $3,2\%$ na secagem natural, ou seja, a umidade na estufa apresentou valor $59,03\%$ maior que a secagem natural. Isso é justificado pelo tempo de secagem, pois na secagem por estufa o tempo total foi de 24 h (1 dia) e na secagem natural, 168 h (7 dias). Já a temperatura de desidratação foi semelhante nos dois tipos de secagem: estufa ($\approx 40\text{ }^\circ\text{C}$) e secagem natural (35 a $40\text{ }^\circ\text{C}$).

4.1.2 Testes de cinética de Extração

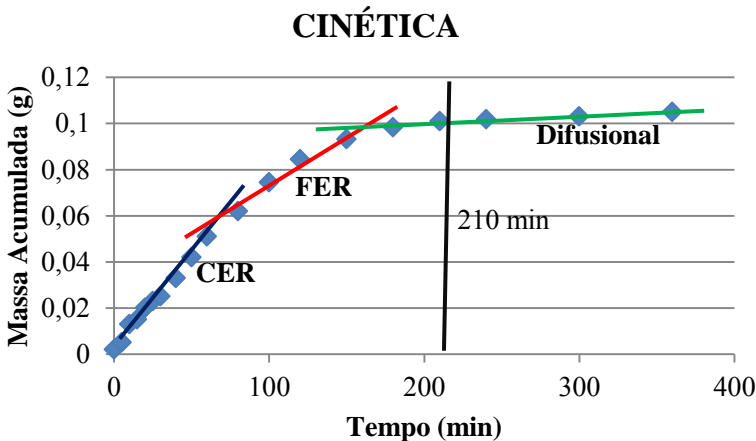
Os testes iniciais de cinética de extração supercrítica foram realizados com o objetivo de definir as condições operacionais mais adequadas a serem utilizadas nas extrações. Foi utilizada a condição de pressão e temperatura intermediária, dentre os valores definidos para os ensaios da curva de extração, nos valores de 200 bar e $50\text{ }^\circ\text{C}$ respectivamente e com a vazão média de $0,5\text{ kg/h}$. Com o ensaio de ESC e elaboração da curva de extração para as cascas de manga, com massa de extrato em função da massa de solvente empregado, foi definido o tempo de extração a ser empregado nos ensaios de rendimento.

Para avaliar os efeitos da pressão e da temperatura empregados no processo de extração supercrítica foi necessário fixar um tempo de extração para os ensaios de rendimento global (X_0). O tempo de

extração é fixado com base nas etapas da curva de extração. Na etapa de taxa constante de extração (CER) as partículas se encontram completamente envoltas por uma camada superficial de soluto, fazendo com que o processo seja caracterizado pela transferência de massa por convecção entre a superfície do sólido e o solvente. Após a etapa de extração constante (CER), tem início a etapa de extração decrescente (FER), ocasionada pela exaustão da camada de soluto na superfície das partículas e pelo início da transferência por difusão, pois o solvente encontra espaços livres para penetrar na matriz sólida, solubilizar o soluto e retornar à superfície da partícula. A etapa final é a de taxa quase nula ou difusional de extração controlada (Etapa difusional), na qual a inclinação da curva diminui e a curva se aproxima do valor que representa o conteúdo teórico de soluto extraível (X_0), onde a transferência de massa ocorre principalmente pela difusão do soluto no leite e dentro da partícula sólida (FERREIRA; MEIRELES, 2002).

A curva obtida com 15 g de matéria-prima está apresentada na Figura 4.1.

Figura 4.1 Curva de extração supercrítica a 200 bar, 50 °C, 15 g de amostra da casca de manga e vazão de solvente de 0,5 kg/h.



Na Figura 4.1 é observando o comportamento das curvas de extração, e conclui-se que o tempo de 210 min é adequado para a extração supercrítica na amostra da casca de manga nas condições definidas. O tempo foi definido de forma que a etapa difusiva fosse alcançada, garantindo que a maior parte de soluto tenha sido extraída.

Os valores experimentais de massa de extrato *versus* tempo de extração obtidos na curva da extração supercrítica da casca de manga são apresentados na Tabela I (Apêndice 1).

4.2 Determinação do rendimento global de extrato (X_0)

4.2.1 Extrações a baixa pressão

Os rendimentos dos extratos de casca de manga obtidos nas extrações a baixa pressão, mediante o emprego de diferentes técnicas de extração como os processos Soxhlet, maceração e ultrassom, utilizando diferentes solventes, estão apresentadas na Tabela 4.1, assim como o índice de polaridade dos solventes empregados nas extrações.

Tabela 4.1: Valores de rendimento global (X_0) obtidos nas amostras da casca de manga da secagem natural e estufa, submetido às técnicas de extração a baixa pressão com diferentes solventes.

Técnica de Extração	Tipo de Secagem	Solventes	Polaridade	X_0 (%) b.s.
SOXHLET	Natural	Etanol	5,2	37,1 ^a ±0,7
		Hexano	0,0	2,5 ^d ±0,4
		Ac. Etila	4,4	4,5 ^d ±0,2
	Estufa	Etanol	5,2	36,3 ^a ±0,7
		Hexano	0,0	2,4 ^{de} ±0,5
		Ac. Etila	4,4	4,3 ^d ±0,2
MACERAÇÃO	Natural	Etanol	5,2	19 ^b ±2
		Hexano	0,0	2,3 ^d ±0,4
		Ac. Etila	4,4	4,5 ^d ±0,3
	Estufa	Etanol	5,2	19 ^b ±2
		Hexano	0,0	2,3 ^{de} ±0,5
		Ac. Etila	4,4	4,3 ^d ±0,1
ULTRASSOM	Natural	Etanol	5,2	11,6 ^c ±0,6
		Hexano	0,0	1,5 ^d ±0,5
		Ac. Etila	4,4	2,7 ^d ±0,5
	Estufa	Etanol	5,2	14,3 ^c ±0,5
		Hexano	0,0	1,5 ^{de} ±0,1
		Ac. Etila	4,4	1,9 ^{de} ±0,0

⁽¹⁾Índice de polaridade do solvente (BYERS, 2007).

⁽²⁾Letras iguais indicam que não há diferença significativa ($p < 0,05$).

Os resultados apresentados na Tabela 4.1 mostram que os melhores rendimentos para os dois tipos de secagem da matéria-prima, foram obtidos na extração Soxhlet utilizando etanol como solvente, alcançando valores de $37,1 \pm 0,7\%$ nas cascas da secagem natural e $36,3 \pm 0,7\%$ nas cascas secas por estufa, enquanto as extrações por maceração e assistida por ultrassom promoveram os menores rendimentos, respectivamente. Quanto aos solventes utilizados, os de maior polaridade tiveram melhores resultados em todas as técnicas de extrações, independentemente do tipo de secagem da matéria-prima, indicando que os compostos presentes na matriz vegetal apresentam polaridade alta.

Na extração em Soxhlet a temperatura de operação é a temperatura de ebulição do solvente, e com isso se reduz a tensão superficial e a viscosidade do solvente. Isso somado ao seu reciclo e às interações solventes-componentes da casca de manga, contribui para a maior dissolução e, conseqüentemente, maiores eficiências utilizando a extração Soxhlet em relação à maceração e ultrassom (MARKON et al., 2007).

Os baixos rendimentos obtidos na extração por maceração e na assistida por ultrassom aconteceram provavelmente pela utilização da baixa temperatura no processo. Em ambos os casos a temperatura usada foi à ambiente, ao contrário do que acontece com a extração Soxhlet. Com isso, a tensão superficial e viscosidade dos solventes permanecem relativamente altas, dificultando o acesso aos compostos solúveis da matriz, reduzindo o seu rendimento, mesmo que sejam utilizados os mesmos solventes da extração Soxhlet (MEZZOMO et al., 2010).

Em relação ao solvente o menor rendimento foi obtido com o hexano (apolar). Quanto ao método de extração utilizado, a extração assistida por ultrassom teve o rendimento inferior. Esta baixa eficiência com ultrassom pode estar relacionada ao pouco tempo de extração em relação aos outros métodos, que neste caso foi de 60 min a temperatura ambiente e com isso, contribui para uma menor solubilização dos compostos e difusão do solvente na matéria-prima, conseqüentemente obtendo os menores rendimentos.

Neste estudo, foram testados solventes de polaridades diferentes (baixa, média e alta) e os resultados nos dois tipos de secagem da amostra indicaram que o solvente de maior polaridade, que neste caso é o etanol, promove maiores rendimentos de extração. De acordo com os resultados obtidos nas três técnicas de extração à baixa pressão com diferentes solventes, e buscando aumentar o rendimento da extração supercrítica, foi selecionado o etanol como cossolvente a ser empregado

no processo de extração supercrítica por apresentar altos rendimentos em relação às outras extrações empregadas.

4.2.2 Extração a alta pressão

A Tabela 4.2 apresenta os resultados médios do rendimento global de extração (X_0) nas condições de pressão e temperatura utilizadas com CO_2 puro e com proporções distintas de cossolvente, ambas utilizando a vazão média de 0,5 kg/h nos extratos de casca de manga secas por estufa.

Tabela 4.2: Valores de rendimento global (X_0) obtidos nas extrações supercríticas utilizando CO_2 puro e com cossolvente nas amostras da casca de manga secas por estufa nas diferentes condições de pressão (P) e temperatura (T).

P(bar)	T(°C)	Solventes	$\rho_{\text{CO}_2}(\text{g/cm}^3)^{(1)}$	X_0 (%) ⁽²⁾
100	40	CO_2	0,629	0,8 ^{bc} ±0,1
	50	CO_2	0,385	0,72 ^{bc} ±0,01
	60	CO_2	0,295	0,50 ^{bc} ±0,02
200	40	CO_2	0,840	2,4 ^{ab} ±0,1
	50	CO_2	0,785	1,42 ^{bc} ±0,08
	60	CO_2	0,724	1,40 ^{bc} ±0,02
300	40	CO_2	0,911	2,7 ^{ab} ±0,8
	50	CO_2	0,871	3,8 ^a ±0,7
	60	CO_2	0,830	2,55 ^{ab} ±0,02
300	50	$\text{CO}_2+2,5\%\text{EtOH}$	-----	3,7 ^c ± 0,1
		$\text{CO}_2+5,0\%\text{EtOH}$	-----	4,0 ^a ± 0,1
		$\text{CO}_2+7,5\%\text{EtOH}$	-----	3,71 ^b ± 0,07

⁽¹⁾ANGUS; ARMSTRONG; DE REUCK, 1976.

⁽²⁾Letras iguais indicam que não há diferença significativa ($p < 0,05$).

Os rendimentos obtidos na extração Soxhlet foram superiores aos da extração supercrítica e, conforme os resultados obtidos nas técnicas a baixa pressão. A eficiência no método da extração em Soxhlet está relacionada ao seu maior tempo de operação e de volume de solvente assim como sua recirculação no processo, quando comparado com a extração supercrítica. Entretanto, a extração em Soxhlet promove extrato menos puro (Possível degradação térmica do extrato, eliminação incompleta do solvente e dentre outros) do que a ESC.

O solvente que proporcionou maior rendimento na baixa pressão foi o etanol, podendo ser o solvente adequado para auxiliar na extração de compostos de natureza polar na extração a alta pressão com CO₂. Além dos altos rendimentos obtidos através do sistema Soxhlet, o etanol foi escolhido como cossolvente de ESC por ser comumente empregado em indústrias alimentícias (MEZZOMO, 2008). O dióxido de carbono é apolar, então ele extrai preferencialmente compostos apolares. A adição de um cossolvente com característica polar junto à extração supercrítica faz com que compostos polares não extraídos pelo dióxido de carbono puro passem a ser solubilizados pela mistura de CO₂ e etanol (cossolvente).

De acordo com a Tabela 4.2, o maior rendimento do processo de extração a alta pressão na casca de manga com o solvente CO₂ puro, foi obtido na condição de 300 bar e 50 °C, que por sua vez é estatisticamente semelhante as condições de 300 bar (40°C e 60°C) e 200 bar/40°C. O menor rendimento obtido foi na condição de 100 bar e 60°C, que é estatisticamente semelhante às condições 100 bar (50°C e 40°C).

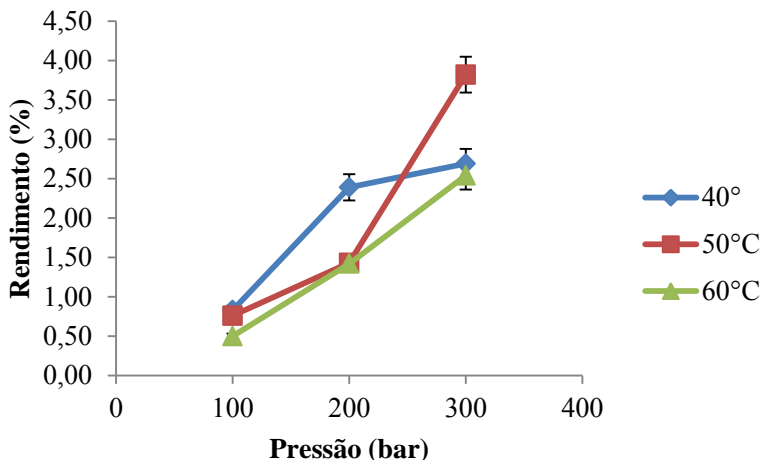
Não foi observado efeito da temperatura no rendimento global (X_0) em nenhuma das pressões avaliadas. Já a pressão teve efeito somente quando a pressão foi elevada de 200 para 300 bar, nas temperaturas de 50 e 60 °C. Esse comportamento se dá provavelmente pelo aumento da densidade do solvente supercrítico com a pressão já que aumenta o poder de solvatação do CO₂ (BRUNNER, 1994) nos compostos extraíveis da casca da manga. Além disso, o aumento da pressão pode gerar rupturas na matriz vegetal facilitando a liberação de compostos que não estavam disponíveis anteriormente, e dessa forma, aumentando o rendimento do processo (CAMPOS et al., 2005).

Para aumentar o rendimento e até mesmo a detecção dos constituintes do óleo de casca de manga na extração supercrítica, utilizou-se etanol como cossolvente em diferentes concentrações (2,5%; 5,0% e 7,5%) em relação à massa de CO₂ puro empregada naquela condição de maior rendimento obtido na extração a alta pressão com CO₂ puro, que neste trabalho, foi alcançado na condição de 300 bar e 50 °C. Já o cossolvente teve efeito somente quando foi elevada a proporção de etanol de 2,5% para 5,0%. Já no aumento da proporção de 5,0% para 7,5% o rendimento diminuiu. O aumento na porcentagem de etanol aumenta o rendimento da ESC devido ao aumento da solubilidade dos compostos no solvente. Porém, isto ocorre até um máximo, que é quando a concentração de cossolvente é de 5,0%. Após esse máximo, aumentando se a concentração de cossolvente, o rendimento diminui.

Este efeito também foi observado por LÓPEZ et al. (2004) na extração de astaxanthin de crustáceos. Isto ocorre provavelmente porque quando a porcentagem de cossolvente utilizado é muito alta (acima de uma concentração ótima determinada experimentalmente) a extração de compostos apolares fica prejudicada, já que o etanol é polar e extrai preferencialmente compostos polares. Outra provável razão para que o rendimento da ESC com cossolvente tenha diminuído com o aumento da porcentagem de cossolvente utilizado é devido à formação de pontes de hidrogênio. O etanol possui em suas moléculas o grupo – OH o que as torna capazes de formar ligações de hidrogênio entre si. Por outro lado as moléculas dos compostos polares presentes no extrato da casca de manga também formam ligações de hidrogênio entre si. Então, para que o soluto seja solvatado pelo solvente é necessária a formação de novas ligações de hidrogênio, agora entre as moléculas de etanol e as moléculas dos compostos polares do extrato. A energia necessária para a formação dessas novas ligações é proveniente do rompimento das ligações de hidrogênio entre as moléculas do soluto. No entanto, quando a quantidade de cosolvente (% etanol) é muito alta não haverá energia suficiente para romper as ligações entre as moléculas de etanol e conseqüentemente menos moléculas de soluto (compostos polares) serão solubilizadas pelo solvente (MORRISON & BOYD, 1996). Desta maneira o rendimento global da extração diminui.

Na Figura 4.2 verifica-se uma possível região de inversão próxima ao ponto correspondente a pressão de 200 bar. Nas pressões de 100 e 200 bar, o rendimento aumenta com a redução da temperatura, predominando o efeito da densidade do solvente. Depois dessa região, até 300 bar o efeito da pressão de vapor é dominante. Com aqueles efeitos contrários do rendimento relacionado ao valor da temperatura e pressão, resulta no fenômeno chamado de retrogradação, no qual ocorre a inversão das isotermas de rendimento (BRUNNER, 1994; MICHIELIN, 2009). Este acontecimento representa a influência da pressão de vapor do soluto e do poder de solvatação do solvente, na solubilidade e também no rendimento do processo (MICHIELIN et al., 2005; ALMEIDA et al., 2007).

Figura 4.2 Isotermas de rendimento de extração supercrítica.



Alguns autores realizaram a extração supercrítica em folha da manga. No trabalho de Fernández-Ponce et al. (2012) relatou um maior rendimento global de 1,22%, para a extração de folhas de manga nas condições de 40 MPa (400 bar) e 328 K (55 °C). Santos et al (2013) obtiveram resultados de rendimento da extração supercrítica na folha da manga nas condições de 150 bar [40 °C (0,69%) e 60 °C (0,59%)]; 200 bar 50 °C (1,16%) e 250 bar [40 °C (1,2%) e 60 °C (1,1%)], sendo o seu melhor rendimento de 1,2% a 250 bar e 40 °C. Prado et al (2013) obtiveram a isoterma do rendimento global na extração supercrítica variando a pressão (100 a 400 bar) e temperatura (40 a 50°C) obtendo o maior valor de rendimento de 2,14% na condição de 300 bar e 50°C. Sendo assim, os resultados observados neste trabalho com a casca da manga estão de acordo com os dados disponíveis na literatura em relação à folha do fruto.

4.2.3 Caracterização do leito de partículas da Extração supercrítica

4.2.3.1 Diâmetro médio e massa específica real (ρ_r) das partículas

De acordo com a Tabela 4.3, o diâmetro médio das partículas da casca de manga apresentou o valor de 0,72 mm e a massa específica real

(ρ_r) foi de $1,3635 \pm 0,0003 \text{ g/cm}^3$, empregada para o cálculo da porosidade do leito, conforme o descrito por Santana e Gasparetto (2009).

Tabela 4.3: Caracterização da partícula e do leito de partículas formado para a extração supercrítica.

Diâmetro médio da partícula mm	Massa específica Aparente (ρ_a) g/cm ³	Massa específica real (ρ_r) g/cm ³	Porosidade do leito (ϵ)
0,72	0,716	$1,3635 \pm 0,0003$	0,473

4.3 Determinação do Teor de Fenólicos Totais (TFT)

Nos extratos de manga obtidos por extrações a baixa e alta pressão foi determinado o teor de fenólicos totais (TFT) através do método de Folin – Ciocalteau.

Os valores encontrados de teor de compostos fenólicos totais para os extratos da casca de manga obtidos pelas técnicas de extração a baixa pressão (Soxhlet, maceração e ultrassom) e extração supercrítica estão apresentados nas Tabelas 4.4 e 4.5.

A Tabela 4.4 informa que o extrato obtido na secagem natural e por estufa da casca de manga, utilizando o etanol como solvente apresentou melhor TFT em relação aos outros solventes aplicados em todas as técnicas utilizadas, com exceção para Sox/estufa/acetato de etila foi superior. Entre as técnicas de extração, os melhores resultados do TFT foram encontrados na maceração na amostra da secagem natural utilizando o etanol ($63^a \pm 2 \text{ mg EAG/g}$) e na ultrassom/estufa/etanol ($62,4^a \pm 3,5 \text{ mg EAG/g}$).

Os rendimentos globais de extração apresentados na Tabela 4.1 indicam baixos rendimentos para a técnica de ultrassom, enquanto a Soxhlet com etanol apresenta o maior rendimento. Assim, quando se deseja aliar o teor de fenólicos totais e rendimento dos extratos, pode-se dizer que a melhor opção é através da extração Soxhlet com etanol.

Foi observado que o etanol é o melhor solvente para a extração de compostos antioxidantes, pois, devido a sua característica polar, este solvente promove a extração de compostos como os ácidos fenólicos (BISCAIA, 2007) e, sendo assim, é confirmada a sua indicação como cossolvente na extração com CO₂ supercrítico. Já utilizando o acetato de etila, este solvente comportou-se de forma intermediária com relação ao teor de fenólicos totais. Anagnostopoulou et al. (2006), Chung et al.

(1999) e Parejo et al. (2002) também relataram a eficiência do acetato de etila para a obtenção de frações ricas em compostos fenólicos, concentrando compostos de polaridade intermediária.

Tabela 4.4: Avaliação do Teor de Fenólicos Totais nas amostras da casca de manga da secagem natural e estufa, obtidas nas extrações a baixa pressão com diferentes solventes.

Extração	Secagem	Solventes	Teor de Compostos Fenólicos Totais (mg EAG/g) ⁽¹⁾
SOXHLET	Natural	Etanol	25 ^c ± 2
		Hexano	2,3 ^f ± 0,3
		Acetato de Etila	21 ^{cd} ± 3
	Estufa	Etanol	10 ^{de} ± 1
		Hexano	18 ^d ± 2
		Acetato de Etila	30 ^c ± 1
MACERAÇÃO	Natural	Etanol	63 ^a ± 2
		Hexano	1,2 ^f ± 0,3
		Acetato de Etila	43 ^b ± 2
	Estufa	Etanol	45 ^b ± 4
		Hexano	5,6 ^e ± 0,3
		Acetato de Etila	54 ^b ± 3
ULTRASSOM	Natural	Etanol	20 ^d ± 2
		Hexano	8 ^e ± 1
		Acetato de Etila	11 ^e ± 1
	Estufa	Etanol	62 ^a ± 4
		Hexano	6 ^e ± 2
		Acetato de Etila	5 ^e ± 1

⁽¹⁾ Letras iguais indicam que não há diferença significativa ($p < 0,05$).

De forma geral, os compostos fenólicos são caracterizados como polares, e por isso são mais facilmente solubilizados em solventes de maior polaridade a exemplo do etanol (índice de polaridade: 5,2) e acetato de etila (índice de polaridade: 4,4). No entanto, podem apresentar uma ampla faixa de polaridade, sendo também solubilizados em solventes apolares como o hexano ou o dióxido de carbono (ANDRADE, 2012). Contudo, alguns destes compostos apresentam uma ampla faixa de polaridade, podendo também ser solubilizados por hexano e CO₂ supercrítico (ZIAKOVA; BRANDSTETEROVA, 2002). De acordo com a Tabela 4.4 a quantidade de compostos fenólicos

detectados nos extratos Soxhlet e ultrassom utilizando etanol, este solvente indica que é eficiente na solubilização de compostos que podem ter atividade antioxidante de misturas complexas presente na casca de manga. Na Tabela 4.4 é observado que os compostos fenólicos extraídos a baixa pressão possuem maior afinidade por solventes de polaridade intermediária e alta.

De acordo com Ma et al. (2008) o fenômeno de cavitação gerado pelas ondas no processo de extração com ultrassom facilita a liberação e a solubilização de compostos presentes nos poros da amostra e associado à polaridade do solvente empregado, pode ter resultado numa melhor extração de compostos fenólicos em algumas condições em relação a mesma situação na extração por Soxhlet.

De acordo com a Tabela 4.5, o teor de fenólicos totais na extração supercrítica não apresentou variação proporcional, mas é observado que com a diminuição da pressão e aumento da temperatura houve uma tendência ao decréscimo do TFT. O maior valor obtido foi a 300 bar e 40 °C ($27,4^a \pm 0,8$ mg EAG/g) com CO₂ puro.

Tabela 4.5 Avaliação do TFT nas amostras das cascas de manga secas por estufa obtidas na ESC utilizando CO₂ puro e com cossolvente.

P (bar)	T (°C)	Solventes	TFT (mg EAG/g) ⁽¹⁾
100	40	CO ₂	15,4 ^c ± 0,8
	50	CO ₂	6,8 ^e ± 0,7
	60	CO ₂	0,45 ^f ± 0,02
200	40	CO ₂	17,5 ^b ± 0,4
	50	CO ₂	11,9 ^d ± 0,6
	60	CO ₂	12,7 ^d ± 0,3
300	40	CO ₂	27,4 ^a ± 0,8
	50	CO ₂	15,5 ^c ± 0,3
	60	CO ₂	7,01 ^e ± 0,03
300	50	CO ₂ +2,5% EtOH	12 ^b ± 1
		CO ₂ +5,0% EtOH	16,6 ^a ± 0,3
		CO ₂ +7,5% EtOH	7,8 ^c ± 0,3

⁽¹⁾ Letras iguais indicam que não há diferença significativa ($p < 0,05$).

A pressão teve efeito nas temperaturas de 40 e 50 °C aumentando o TFT com o aumento da pressão e na temperatura de 60 °C somente quando a pressão foi elevada de 100 para 200 bar. Na Tabela 4.5 é verificado que na condição 300 bar/50°C utilizando cossolvente o melhor resultado foi encontrado na proporção com 5,0% de etanol. Já o

cossolvente teve efeito somente quando foi elevada a proporção de etanol de 2,5% para 5,0%, motivo este semelhante e já relatado no cálculo do rendimento.

O TFT do antioxidante sintético padrão BHT apresentado por Benelli et al. (2010) é de 268 ± 13 mg EAG/g, ou seja, é bastante superior aos obtidos pelos extratos de casca de manga por qualquer umas das técnicas de extrações empregadas como mostrado nas Tabelas 4.4 e 4.5.

Bravo (1998) e Kalt et al. (2001) relatam que existe uma grande variação entre o conteúdo de compostos fenólicos totais presente nas frutas e vegetais. As diferenças estão relacionadas à complexidade dos grupos constituintes e à variabilidade das matérias-primas. Além disso, as diferenças encontradas para TFT na literatura para uma mesma fruta ou vegetal dependem, principalmente, das diferentes técnicas empregadas na extração e quantificação destes compostos. A quantidade de compostos fenólicos das plantas também depende de fatores como o gênero, espécie e cultivar da planta e de condições de cultivo, colheita e armazenamento (TOMAS-BARBERAN; ESPIN, 2001; RAPISARDA et al., 1999).

Liu et al. (2013) estudaram os TFTs dos extratos do fruto em algumas cultivar da manga utilizando o reagente de Folin-Ciocalteu e ácido gálico como padrão (Kim et al., 2009). Foram encontrando os seguintes valores de TFT nas variedades de mangas da China: Tainong ($1,397 \pm 0,024$ mg GAE/g), Irwin ($0,384 \pm 0,025$ mg GAE/g), JinHwang ($0,223 \pm 0,006$ mg GAE/g) e Keitt ($0,321 \pm 0,015$ mg GAE/g). Os valores de TFTs determinados neste trabalho encontram-se acima dos resultados descritos pelos autores. Isso é até justificado a casca conter mais antioxidante do que a polpa, pois ela tem a função de proteção da fruta.

Ajila et al. (2007b) determinaram os polifenólicos de duas variedades de casca da manga (Badami e Raspuri) da Índia em diferentes estados de maturação (verde e madura). A quantificação de polifenóis foi realizada utilizando o reagente Folin-Ciocalteu e o valor obtido por estes autores na casca da manga utilizando os solventes etanol e acetona a 80% (v/v) tiveram respectivamente os seguintes resultados: Badami verde ($37,9 \pm 0,9$ e $90,2 \pm 0,6$ mg GAE/g); Badami madura ($33,3 \pm 1,2$ e $54,7 \pm 1,5$ mg GAE/g); Raspuri verde ($73,9 \pm 0,4$ e $109,7 \pm 0,8$ mg GAE/g); Raspuri madura ($46,3 \pm 3,5$ e $100,0 \pm 1,9$ mg GAE/g). A maioria dos valores encontrados por Badami e da Raspuri madura utilizando o etanol estiveram dentro da faixa dos valores determinados neste trabalho para as extrações a baixa pressão.

Kim et. al.(2010) determinaram o TFT pelo método Folin-Ciocalteu na Polpa da Manga Verde ($27,8 \pm 2,2$ mg GAE/g), Polpa da Manga Madura ($26,9 \pm 3,8$ mg GAE/g), Casca da Manga Verde ($92,6 \pm 3,4$ mg GAE/g) e Casca da Manga Madura ($70,1 \pm 4,6$ mg GAE/g). Os valores encontrados neste trabalho, nas extrações a baixa pressão, encontram-se dentro da faixa de abrangência mencionada pelos autores em relação à polpa da manga. Já em relação à casca de manga, alguns dos valores encontrados neste trabalho, utilizando a extração por maceração, estão próximos da faixa de valores de TFT encontrado na casca da manga madura por aqueles autores. É observado que a quantidade de compostos fenólicos depende também do grau de maturação da matéria-prima, e neste caso é notado que a variação e TFT na casca é bem maior entre os amadurecimentos. Na extração supercrítica os valores de TFT deste trabalho a 300 bar nas temperaturas de 50 e 60 °C, encontram-se próximos da faixa de valores relatados pelos autores em relação à polpa da manga.

Sogi et al.,(2013) determinaram o teor de fenólicos totais de extrato da casca de manga da variedade Tommy Atkins por diferentes tecnologias (métodos de extração e tempos de secagens), obtendo os valores de 31,85 mg GAE/g em 11 h na secagem por liofilização; 23,20 mg GAE/g em 4 h na estufa; 20,32 mg GAE/g em 7 h de secagem à vácuo e 30,49 mg GAE/g em 2 h da secagem por infravermelho. O presente estudo encontrou resultados semelhantes em termos de teor de fenólicos totais para a casca de manga em diferentes processos de secagem, ou seja, os valores encontrados neste trabalho nas extrações a baixa pressão encontram-se dentro da faixa de abrangência descrita pelos autores.

Ribeiro et al. (2008) determinaram, pelo método Folin-Ciocalteu, o TFT da casca da manga de variedade Ubá obtendo o valor de 0,057 mg GAE/g utilizando o metanol e água (60:40 v/v) como solventes. Os valores encontrados neste trabalho, nas extrações a baixa e alta pressão, são maiores do que os resultados descrito pelos autores.

Avaliando o resultado geral desta análise, verifica-se que a presença de compostos fenólicos é observada em maior valor nos solventes de alta e média polaridade, não sendo, portanto, facilmente extraíveis por solventes de baixa polaridade ou apolares.

4.4 Atividade Antioxidante (AA)

4.4.1 Método do radical cátion 2,2' -azinobis (3 - etilbenzotiazolina – 6 - ácido sulfônico) (ABTS)

Na Tabela 4.6 são apresentados os valores da atividade antioxidante dos extratos da casca de manga pelo método ABTS nas extrações a baixa pressão. Os extratos são avaliados em termos de poder de seqüestro de radicais, expressos em atividade antioxidante equivalente ao Trolox (TEAC).

Tabela 4.6: Avaliação da atividade antioxidante através do método ABTS nas amostras da casca de manga da secagem natural e estufa, obtidas nas extrações a baixa pressão com diferentes solventes.

Extração	Secagem	Solventes	AA($\mu\text{M TEAC/g}_{\text{extrato}}$) ⁽¹⁾
SOXHLET	Natural	Etanol	287 ^c \pm 13
		Hexano	88 ^c \pm 4
		Acetato de Etila	372 ^b \pm 36
	Estufa	Etanol	1123 ^b \pm 40
		Hexano	189 ^{efg} \pm 32
		Acetato de Etila	273 ^{de} \pm 23
MACERAÇÃO	Natural	Etanol	260 ^c \pm 20
		Hexano	266 ^c \pm 23
		Acetato de Etila	500 ^a \pm 18
	Estufa	Etanol	1287 ^a \pm 3
		Hexano	107 ^f \pm 4
		Acetato de Etila	341 ^{cd} \pm 8
ULTRASSOM	Natural	Etanol	181 ^d \pm 13
		Hexano	136 ^{de} \pm 12
		Acetato de Etila	345 ^b \pm 12
	Estufa	Etanol	216 ^{ei} \pm 12
		Hexano	121 ^g \pm 1
		Acetato de Etila	403 ^c \pm 1

⁽¹⁾ Letras iguais indicam que não há diferença significativa ($p < 0,05$).

Observando a Tabela 4.6, notam-se nas extrações a baixa pressão que os extratos obtidos por Soxhlet nas amostras da casca da secagem natural com o solvente acetato de etila e etanol apresentaram nesta ordem as maiores capacidades antioxidantes pelo método ABTS (372 ± 36 e $287 \pm 13 \mu\text{M TEAC/g}$ extrato, respectivamente). Já nas cascas secas por estufa o maior valor do ABTS de toda a extração foi obtido na maceração ($1287 \pm 3 \mu\text{M TEAC/g}$ extrato) seguido pela extração Soxhlet ($1123 \pm 40 \mu\text{M TEAC/g}$ extrato) ambos utilizando o solvente etanol, demonstrando assim que na AA por ABTS a afinidade dos compostos responsáveis pelo potencial antioxidante é por solventes de

polaridade intermediária a alta. Nos demais resultados, o ABTS apresentou maiores valores com o solvente acetato de etila independente do tipo de secagem da matéria prima, apresentando capacidade antioxidante de até $500 \pm 18 \mu\text{M TEAC/g}$ na maceração com extrato da secagem natural.

Na Tabela 4.7 são apresentados os valores da atividade antioxidante pelo método ABTS dos extratos da casca de manga obtidos por extração supercrítica. Os resultados variaram do menor valor ($55 \pm 3 \mu\text{M TEAC/g}_{\text{extrato}}$) na condição de 300 bar/60°C ao maior valor ($254 \pm 18 \mu\text{M TEAC/g}_{\text{extrato}}$) em 200 bar/50°C.

Tabela 4.7: Avaliação da atividade antioxidante através do método ABTS nas amostras das cascas de manga secas por estufa obtidas na ESC utilizando CO_2 puro e com cossolvente.

P(bar)	T(°C)	Solvente	AA ($\mu\text{M TEAC/g}_{\text{extrato}}$) ⁽¹⁾
100	40	CO_2	$114^{bc} \pm 14$
	50	CO_2	$129^{bc} \pm 14$
	60	CO_2	$114^{bc} \pm 14$
200	40	CO_2	$125^{bc} \pm 12$
	50	CO_2	$254^a \pm 18$
	60	CO_2	$152^b \pm 10$
300	40	CO_2	$144^{bc} \pm 12$
	50	CO_2	$111^c \pm 8$
	60	CO_2	$55^e \pm 3$
300	50	$\text{CO}_2 + 2,5\% \text{ EtOH}$	$381,6^a \pm 9,5$
		$\text{CO}_2 + 5,0\% \text{ EtOH}$	$308^b \pm 7$
		$\text{CO}_2 + 7,5\% \text{ EtOH}$	$391^a \pm 17$

⁽¹⁾ Letras iguais indicam que não há diferença significativa ($p < 0,05$).

De acordo com a Tabela 4.7 é observado que utilizando cossolvente na condição de 300bar/50°C, houve um aumento que variou de 2,5 vezes (5,0% de etanol) a 3,5 vezes (7,5% de etanol) em relação à mesma condição usando o CO_2 puro. Na condição de 300 bar/50°C utilizando 7,5% de etanol obteve o maior resultado ($391 \pm 17 \text{ AA } \mu\text{M TEAC/g}_{\text{extrato}}$) de todas as avaliações da atividade antioxidante através do método ABTS obtidas na extração supercrítica.

Sogi et. al.(2013) determinaram a capacidade antioxidante pelo radical ABTS da casca de manga da variedade Tommy Atkins por diferentes métodos e tempos de secagens, obtendo os valores de $197 \mu\text{M TEAC/g}_{\text{extrato}}$ em 11 h na secagem por liofilização, $187 \mu\text{M TEAC/g}_{\text{extrato}}$

em 4 h na estufa, $168 \mu\text{M TEAC/g}_{\text{extrato}}$ em 7 h de secagem a vácuo e $192 \mu\text{M TEAC/g}_{\text{extrato}}$ em 2 h da secagem por infravermelho. A análise estatística não mostrou diferença significativa entre os quatro tipos de secadores utilizados para a casca de manga. A maioria dos valores de ABTS determinados neste trabalho nas extrações a baixa pressão encontram-se acima da faixa de abrangência relatada por aqueles autores. Porém, alguns valores das extrações que utilizaram o solvente hexano estão próximos dos valores relatados por eles. Já na extração supercrítica a maioria dos valores deste trabalho está abaixo dos valores relatados pelos autores.

Ma et al. (2011) analisaram oito tipos de fruta manga cultivadas na China, avaliando o potencial antioxidante por vários ensaios bioquímicos e dentre eles o ABTS. Os valores determinados na análise feita pelo ABTS foram expressos em equivalente ao Trolox variando de $600 \pm 55 \mu\text{M TEAC/g}_{\text{extrato}}$ a $1551 \pm 17 \mu\text{M TEAC/g}_{\text{extrato}}$.

Ling et al. (2009) utilizaram o método ABTS nos extratos da folha manga *Mangifera indica* L. (*Anacardiaceae* Family) e analisaram os radicais livres da atividade seqüestradora utilizando os solventes etanol e água. A atividade eliminadora de ABTS e EC_{50} dos extratos e controles positivos foi calculada como descrito para o ensaio de DPPH com o intuito de comparar os dois métodos. O extrato com etanol apresentou maior valor ($\text{EC}_{50} = 0,02 \pm 0,003 \text{ mg/ml}$) nos extratos em meio aquosos ($\text{EC}_{50} = 0,13 \pm 0,03 \text{ mg/ml}$). O ensaio ABTS mostrou a sensibilidade mais elevada em comparação ao de DPPH.

4.4.2 Método do radical 1,1-difenil-2-picrilidrazina (DPPH)

No método DPPH, a atividade antioxidante é apresentada em valores da concentração onde o extrato apresenta 50% da sua atividade máxima (EC_{50}) e em percentual de atividade antioxidante (%AA) e na Tabela 4.8 estão apresentados os resultados da atividade antioxidante dos extratos da casca de manga obtidos nas extrações a baixa pressão utilizando solventes de diferentes polaridades.

A atividade antioxidante pelo método DPPH é referente à maior concentração de extrato testada (500 mg/mL). Nesta concentração os extratos obtidos a partir das extrações a baixa pressão de extratos da casca de manga utilizando o etanol e acetato de etila como solventes nas técnicas Soxhlet, maceração e ultrassom, apresentaram nesta ordem, os melhores valores de atividade antioxidante. A maioria daqueles valores foi superior, em comparação, ao encontrado no antioxidante sintético de reconhecida atividade antioxidante BHT (EC_{50} : $261 \pm 12 \mu\text{g/mL}$; %AA:

89,7 ± 0,5 500µg/mL), determinado por Benelli et. al. (2010). Os valores de AA% abaixo da referência BHT ocorreram utilizando o solvente hexano em todas as técnicas de extração com ambos os métodos de secagem, na maceração com acetato de etila e estufa e em todas as amostras processadas com ultrassom exceto a com etanol e secagem natural. A baixa atividade antioxidante encontrada nos extratos obtidos com hexano pode estar associada à baixa polaridade do solvente.

Tabela 4.8: Avaliação da atividade antioxidante através do método DPPH nas amostras da casca de manga da secagem natural e estufa, obtidas nas extrações a baixa pressão com diferentes solventes.

Extração	Secagem	Solventes	EC₅₀ (µg/mL)⁽¹⁾	%AA (500mg/mL)
SOXHLET	Natural	Etanol	67 ^d ±1	95,7 ^a ±0,4
		Hexano	873 ^b ±21	30 ^c ±1
		Ac. Etila	123 ^d ±7	95,2 ^a ±0,4
	Estufa	Etanol	219 ^l ±2	96 ^a ±1
		Hexano	560 ^a ±2	44,3 ^l ±0,3
		Ac. Etila	116 ^g ±3	96,5 ^a ±0,5
MACERAÇÃO	Natural	Etanol	70 ^d ±2	96 ^a ±1
		Hexano	847 ^b ±38	29 ^c ±2
		Ac. Etila	134 ^d ±2	95,4 ^a ±0,4
	Estufa	Etanol	121 ^g ±2	94,7 ^a ±0,1
		Hexano	527 ^b ±2	47,6 ^e ±0,4
		Ac. Etila	282 ^e ±4	84 ^b ±1
ULTRASSOM	Natural	Etanol	126 ^d ±2	94,4 ^a ±0,4
		Hexano	1146 ^a ±77	23 ^d ±1
		Ac. Etila	304 ^c ±3	79,7 ^b ±0,3
	Estufa	Etanol	311 ^d ±4	72,4 ^c ±0,7
		Hexano	311 ^d ±4	22 ^g ±1
		Ac. Etila	404 ^c ±1	61 ^d ±1

⁽¹⁾ Letras iguais indicam que não há diferença significativa ($p < 0,05$).

Quanto menor o valor de EC₅₀, maior a atividade antioxidante do extrato, já que este valor representa a quantidade de extrato necessária para reduzir em 50% a atividade do radical livre. Os maiores valores da concentração efetiva (EC₅₀) para os extratos obtidos foram na seguinte sequência: extração por Soxhlet e maceração nas amostras da secagem natural e utilizando o solvente etanol (67 ± 1 µg/mL e 70 ± 2 µg/mL, respectivamente). Em seguida no Soxhlet com acetato de etila nas

amostras da secagem natural e estufa ($123 \pm 7 \mu\text{g/mL}$ e $116 \pm 3 \mu\text{g/mL}$, respectivamente). Na extração por ultrassom usando o etanol da amostra da secagem natural ($126 \pm 2 \mu\text{g/mL}$) e maceração da secagem natural com acetato de etila ($134 \pm 2 \mu\text{g/mL}$) e finalizando extração por Soxhlet da secagem por estufa e utilizando o solvente etanol ($218 \pm 2 \mu\text{g/mL}$). Estes valores mostrados são maiores que o apresentado por Benelli et al. (2010) para o antioxidante sintético BHT ($261 \pm 12 \mu\text{g/mL}$), ao nível de 5% de significância. Segundo Campos et al. (2008), valores de EC_{50} acima de $250 \mu\text{g/mL}$ são considerados de baixo potencial antioxidante. Nos processos de extração por Soxhlet percebe-se que a utilização de aquecimento do solvente até a ebulição e sua recirculação no processo aumenta o percentual de atividade antioxidante (%AA) e diminui o EC_{50} dos extratos quando estes são comparados com a extração por maceração e ultrassom utilizando os mesmos solventes.

De acordo com a Tabela 4.9, na extração supercrítica, a atividade antioxidante EC_{50} do extrato variou de $562 \pm 28 \mu\text{g/mL}$ na condição de 100 bar/40 °C a $1236 \pm 147 \mu\text{g/mL}$ na condição de 200 bar/40 °C.

Tabela 4.9: Avaliação da atividade antioxidante através do método DPPH nas amostras das cascas de manga secas por estufa, obtida na ESC utilizando CO_2 puro e com cossolvente.

P(bar)	T(°C)	Solvente	EC_{50} ($\mu\text{g/mL}$) ⁽¹⁾	%AA (500mg/mL) ⁽¹⁾
100	40	CO_2	$562^{\text{de}} \pm 28$	$15^{\text{cd}} \pm 6$
	50	CO_2	$680^{\text{de}} \pm 34$	$37^{\text{a}} \pm 2$
	60	CO_2	$2192^{\text{a}} \pm 239$	$17^{\text{cd}} \pm 2$
200	40	CO_2	$1236^{\text{bc}} \pm 147$	$25^{\text{bc}} \pm 2$
	50	CO_2	$1432^{\text{b}} \pm 25$	$18^{\text{cd}} \pm 2$
	60	CO_2	$831^{\text{de}} \pm 48$	$32^{\text{b}} \pm 2$
300	40	CO_2	$1191^{\text{bc}} \pm 41$	$25^{\text{bc}} \pm 1$
	50	CO_2	$718^{\text{de}} \pm 32$	$34^{\text{a}} \pm 2$
	60	CO_2	$1001^{\text{cd}} \pm 72$	$25^{\text{bc}} \pm 3$
300	50	$\text{CO}_2 + 2,5\% \text{EtOH}$	$739^{\text{a}} \pm 1$	$33,2^{\text{b}} \pm 0,4$
		$\text{CO}_2 + 5,0\% \text{EtOH}$	$593^{\text{b}} \pm 3$	$37^{\text{ab}} \pm 5$
		$\text{CO}_2 + 7,5\% \text{EtOH}$	$587^{\text{c}} \pm 2$	$41,4^{\text{a}} \pm 0,6$

⁽¹⁾ Letras iguais indicam que não há diferença significativa ($p < 0,05$).

O resultado percentual da atividade antioxidante (%AA) do DPPH nas extrações a baixa pressão foi maior do que na extração supercrítica.

Utilizando cossolvente na condição de 300 bar/50°C, é observado que na proporção de 2,5% o EC₅₀ é estatisticamente semelhante à mesma condição com CO₂ puro. A condição 100bar/40°C é o maior resultado da atividade antioxidante pelo método do DPPH nas extrações supercrítica das amostras da casca da manga.

Liu et al. (2013) estudaram os valores %AA pelo método do DPPH dos extratos do fruto em algumas cultivares de manga da China. Foram encontrados os seguintes valores expressos em micrograma de vitamina C (Vc) por mililitro nas variedades da manga: *Tainong* 2696,9 ± 57,2 (µg Vc/ml), *Irwin* 461,3 ± 28,4 (µg Vc/ml), *JinHwang* 280,1 ± 20,1 (µg Vc/ml) e *Keitt* 401,0 ± 14,5 (µg Vc/ml). Exceto manga *Tainong*, os valores encontrados neste trabalho, quando são utilizados os solventes etanol e acetato de etila nas extrações a baixa pressão, encontram-se acima da faixa de abrangência relatada pelos autores.

Ajila et. al. (2007b) determinaram o DPPH da casca de manga. O valor do DPPH na concentração EC₅₀ obtido por estes autores na casca da manga Badami verde foi 4,54 ± 0,02 (µg de GAE); na casca da manga Badami madura 3,67 ± 0,06 (µg de GAE) utilizando a acetona como solvente. Na casca da manga Raspuri verde foi 1,98 ± 0,05 (µg de GAE); na casca da manga Raspuri madura 1,83 ± 0,02 (µg de GAE) utilizando o solvente acetona.

Sogi et. al., (2013) determinaram a atividade antioxidante pelo radical DPPH da casca de manga da variedade Tommy Atkins por diferentes métodos e tempos de secagens, obtendo os valores de 219 µM TEAC/g_{extrato} em 11 h na secagem por liofilização, 188 µM TEAC/g_{extrato} em 4 h na estufa, 176 µM TEAC/g_{extrato} em 7 h de secagem à vácuo e 203 µM TEAC/g_{extrato} em 2 h da secagem por infravermelho.

De acordo com Ma et al.(2011), a atividade antioxidante dos radicais livres determinados por DPPH variou de 461 ± 22 para 2930 ± 18 µM TEAC/g_{extrato}.

Ling et al. (2009) utilizaram o método DPPH nos extratos da folha manga *Mangifera indica L. (Anacardiaceae Family)* e analisaram os radicais livres da atividade seqüestradora utilizando os solventes etanol e água. O extrato com etanol exibiu maior EC₅₀ (170 ± 2µg/ml) do que nos extratos em meio aquosos (490 ± 40µ/ml).

4.4.3 Sistema β-caroteno/ácido linoléico

Na Tabela 4.10 estão os valores de atividade antioxidante dos extratos da casca de manga seca ao ar livre (natural) e por estufa obtidos pelas extrações a baixa pressão utilizando solventes de diferentes

polaridades, e na Tabela 4.11 as amostras da casca nas extrações supercríticas aplicando diferentes condições de pressão e temperatura.

Tabela 4.10: Avaliação da atividade antioxidante através do método do sistema β -caroteno/ácido linoléico nas amostras da casca de manga da secagem natural e estufa, obtidas nas extrações a baixa pressão.

Extração	Secagem	Solventes	%AA (120 min)⁽¹⁾
SOXHLET	Natural	Etanol	25 ^f ±2
		Hexano	120 ^a ±2
		Acetato de Etila	44 ^e ±4
	Estufa	Etanol	3,2 ^g ±0,4
		Hexano	86 ^b ±3
		Acetato de Etila	73 ^c ±2
MACERAÇÃO	Natural	Etanol	56 ^d ±2
		Hexano	70 ^b ±2
		Acetato de Etila	56 ^d ±1
	Estufa	Etanol	36 ^e ±2
		Hexano	76 ^c ±2
		Acetato de Etila	132 ^a ±1
ULTRASSOM	Natural	Etanol	15 ^g ±1
		Hexano	62 ^c ±1
		Acetato de Etila	52 ^d ±1
	Estufa	Etanol	27 ^f ±1
		Hexano	66 ^d ±2
		Acetato de Etila	73 ^c ±2

⁽¹⁾ Letras iguais indicam que não há diferença significativa ($p < 0,05$).

Nas técnicas a baixa pressão o melhor resultado de % AA pelo método do β -caroteno/ácido linoléico foi obtido na amostra da maceração da secagem por estufa utilizando o solvente acetato de etila (132 ± 1 %AA 120 min), conforme a Tabela 4.10. Já nos métodos Soxhlet (natural e estufa), maceração/natural e ultrassom/natural o solvente hexano teve melhor resultado de %AA. Com isso é observado que esta técnica é adequada a sistemas de polaridade baixa, estes resultados indicam que os compostos antioxidantes detectados nos extratos citados são preferencialmente apolares devido à baixa polaridade dos solventes utilizados nas extrações.

Na extração supercrítica, de acordo com a Tabela 4.11, a atividade antioxidante do extrato no sistema β -caroteno/ácido linoléico variou de 66 ± 5 %AA (120 min) na condição de 200 bar/60 °C ao valor

de 136 ± 6 %AA (120 min) na condição 100 bar/50 °C. No geral, o resultado percentual da atividade antioxidante (%AA) na extração supercrítica foi melhor do que nas extrações a baixa pressão.

Tabela 4.11: Avaliação da atividade antioxidante através do método do sistema β -caroteno/ácido linoleico nas amostras das cascas da manga secas por estufa, obtido na ESC utilizando CO₂ puro e com cossolvente.

P(bar)	T(°C)	Solvente	%AA (120 min) ⁽¹⁾
100	40	CO ₂	94 ^c ±1
	50	CO ₂	136 ^a ±6
	60	CO ₂	113 ^b ±5
200	40	CO ₂	80 ^d ±3
	50	CO ₂	78 ^d ±3
	60	CO ₂	66 ^e ±5
300	40	CO ₂	82 ^d ±3
	50	CO ₂	96 ^c ±5
	60	CO ₂	105 ^{bc} ±3
300	50	CO ₂ +2,5%EtOH	63,6 ^d ±0,8
		CO ₂ +5,0%EtOH	99 ^c ±3
		CO ₂ +7,5%EtOH	99 ^c ±1

⁽¹⁾ Letras iguais indicam que não há diferença significativa ($p < 0,05$).

Ainda de acordo com a Tabela 4.11, utilizando cossolvente na condição de 300 bar/50 °C é observado que na proporção de 2,5% de etanol o valor é menor do que aquela mesma condição com CO₂ puro. Já nas proporções de 5,0% e 7,5% de etanol, os resultados do sistema β -caroteno/ácido linoléico são maiores e estatisticamente semelhante do que aquela mesma condição inicial sem cossolvente.

Os valores encontrados da atividade antioxidante através do método do sistema β -caroteno/ácido linoleico da casca da manga (Tabelas: 4.10 e 4.11) estão dentro da faixa de valores do antioxidante sintético BHT (113 ± 7 %AA (120 min) apresentado por Benelli et al. (2010) no sistema β -caroteno/ácido linoleico.

No trabalho de Liu et al (2013) foi relacionado a composição de antioxidante pelo sistema β -caroteno em cultivares de manga da China. Dentre elas está a *Keitt* e esta exibiu o mais alto teor de β -caroteno (0,06 mg/g) seguida pela *Tainong No.1* (0,05 mg/g), *Irwin* (0,03 mg/g) e *JinHwang* (0,02 mg/g). Nesta análise foi comparada os estudos dos autores Mercadante et al.(1997) que determinaram o conteúdo de β -caroteno na manga cultivada no Brasil *Keitt* (0,01 mg/g), Robles-

Sánchez et al., (2009) que determinou o teor na manga cultivada no Espanha *Kent* (0,01 mg/g). Vásquez-Caicedo et al. (2005) verificou em mangas tailandesas o conteúdo total de β -caroteno de quatro mangas de cor bem amarelas variando de 0,06 a 0,11 mg/g e outros cinco mangas pouco amarela variando de 0,01 a 0,02 mg/g.

4.5 Perfil de Fenólicos

Os extratos da casca de manga obtido pelas técnicas a baixa e a alta pressão foram identificados e quantificados por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE). Foram avaliadas 18 amostras de compostos padrão (padrões definidos para representar compostos presentes na casca da manga Tommy Atkins). Esses padrões foram analisados por CLAE para possibilitar a identificação e quantificação dos compostos fenólicos presentes nos diferentes extratos obtidos neste trabalho. Foram encontrados 13 compostos fenólicos distintos como os flavonoides (flavanóis, flavonóis), e os não-flavonoides (ácido fenólico e estilbeno) obtidos pelas técnicas de extração a baixa pressão e alta pressão supercrítica. Os resultados obtidos pela análise CLAE são apresentados nas Tabelas 4.14 e 4.15 que mostram os resultados de perfil químico para os extratos obtidos pelas extrações a baixa pressão, sendo que naquela ultima tabelas são listados apenas os extratos nos quais foram identificados compostos que não apareceram em nenhum outro extrato. Na Tabela 4.16 são apresentados os resultados de perfil químico para os extratos obtidos por tecnologia supercrítica, em diferentes condições de temperatura, pressão e concentração de cossolvente.

Na Tabela 4.15 são apresentados dois casos em que os compostos são identificados e quantificados em apenas uma amostra, num total de trinta, obtido pelas diferentes técnicas de extrações utilizadas na casca da manga. No extrato obtido no processo por maceração/estufa/acetato de etila foram encontrados o ácido benzóico e a procianidina B2. Nesse processo a identificação daqueles compostos é justificada pelo maior tempo de extração na maceração, aliado ao solvente apolar (acetato de etila). Já na amostra obtida por Soxhlet/natural/acetato de etila foi detectada a presença de isoramnetina e de miricetina, e nesse processo a presença daqueles compostos pode ser justificada pela sua extração na matéria-prima pelo uso do solvente apolar aliado à maior temperatura de extração utilizado no sistema Soxhlet em relação ao outros processos de extração, que operam a temperatura ambiente.

Nas amostras da extração a alta pressão supercrítica os compostos identificados e quantificados estão em menor quantidade do que aqueles encontrados nas amostras da extração a baixa pressão. Além disso, alguns compostos presentes nos extratos obtidos a baixa pressão, como o kaempferol e quercetina piranosídeo não foram detectados nas amostras dos extratos obtidos a alta pressão.

Nos resultados da CLAE, mostrados nas Tabelas 4.14 a 4.16, as quantidades máximas de flavanóis encontrada foram: catequina (até $0,04 \pm 0,01$ mg/kg na extração por Sox/natural/etanol e mac/natural/etanol e acetato de etila); procianidina A2 (até $0,29 \pm 0,01$ mg/kg na mac/natural/acetato de etila); procianidina B1 (até $0,09 \pm 0,01$ mg/kg na mac/natural/etanol); procianidina B2 (até $0,02 \pm 0,00$ mg/kg na mac/estufa/acetato de etila). Os valores máximos dos ácidos fenólicos foram: cinâmico (até $0,06 \pm 0,00$ mg/kg no Soxlet/estufa/hexano); benzoico ($0,03 \pm 0,01$ mg/kg na mac/estufa/ acetato de etila). O único estilbeno encontrado foi o resveratrol (até $0,04 \pm 0,00$ mg/kg na amostra da ESC na condição 300 bar/50 °C utilizando cossolventes nas proporções tanto de 2,5% como de 5,0% de etanol). Já a identificação dos compostos fenólicos dos extratos da casca da manga ocorreu em quantidades maiores nos flavonóis: kaempferol (até $3,1 \pm 0,3$ mg/kg; Sox/natural/acetato de etila); quercetina piranosídeo (até $6,46 \pm 0,32$ mg/kg; Sox/estufa/acetato de etila); quercetina (até $3,28 \pm 0,04$ mg/kg; Sox/estufa/acetato de etila) e principalmente a rutina (até $6,60 \pm 0,02$ mg/kg; mac/natural/acetato de etila) que foi o maior valor encontrado na cromatografia do composto fenólico presente na casca de manga Tommy Atkins. Este maior resultado é justificado principalmente pelo maior tempo de extração no processo por maceração (120 h) com o solvente de polaridade intermediária. É observado que nos resultados da ESC o maior valor obtido também foi do flavonol rutina (até $0,23 \pm 0,01$ mg/kg; 300 bar/50 °C – com cossolvente: 7,5% de etanol). Já na ESC, este resultado superior é justificado pelo uso da maior pressão de trabalho (300 bar) aliado à adição em maior proporção (7,5%) de cossolvente de polaridade alta, que neste caso é o etanol. Observa-se também que, em relação aos solventes, a rutina tem afinidade pelos solventes de polaridade intermediária e alta.

Ribeiro et. al. (2008) fizeram as análises por CLAE na casca de manga da variedade Ubá produzidas na cidade de Janaúba - MG no qual foram detectados 12 tipos de compostos fenólicos. As cascas foram secas em estufa a 65 °C, durante 72 h e depois moídas. Os compostos detectados na casca foram os flavonóis mangiferina ($199,0 \pm 5,3$ mg/kg), isomangiferina ($16,4 \pm 2,9$ mg/kg), mangiferina gallate (28 ± 1

mg/kg), isomangiferina gallate ($26,9 \pm 0,7$ mg/kg), kaempferol 3-O glucoside ($35,3 \pm 2,7$ mg/kg) e 07 tipos de quercetinas: quercetina 3-O-galactoside ($151,0 \pm 12,3$ mg/kg); quercetina 3-O-glucosideo ($370,0 \pm 25,6$ mg/kg); quercetina 3-O-xylosideo ($84,4 \pm 6,2$ mg/kg); quercetina 3-O-arabinopyranosideo ($64,8 \pm 5,3$ mg/kg); quercetina 3-O-arabinofuranosideo ($35,0 \pm 2,5$ mg/kg); quercetina 3-O-rhamnosideo ($15,8 \pm 1,2$ mg/kg); quercetina ($64,1 \pm 1,6$ mg/kg). Comparando os resultados do trabalho as cascas da manga Ubá com os resultados obtidos nesse trabalho com a casca da manga Tommy Atkins, verifica-se que os valores dos compostos fenólicos na casca da manga Tommy Atkins encontram-se abaixo da faixa de abrangência relatada pelos autores.

Berardini et. al. (2005) fizeram estudo em algumas cultivares da manga e verificaram que as cascas são uma fonte rica em flavonól-O-glicosídeos e xantonas-C-glicosídeos. Nesse contexto, eles observaram que a cultivar Tommy Atkins, obtida da produção na Universidade de Hohenheim, foi mais promissora porque suas cascas apresentaram os maiores teores de polifenóis e também pectina de alta qualidade. Eles realizaram as análises por cromatografia nas cascas para a identificação de 14 componentes. Analisaram dois tipos de secagem da matéria prima: casca da manga desidratada a 90°C durante 1,5 h e outra por liofilização. Na análise foram detectados 13 tipos de compostos fenólicos na casca da manga desidratada a 90°C e 06 tipos na casca desidratada por liofilização e dentre eles estão os flavonóis: mangiferina ($1690,4 \pm 134,8$ mg/kg; $1190,9 \pm 22,1$ mg/kg), isomangiferina ($134,5 \pm 1,9$ mg/kg; $51,9 \pm 0,2$ mg/kg), mangiferina gallato ($321,9 \pm 24,4$ mg/kg; $97,7 \pm 0,8$ mg/kg), isomangiferina gallato ($82,0 \pm 7,8$; $19,7 \pm 0,2$ mg/kg), quercetina 3-O-galactosideo ($651,2 \pm 44,1$ mg/kg; não detectado), quercetina 3-O-glucosideo ($557,7 \pm 39,7$ mg/kg; $31 \pm 0,7$ mg/kg), quercetina 3-O-xylosideo ($207,3 \pm 14,3$ mg/kg; não detectado), quercetina 3-O-arabinopyranosideo ($101,5 \pm 10,0$ mg/kg; não detectado), Quercetin 3-O-arabinofuranoside ($103,6 \pm 8,0$ mg/kg; não detectado), Quercetin 3-O-rhamnoside ($20,1 \pm 1,5$ mg/kg; não detectado), Kaempferol 3-O-glucosideo ($36,0 \pm 2,2$ mg/kg; não detectado), Rhamnetina 3-O-galactosideo/glucosideo ($94,4 \pm 6,3$ mg/kg; $4,3 \pm 0,0$ mg/kg), quercetina ($65,3 \pm 7,1$ mg/kg; $23,4 \pm 1,1$ mg/kg) e o ácido elágico (não detectado, traços) respectivamente naquele sequencia de secagem. Comparando os resultados dos autores com os obtidos nesse trabalho, verifica-se que os valores dos compostos fenólicos deste estudo encontram-se abaixo da faixa de abrangência relatada pelos

autores. Além disso, é observado também que o único composto em comum nos trabalhos é a quercetina.

Palafox et. al. (2012) fizeram a análise qualitativa e quantitativa na polpa da manga da variedade Ataulfo, que é uma cultivar líder no México, dos compostos fenólicos das matérias-primas *in natura* e extratos hidrofílicos em quatro fases de maturação usando a CLAE acoplada à espectrometria de massa. Os melhores compostos foram identificados na polpa *in natura*: ácido clorogênico (280 - 3010 mg/kg), ácido gálico (946 - 987 mg/kg), ácido vanílico (169 - 244 mg/kg) e ácido protocatecuico (4,8 - 11 mg/kg). Já os extratos hidrofílicos da polpa da manga obtiveram os valores: ácido clorogênico (18 - 177 mg/kg), ácido gálico (43 - 62 mg/kg), ácido vanílico (9,3 - 14 mg/kg) e ácido protocatecuico (0,32 - 0,61 mg/kg). De acordo com Palafox et. al. (2012) os antioxidantes (quatro ácidos fenólicos) da polpa e extrato da manga aumentaram, em sua maioria, durante o amadurecimento do fruto e na polpa da manga *in natura* os compostos são quantitativamente maiores do que nos extratos hidrofílicos. Comparando os resultados do trabalho dos autores com os obtidos nesse trabalho, verifica-se que os valores dos compostos fenólicos encontram-se abaixo da faixa de abrangência relatada pelos autores na polpa *in natura*. Porém, já nas amostras dos extratos hidrofílicos, os valores encontram-se dentro da faixa de abrangência relatada nesse trabalho.

De acordo com os resultados é possível perceber que a casca da manga Tommy Atkins é rica em flavonóis e, dentre eles, a rutina se destaca. De acordo com Negri et al. (2009), a rutina é um flavonol heterosídico derivado da quercetina com diversas atividades farmacológicas, entre elas a antioxidante. Estes compostos apresentam propriedades redutoras agindo na etapa inicial e na propagação do processo oxidativo (SOUSA et al., 2007).

Foi realizada a relação entre os compostos identificados na CLAE e a atividade antioxidante utilizando os coeficientes de correlação de Pearson obtidos entre compostos fenólicos e as atividades antioxidantes dos radicais ABTS, DPPH e β -caroteno/ácido linoleico que estão apresentados na Tabela 4.12 (extratos obtidos a baixa pressão) e na Tabela 4.13 (extratos obtidos a alta pressão). Para fins de discussão utilizamos os coeficientes positivos de correlação, significativos a 1% de probabilidade de erro ($p < 0,01$), entre os compostos analisados e as capacidades antioxidantes obtidas.

Para o ABTS os compostos fenólicos que apresentaram valores de r positivos ($p < 0,01$) nas extrações a baixa pressão foram os flavonóis kaempferol ($r = 0,37$), rutina ($r = 0,57$) e quercetina

piranosídeo ($r = 0,49$). Já nas extrações a alta pressão foi o flavanol quercitina ($r = 0,71$) e o estilbeno *t*-resveratrol ($r = 0,59$).

Para o DPPH os compostos fenólicos que apresentaram valores de r positivos ($p < 0,01$) foi o flavanol procianidina B2 ($r = 1,00$) somente na extração a baixa pressão.

Para o β -caroteno os compostos fenólicos que apresentaram valores de r positivos ($p < 0,01$) foi o flavanol procianidina B2 ($r = 1,00$) na extração a baixa pressão. Na extração a alta pressão foram o flavanol procianidina A2 ($r = 0,56$) e o flavanol rutina ($r = 0,61$).

Tabela 4.12: Resultado da análise de correlação de Pearson entre os fenólicos quantificados e a atividade antioxidante da casca de manga pelos métodos ABTS, DPPH e β -caroteno/ácido linoleico nas extrações a baixa pressão.

FENÓLICOS	ABTS		DPPH		β -caroteno	
	Pearson valor r	Prob.	Pearson valor r	Prob.	Pearson valor r	Prob.
FLAVANOIS						
Catequina	0,04	0,77	-0,42**	0,00	-0,20	0,14
Proc. A2	0,33*	0,01	-0,72**	0,00	-0,48**	0,00
Proc. B1	0,29*	0,03	-0,69**	0,00	-0,61**	0,00
Proc. B2	0,95*	0,05	1,00**	0,00	1,00**	0,00
FLAVONÓIS						
Kaempferol	0,37**	0,01	-0,68**	0,00	-0,22	0,10
Isorhamnetina	0,01	0,94	-0,19	0,17	-0,12	0,38
Rutina	0,57**	0,00	-0,72**	0,00	-0,52**	0,00
Quercitina	0,14	0,31	-0,46**	0,00	0,12	0,38
Quercitina	0,49**	0,00	-0,75**	0,00	-0,46**	0,00
Piranosídeo						
Miricetina	0,01	0,95	-0,19	0,17	-0,12	0,39
TFT	0,2	0,16	-0,54**	0,00	-0,87	0,53

* Correlações significativas a 5% de probabilidade de erro ($p < 0,05$).

**Correlações significativas a 1% de probabilidade de erro ($p < 0,01$).

Tabela 4.13: Resultado da análise de correlação de Pearson entre os fenólicos quantificados e a atividade antioxidante da casca de manga pelos métodos ABTS, DPPH e β -caroteno/ácido linoleico nas extrações a alta pressão.

FENÓLICOS	ABTS		DPPH		β -caroteno	
	Pearson valor <i>r</i>	<i>Prob.</i>	Pearson valor <i>r</i>	<i>Prob.</i>	Pearson valor <i>r</i>	<i>Prob.</i>
FLAVANOIS						
Catequina	0,17	0,32	-0,03	0,85	-0,70**	0,00
Proc. A2	-0,57**	0,00	0,05	0,79	0,56**	0,00
Proc. B1	0,32	0,05	-0,25	0,14	0,10	0,56
FLAVONÓIS						
Rutina	0,35*	0,03	-0,03	0,88	0,61**	0,00
Quercitina	0,71**	0,00	-0,45**	0,01	0,20	0,25
ESTILBENO						
<i>t</i> -Resveratrol	0,59**	0,00	-0,78	0,65	-0,22	0,19
ÁCIDOS FENÓLICOS						
Ácido cinâmico	-0,15	0,39	0,29	0,08	-0,58**	0,00
TFT	-0,06	0,97	-0,29	0,85	-0,49	0,02

* Correlações significativas a 5% de probabilidade de erro ($p < 0,05$).

**Correlações significativas a 1% de probabilidade de erro ($p < 0,01$).

Proc.= Procianidina

As correlações entre o teor de fenólicos totais (TFT) para os radicais ABTS, DPPH e β -caroteno não apresentaram coeficientes positivos de correlação significativos a 1% de probabilidade de erro.

Tabela 4.14: Identificação e quantificação (mg/kg) de compostos por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) nos extratos casca de manga Tommy Atkins obtidos por métodos distintos de extração a baixa pressão.

Processo de Extração	Flavanóis			Ac. Fen.			Flavonóis		
	Catequina	Proc. A2	Proc. B1	Cinâmico	Kaempferol	Q.Pranosídeo	Quercetina	Rutina	
SOXHLET	Etanol	0,04 ^{ab} ±0,01	0,16 ^{cd} ±0,00	0,06 ^b ±0,00	N.D.	0,84 ^{ef} ±0,02	2,78 [±] 0,04	0,24 [±] 0,00	2,85 ^{fg} ±0,01
	Hexano	0,02 ^c ±0,00	0,02 ^{hi} ±0,00	N.D.	N.D.	0,15 ^g ±0,02	0,45 [±] 0,01	0,13 ^{jk} ±0,01	0,51 [±] 0,01
	Ac. de Etila	0,02 ^c ±0,00	0,25 ^{ab} ±0,01	0,04 ^b ±0,00	N.D.	3,1 ^a ±0,3	4,32 ^{cd} ±0,12	2,01 ^b ±0,07	4,22 ^c ±0,06
	Etanol	0,02 ^c ±0,00	0,1 ^e ±0,00	0,06 ^b ±0,00	N.D.	0,79 [±] 0,07	3,48 ^{de} ±0,22	0,60 ^{fg} ±0,01	3,52 ^{de} ±0,22
Estufa	Hexano	N.D.	N.D.	N.D.	0,06±0,00	0,02 [±] 0,00	0,05 [±] 0,01	0,02 ^b ±0,00	0,07±0,01
	Ac de Etila	0,03 ^b ±0,01	0,19 ^{bcd} ±0,01	0,03 ^{cd} ±0,01	N.D.	1,50 [±] 0,12	6,46 [±] 0,32	3,28 [±] 0,04	3,93 ^{cd} ±0,21
	Etanol	0,04 [±] 0,00	0,26 ^{ab} ±0,02	0,09 [±] 0,01	N.D.	1,45 [±] 0,07	4,50 ^{bc} ±0,18	0,45 ^b ±0,01	4,0 [±] 0,2
	Hexano	0,02 ^c ±0,00	0,02 ^{hi} ±0,0	0,01 ^{de} ±0,01	N.D.	0,05 [±] 0,01	0,16 [±] 0,01	0,02 ^b ±0,00	0,15±0,01
MACERAÇÃO	Ac. de Etila	0,04 [±] 0,00	0,29 [±] 0,01	0,06 ^{cd} ±0,00	N.D.	1,98 ^b ±0,12	5 ^{bc} ±1	1,2 ^d ±0,03	6,60 [±] 0,02
	Etanol	0,02 ^c ±0,00	0,2 ^{bc} ±0,0	0,03 ^{bcd} ±0,01	N.D.	1,80 ^{bc} ±0,04	5,2 ^b ±0,1	0,68 ^{fg} ±0,04	5,5 ^b ±0,1
	Hexano	0,02 ^c ±0,00	N.D.	0,02 ^{cd} ±0,00	N.D.	0,11 [±] 0,01	0,35 [±] 0,03	0,06 ^k ±0,00	0,38 [±] 0,04
	Ac. de Etila	0,02 ^c ±0,00	0,03 ^{gh} ±0,01	0,02 ^{cd} ±0,00	N.D.	1,61 ^{cd} ±0,05	1,38 [±] 0,08	1,85 ^c ±0,09	0,94 ^b ±0,04

ULTRASSOM								
Natural								
Etanol	0,02 ^c ±0,00	0,18 ^{bcd} ±0,02	0,06 ^b ±0,00	N.D.	0,93 ^{ef} ±0,05	2,8 ^c ±0,2	0,19±0,03	2,49±0,19
Hexano	0,02 ^c ±0,00	N.D.	N.D.	N.D.	0,03 ^g ±0,01	0,08 ^g ±0,01	0,04 ^k ±0,00	0,06±0,02
Ac. de Etila	0,02 ^c ±0,01	0,11 ^{de} ±0,01	0,04 ^{cd} ±0,01	N.D.	1,48 ^d ±0,03	3,01 ^g ±0,01	0,87 ^e ±0,02	3,25 ^{ef} ±0,01
Estufa								
Etanol	0,02 ^c ±0,00	0,13 ^{cd} ±0,01	0,04 ^b ±0,00	N.D.	1,1 ^e ±0,1	3,49 ^{de} ±0,33	0,76 ^{ef} ±0,06	3,52 ^g ±0,32
Hexano	0,02 ^c ±0,00	N.D.	N.D.	N.D.	0,02 ^g ±0,00	0,06 ^g ±0,00	0,04 ^k ±0,00	0,06±0,02
Ac. de Etila	0,02 ^c ±0,00	0,05 ^{gh} ±0,01	0,02 ^{cd} ±0,00	N.D.	0,76 ^g ±0,14	1,46 ^g ±0,02	0,69 ^g ±0,12	1,17 ^h ±0,21

Legenda: Proc.= Procianidina; Quercet.= Quercetina; Ac. Fen.= Ácido Fenólico; Q.Piranosídeo = Quercetina Piranosídeo; N.D. = Não Detectado.

Tabela 4.15: Compostos identificados e quantificados (mg/kg) por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) nos extratos casca de manga Tommy Atkins em apenas um dos métodos de extrações utilizados.

Processo de Extração	Flavanóis		Ácido Fenólico		Flavonóis	
	Procianidina B2	Benzóico	Isoramnetina	Miricetina	Isoramnetina	Miricetina
SOXHLET Natural	Ac. de Etila	N.D.	N.D.	N.D.	0,07 ± 0,01	0,12 ± 0,00
MACERAÇÃO Estufa	Ac. de Etila	0,02 ± 0,00	0,03 ± 0,01	N.D.	N.D.	N.D.

Legenda: N.D. = Não Detectado.

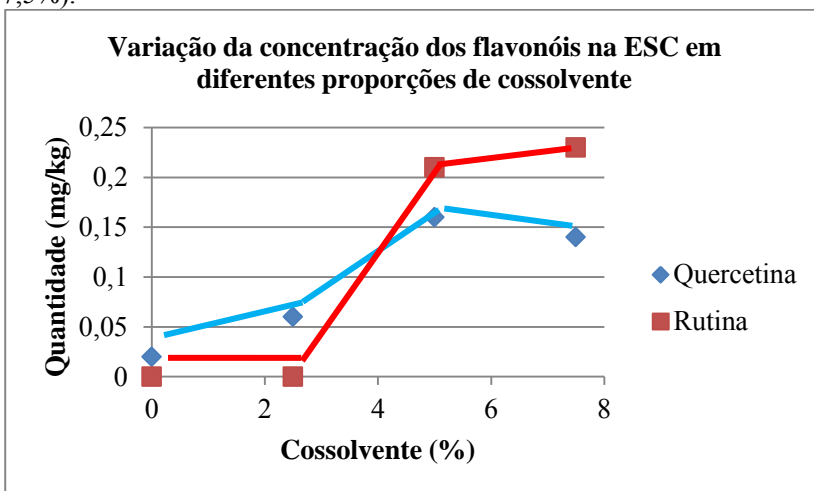
Tabela 4.16: Identificação e quantificação (mg/kg) de compostos por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) nos extratos casca de manga Tommy Atkins obtidos por extração a alta pressão supercrítica (ESC).

Processo de Extração	Flavanóis		Ácido Fenólico		Estilbeno		Flavonóis	
	Catequina	Proc. A2	Proc. B1	Cinâmico	Resveratrol	Quercetina	Rutina	
100 bar	40°C	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0,02 ^{cd} ±0,0	0,04 ^c ±0,02	
	50°C	N.D.	0,03 ^c ±0,01	N.D.	N.D.	0,02 ^c ±0,0	0,06 ^{bc} ±0,02	
	60°C	N.D.	0,02 ^d ±0,00	N.D.	N.D.	0,02 ^{bc} ±0,0	0,18 ^{ab} ±0,02	
200 bar	40°C	0,02 ^a ±0,00	N.D.	N.D.	0,04 ^a ±00	0,02 ^{cd} ±0,0	N.D.	
	50°C	0,02 ^a ±0,00	N.D.	N.D.	0,04 ^a ±00	0,02 ^b ±0,0	N.D.	
	60°C	0,02 ^a ±0,00	N.D.	N.D.	0,04 ^a ±00	0,02 ^b ±0,0	N.D.	
300 bar	40°C	0,02 ^a ±0,00	N.D.	N.D.	0,04 ^a ±00	0,02 ^b ±0,0	N.D.	
	50°C	0,02 ^a ±0,00	0,04 ^b ±0,00	N.D.	N.D.	0,02 ^b ±0,0	N.D.	
	60°C	N.D.	0,06 ^a ±0,00	N.D.	N.D.	0,02 ^b ±0,0	0,03 ^c ±0,01	
Cossolvente (300 bar/50 °C)	2,5% Etanol	0,02 ^a ±0,00	N.D.	N.D.	N.D.	0,04 ^a ±0,0	N.D.	
	5,0% Etanol	0,02 ^a ±0,00	N.D.	0,02 ^a ±0,00	N.D.	0,04 ^a ±0,0	0,21 ^{ab} ±0,09	
	7,5% Etanol	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0,02 ^b ±0,00	0,14 ^a ±0,02	

Legenda: Proc. = Procianidina; N.D. = Não Detectado.

De acordo com a Tabela 4.16 é observado que a quantidade de flavanóis (catequina, procianidina A2 e procianidina B1) e ácido fenólico (cinâmico), em sua maioria, não altera significativamente os valores variando a temperatura e pressão do processo de extração a alta pressão. Já os compostos estilbeno (resveratrol) e principalmente os flavonóis (quercentina e rutina), ocorrem o aumento significativo da quantidade com o uso de cossolvente na ESC, como é observado na Figura 4.3.

Figura 4.3 Aumento da concentração dos flavonóis na ESC com o uso de cossolvente (Etanol) em diferentes proporções (0%; 2,5%; 5,0% e 7,5%).



4.6 Avaliação de segurança no equipamento ESC-2.

A construção de um equipamento a alta pressão permite a operação com pressões elevadas, para permitir o estudo da extração supercrítica de diversas matérias-primas, com destaque para os resíduos agroindustriais.

Nesta seção, portanto, atende ao objetivo específico, de melhoria no projeto de construção de uma unidade de extração supercrítica (ESC-2) já desenvolvida no LATESC por Mezzomo (2012) para operar com segurança em pressões de até 400 bar de acordo com os requisitos estabelecidos pela Norma Regulamentadora (NR) nº 13 do Ministério do Trabalho e Emprego (MTE) para gestão da integridade dos equipamentos.

4.6.1 Resultado da avaliação da coluna de extração (C-1):

A coluna C-1 foi projetada por Mezzomo (2012) e por isso foi realizada inicialmente a inspeção por ensaio não-destrutivo através de medição de espessura por equipamento ultrassônico do corpo do vaso de pressão de material aço inoxidável 316L. Essa inspeção foi executada apenas para a simples conferência da espessura da coluna já existente no equipamento ESC-2. Os valores máximos e mínimos obtidos da espessura da chapa da coluna C-1 estão expressos na Tabela 4.17.

Tabela 4.17: Resultados das medições da espessura no vaso de pressão (coluna de extração C-1).

Local	Espessura do Casco Cilíndrico	
	Mínima (mm)	Máxima (mm)
A	10,7	11,5
B	10,7	10,7
C	10,7	11,5
D	10,7	10,7
E	10,7	10,7
F	10,7	11,5

Para efeito de cálculo, foi considerado o menor resultado das medidas do casco que de acordo com a Tabela 4.4, que foi o valor de 10,7 mm.

Dados do Cilindro:

$D_{int} = 20$ mm; logo $R = D/2$; $R = 20/2 = 10$ mm

Dados do vaso de pressão

Admitindo a Pressão PMTA = $P_{admissível} = 400$ bar ou 40 MPa

a) Tensão Circunferencial (Coluna C-1):

De acordo com o código ASME, parágrafo UG-27 para cascos cilíndricos de pequena espessura são utilizadas as seguintes condições mostrada na seção 2.8.3.1:

$$e_{cond} < \frac{R}{2} \quad \text{ou} \quad p_{cond} < 0,385 \times \sigma_{Adm} \times E;$$

$$\text{Aplicando a equação: } e = \frac{P \times R}{\sigma_{adm} \times E - 0,6 \times P}$$

Condição 1: Espessura da Chapa “e” = $e_{Condição}$

$$e_{Condição} \therefore e_{Condição} < \frac{R}{2} \therefore e_{Condição} < \frac{10,00}{2} \rightarrow e_{Condição} < 5,00 \text{ mm}$$

Condição 2: Pressão “p”: $p_{Condição} < 0,385 \times \sigma_{Adm} \times E$

$$p_{Condição} < 0,385 \times 108 \times 1,0 \rightarrow p < 41,58 \text{ MPa ou } p_{Condição} < 415,8 \text{ bar}$$

Cálculo da espessura mínima permitida “e” na tensão circunferencial

$$e_{TCal} = \frac{P \times R}{\sigma_{adm} \times E - 0,6 \times P} \rightarrow \frac{40(\text{MPa}) \times 10(\text{mm})}{108(\text{MPa}) \times 1 - 0,6 \times 40(\text{MPa})} =$$

$$e_{TCal} = \frac{400 \text{ MPa} \times \text{mm}}{(108 - 24) \text{ MPa}} = \frac{400 \text{ mm}}{84,00} \cong 4,76 \text{ mm}$$

Com este resultado conclui-se que a espessura calculada na tensão circunferencial ($e_{TCal} = 4,76$ mm) é menor do que a espessura medida *in loco* com o equipamento ultrassônico ($e_{medido \text{ in loco}} = 10,7$ mm) ou seja a medida da espessura na coluna de extração satisfaz a condição de segurança para a utilização do equipamento.

b) Tensão Longitudinal (Coluna C-1):

De acordo com o código ASME, parágrafo UG-27 para cascos cilíndricos de pequena espessura são utilizadas as seguintes condições mostrada na seção 2.8.3.1:

$$e_{Condição} \therefore e_{Condição} < \frac{R}{2} \quad \text{ou} \quad p_{Condição} < 1,255 \times \sigma_{Adm} \times E;$$

Aplicando a equação:
$$e = \frac{P \times R}{2 \times \sigma_{adm} \times E + 0,4 \times P}$$

Condição 1: Espessura da Chapa “e” = $e_{Condição}$

$$e_{Condição} < \frac{R}{2} \therefore e_{Condição} < \frac{10,00}{2} \rightarrow e_{Condição} < 5,00 \text{ mm}$$

Condição 2: Pressão “p”

$$p_{Condição} < 1,25 \times \sigma_{Adm} \times E = 1,25 \times 108 \times 1 \rightarrow$$

$$p_{Condição} < 135 \text{ MPa} \quad \text{ou} \quad p_{Condição} < 1350 \text{ bar}$$

Cálculo da Espessura Mínima Permitida “e” na tensão longitudinal

$$e_{TLcal} = \frac{P \times R}{2 \times \sigma_{adm} \times E + 0,4 \times P} \rightarrow \frac{40(\text{MPa}) \times 10(\text{mm})}{2 \times 108(\text{MPa}) \times 1 + 0,4 \times 40(\text{MPa})}$$

$$e_{TLcal} = \frac{400 \text{ MPa} \times \text{mm}}{(216 + 16) \text{ MPa}} = \frac{400 \text{ mm}}{232} \cong 1,72 \text{ mm}$$

Com este resultado conclui-se que a espessura calculada na tensão longitudinal ($e_{TLcal} = 1,72 \text{ mm}$) é menor do que a espessura medida *in loco* com o equipamento ultrassônico ($e_{medido \text{ in loco}} = 10,7 \text{ mm}$), ou seja, a medida da espessura na coluna de extração satisfaz a condição de segurança para a utilização do equipamento.

c) Tampos Planos Circulares (Coluna C-1):

O tampo da coluna C-1 é do tipo removível rosqueado e de acordo com o código ASME parágrafo UG-34, o fator (N) do tampo é igual a 0,30 e foi utilização na Equação 2.3 no cálculo da espessura definido na seção 2.8.3.1:

$$e = d \times \sqrt{\frac{N \times P}{\sigma_{Adm}}}$$

Cálculo da espessura mínima permitida “e” na tensão do tampo:

$$e = d \times \sqrt{\frac{N \times P}{\sigma_{Adm}}} \rightarrow 20(\text{mm}) \sqrt{\frac{0,30 \times 40(\text{MPa})}{108(\text{MPa})}} = 20(\text{mm}) \sqrt{\frac{12}{108}} = 20(\text{mm}) \times \sqrt{0,111} =$$

$$e = 20(\text{mm}) \times 0,333 \cong 6,67 \text{ mm}$$

De acordo com o código ASME é atribuído no dimensionamento do vaso de pressão, por questão de segurança, um coeficiente de

segurança. Sendo assim, foi definida a nova espessura para o dimensionamento da parede da coluna C-1, adotando o fator de segurança de 60% do maior valor da espessura calculada:

$$e_{\min} = 6,67 + 0,60 \times 6,67 \cong 10,70 \text{ mm}$$

d) Cálculo da tensão de cisalhamento na rosca (Coluna C-1):

Considerando os dados abaixo:

Sistema de Rosca: Métrico (ISO) perfil triangular fino 60°

Pressão de Operação $P = 400 \text{ bar}$ ou $40.000.000 \text{ (N/m}^2\text{)}$

Passo da Rosca (ISO): $3,0 \text{ mm}$ ou $0,003 \text{ m}$

Diâmetro externo da rosca: $d \approx 42,00 \text{ mm}$ ou $0,042 \text{ m}$ (M42)

Fator de área para a tensão de cisalhamento da rosca (Tabela 2.7): $0,88$

$$\text{Área da seção circular: } A = \frac{\pi \times d^2}{4} \rightarrow \frac{\pi \times 0,042^2}{4} \cong 0,0014 \text{ m}^2$$

Força sobre a rosca:

$$F = P \times A$$

$$F = 40.000.000 \text{ (N/m}^2\text{)} \times 0,0014 \text{ m}^2 = 56.000 \text{ N}$$

O cálculo da área sob cisalhamento de rasgamento para um filete de rosca foi definido na seção 2.8.3.2 de acordo com a equação:

$$A_S = \pi \times d \times w \times p$$

$$A_S = \pi \times 0,042 \times 0,88 \times 0,003$$

$$A_S = 0,00035 \text{ m}^2$$

O cálculo da tensão de cisalhamento de rasgamento para um filete de rosca foi definido na seção 2.8.3.2 de acordo com a equação:

$$\tau_s = \frac{F}{A_S}$$

$$\tau_s = \frac{F}{A_S} = \frac{56.000}{0,00035} = 160.000.000 \text{ Pa ou } 160,00 \text{ MPa (1600 bar)}$$

De acordo com a Tabela 2.8 na seção 2.8.3.2 a quantidade de fios a serem utilizados na conexão roscada M42 serão de no mínimo 6 fios.

- e) Pressão máxima de trabalho admissível e Teste Hidrostático (Coluna C-1):

Os valores da pressão máxima de trabalho admissível (PMTA) e do teste hidrostático (TH) foram determinados através dos cálculos definidos na seção 2.8.3.3 de acordo com o código ASME:

Pressão Máxima de Trabalho Admissível (PMTA)

$$P_{PMTA} = P_{proj} = 1,1 \times P_{max.oper}$$
$$P_{PMTA} = P_{proj} = 1,1 \times 300 = 330 \text{ bar}$$

Pressão de Teste Hidrostático (TH)

$$P_{TH} = 1,3 \times P_{PMTA}$$
$$P_{TH} = 1,3 \times 330 = 429 \text{ bar}$$

Devido à condição de limitação do equipamento de teste hidrostático, a coluna C-1 foi submetida à pressão máxima de aproximadamente 5100 psi (350 bar) tendo a mesma suportado o referido teste satisfatoriamente, não apresentando vazamentos na sua estrutura e conexões.

Após a conclusão da inspeção, a coluna de extração C-1 foi liberada para funcionar normalmente.

De acordo com as verificações feitas através dos cálculos apresentados acima, conclui-se que a coluna de extração (C-1) projetada em material de aço inoxidável 316L e com capacidade de 138,2 mL está em condições normais de operação e funcionamento, considerando-se neste caso a sua resistência estrutural de acordo com a norma de segurança (código ASME), podendo a mesma suportar satisfatoriamente e com segurança a pressão de operação de 300 bar.

4.6.2 Dimensionamento da coluna C-2

Serão apresentados os cálculos do dimensionamento da nova coluna de extração C-2 (Figuras 4.4 e 4.5) de acordo com os itens de segurança de projeto definidos pelo código ASME, antes da sua confecção. Inicialmente foi estabelecido que a coluna tivesse o diâmetro interno de 12,5 mm e suporte a pressão de operação de até 400 bar (40 MPa).

Todos os desenhos técnico mecânico do projeto da coluna de extração C-2, estão apresentados nas Figuras II a VIII do Apêndice 3.

A verificação da conformidade de segurança nas dimensões iniciais estabelecidas para a coluna de extração foi realizada através dos cálculos estabelecidos pelo código ASME de projeto de vaso de pressão

Figura 4.4: Projeto da coluna de extração C-2: Coluna com tampas conectadas (a) e sem tampas (b).

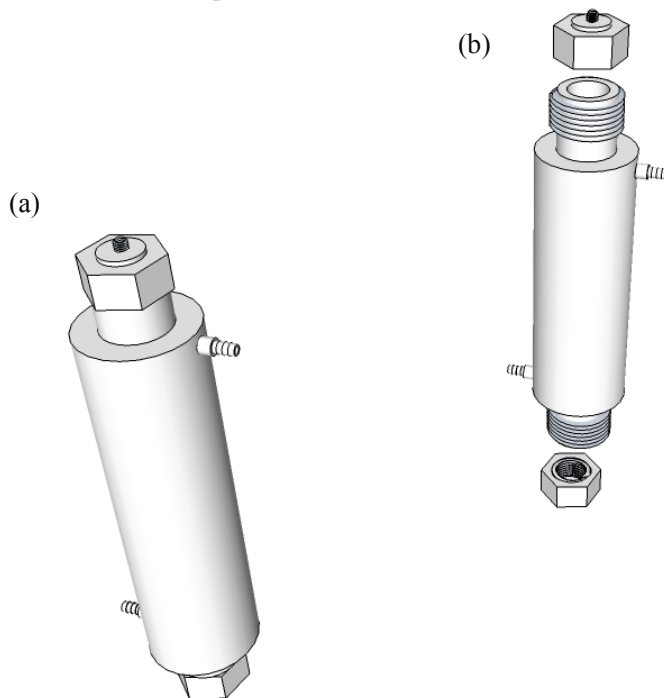
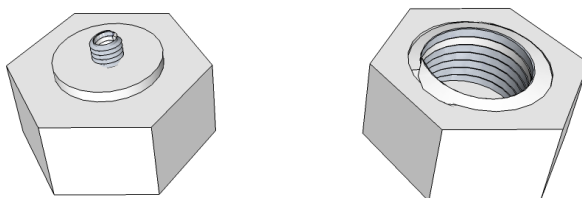


Figura 4.5: Projeto da tampa roscada da coluna de extração.



f) Tensão circunferencial (Coluna C-2):

Condições:

$$\text{Supondo } e < \frac{R}{2} \quad \text{ou} \quad p < 0,385 \times \sigma_{Adm} \times E ;$$

$$\text{É aplicada a equação: } e = \frac{P \times R}{\sigma_{adm} \times E - 0,6 \times P}$$

Condição 1: Espessura da Chapa “e” = $e_{Condição}$

$$e_{Condição} \therefore e_{Condição} < \frac{R}{2} \therefore e_{Condição} < \frac{6,25}{2} \rightarrow e_{Condição} < 3,125\text{mm}$$

Condição 2: Pressão “p”: $p_{Condição} < 0,385 \times \sigma_{Adm} \times E$

$$p_{Condição} < 0,385 \times 108 \times 1,0 \rightarrow p < 4,158\text{MPa ou } p_{Condição} < 415,8\text{ bar}$$

Cálculo da Espessura Mínima Permitida “e” na tensão circunferencial

$$e_{TC2cal} = \frac{P \times R}{\sigma_{adm} \times E - 0,6 \times P} \rightarrow \frac{40(\text{MPa}) \times 6,25(\text{mm})}{108(\text{MPa}) \times 1 - 0,6 \times 40(\text{MPa})} =$$

$$e_{TC2cal} = \frac{250\text{MPa} \times \text{mm}}{(108 - 24)\text{MPa}} = \frac{250\text{mm}}{84,00} \cong 2,98\text{mm}$$

g) Tensão longitudinal (Coluna C-2):

Condições:

$$\text{Supondo } e < \frac{R}{2} \quad \text{ou} \quad p < 1,255 \times \sigma_{Adm} \times E ;$$

$$\text{É aplicada a equação: } e = \frac{P \times R}{2 \times \sigma_{adm} \times E + 0,4 \times P}$$

Condição 1: Espessura da Chapa “e” = $e_{Condição}$

$$e_{Condição} < \frac{R}{2} \therefore e_{Condição} < \frac{6,25}{2} \rightarrow e_{Condição} < 3,125\text{mm}$$

Condição 2: Pressão “p”

$$p_{Condição} < 1,25 \times \sigma_{Adm} \times E = 1,25 \times 108 \times 1 \rightarrow p_{Condição} < 135\text{MPa} \quad \text{ou}$$

$$p_{Condição} < 1350\text{bar}$$

Cálculo da Espessura Mínima Permitida “e” na tensão longitudinal

$$e_{TL2cal} = \frac{P \times R}{2 \times \sigma_{adm} \times E + 0,4 \times P} \rightarrow \frac{40(\text{MPa}) \times 6,25(\text{mm})}{2 \times 108(\text{MPa}) \times 1 + 0,4 \times 40(\text{MPa})}$$

$$e_{TL2cal} = \frac{250 \text{MPa} \times \text{mm}}{(216+16) \text{MPa}} = \frac{250 \text{mm}}{232} \cong 1,07 \text{mm}$$

h) Tampos Planos Circulares (Coluna C-2):

O tampo da coluna C-2 é do tipo removível rosqueado e, de acordo com o código ASME parágrafo UG-34, o fator (N) do tampo será igual a 0,30 foi utilizado na equação 2.3 para o cálculo da espessura:

$$e = d \times \sqrt{\frac{N \times P}{\sigma_{Adm}}}$$

Cálculo da Espessura Mínima Permitida “e” na tensão do tampo:

$$e = d \times \sqrt{\frac{N \times P}{\sigma_{Adm}}} \rightarrow 12,5(\text{mm}) \sqrt{\frac{0,30 \times 40(\text{MPa})}{108(\text{MPa})}} = 12,5(\text{mm}) \sqrt{\frac{12}{108}} =$$

$$e = 12,5(\text{mm}) \times 0,333 \cong 4,16 \text{mm}$$

A espessura mínima admissível de cascos cilíndricos deve ser a maior, conforme determinadas nas seções e, f e g. Portanto, $e_{min} = 4,16$ mm.

De acordo com o código ASME é atribuído no dimensionamento do vaso de pressão, por questão de segurança, um coeficiente de segurança. Sendo assim, foi definida a nova espessura para o dimensionamento da parede da coluna C-2, adotando o fator de segurança de 80% do maior valor da espessura calculada:

$$e_{min} = 4,16 + 0,8 \times 4,16 = 7,5 \text{ mm}$$

No projeto da confecção na coluna foi utilizada uma barra maciça de aço inoxidável 316L de diâmetro 1.7/16” (36,5 mm) e realizado na peça um furo passante interno de diâmetro 12,5 mm. Com isso a espessura obtida na peça usinada foi de 12 mm, valor maior do que a espessura mínima de segurança calculada ($e_{min} = 7,5$ mm) no dimensionamento, satisfazendo a condição de segurança para a utilização do equipamento.

i) Cálculo da tensão de cisalhamento na rosca (Coluna C-2):

Considerando os dados abaixo:

Sistema de Rosca: Métrico (ISO) perfil triangular fino 60°

Pressão de Operação $P = 400$ bar ou $40.000.000$ (N/m²)

Passo da Rosca (ISO): $3,0$ mm ou $0,003$ m

Diâmetro externo da rosca: $d \approx 36,50$ mm ou $0,0365$ m

Fator de área para a tensão de cisalhamento da rosca (Tabela 2.7): $0,88$

$$\text{Área da Seção Circular: } A = \frac{\pi \times d^2}{4} \rightarrow \frac{\pi \times 0,0365^2}{4} = 0,001 \text{ m}^2$$

Força sobre a rosca: $F = P \times A = 40.000.000$ (N/m²) $\times 0,001$ m² = 40.000 N

O cálculo da área sob cisalhamento de rasgamento para um filete de rosca foi definido na seção 2.8.3.2:

$$A_S = \pi \times d \times w \times p$$

$$A_S = \pi \times 0,0365 \times 0,88 \times 0,003$$

$$A_S = 0,0003 \text{ m}^2$$

O cálculo da tensão de cisalhamento de rasgamento para um filete de rosca é definido na seção 2.8.3.2:

$$\tau_S = \frac{F}{A_S}$$

$$\tau_S = \frac{F}{A_S} = \frac{40.000}{0,0003} = 133.333.333,3 \text{ Pa ou } 133,33 \text{ MPa} (1333,3 \text{ bar})$$

De acordo com a Tabela 2.8 (Cap. 2) a quantidade de fios a serem utilizados na conexão que será de, no mínimo, 6 fios.

Depois do projetada, a coluna C-2 foi confeccionada na metalúrgica. A coluna e tampas foram usinadas no material aço inoxidável 316L e a camisa de aquecimento em aço inoxidável 304. Além disso, foram fabricado anéis de vedação em teflon, que são colocados internamente entre a coluna e as tampas para evitar vazamentos. Todos esses itens da coluna C-2 são mostrados na Figura 4.6.

Figura 4.6: Coluna de extração e tampas usinadas em aço inoxidável 316L, camisa em aço inoxidável 304 e anéis de vedação em teflon.



Fonte: Próprio autor.

j) Pressão máxima e teste hidrostático (Coluna C-2):

De acordo com os parágrafos UG-98 e UG-99 do código ASME, os valores da pressão máxima de trabalho admissível (PMTA) e do teste hidrostático (TH) são determinados nas Equações 2.7 e 2.8 do Capítulo 2 e os resultados são os mesmos já encontrados para a coluna C-1:

$$P_{PMTA} = P_{proj} = 1,1 \times 300 = 330 \text{ bar}$$
$$P_{TH} = 1,3 \times 330 = 429 \text{ bar}$$

Devido à condição de limitação do equipamento de teste hidrostático, a coluna C-2 foi submetida à pressão máxima de aproximadamente 5100 psi (350 bar), tendo a mesma suportada o referido teste satisfatoriamente, não apresentado vazamentos na sua estrutura e conexões.

Após a conclusão da inspeção, a coluna de extração C-2 foi liberada para funcionar normalmente.

De acordo com as verificações feitas através dos cálculos apresentados, conclui-se que a coluna de extração (C-2) projetada em material de aço inoxidável 316L e com capacidade de 30,7 mL está em condições normais de operação e funcionamento, considerando-se neste caso a sua resistência estrutural de acordo com a norma de segurança (código ASME), podendo a mesma suportar satisfatoriamente e com segurança a pressão de operação de 300 bar.

4.6.3 Dispositivos de segurança e instrumentos indicadores de pressão instalados no equipamento de ESC-2

O outro novo dispositivo colocado foi à válvula de segurança, que é acionada diretamente por mola com retorno espontâneo a sua posição fechada, definida de acordo com os critérios da ASME sec. VIII div. 1, UG-126. Esta válvula foi instalada com o intuito de reforçar a segurança de funcionamento da ESC. Antes dela ser colocada em operação no equipamento de extração supercrítica, foi realizada a sua montagem e inspeção externa e a sua calibração. Esta última foi realizada no mesmo equipamento utilizado no teste hidrostático das colunas de extração, como mostra a Figura 4.7, empregando também a água como fluido de teste. A válvula de segurança foi ajustada para permitir a sua abertura na pressão em 350 bar. Após definido o valor de abertura na válvula, o parafuso de ajuste foi apertado, bloqueado e instalado um lacre metálico para evitar que a mesma desregule. A válvula de segurança deve ser inspecionada e calibrada com prazo adequado à sua manutenção, não superior ao previsto para a inspeção de segurança periódica (recomenda-se verificar até 3 anos), ou sempre que se verificar alguma irregularidade que possa interferir na atuação normal de operação. Os dispositivos de segurança são acoplados na linha (tubulação de 1/8”) anterior à entrada da coluna de extração, como mostra a Figura 4.8.

Figura 4.7: Calibração de abertura da válvula de segurança.



Fonte: Próprio autor.

Figura 4.8: Disco de ruptura (a) e válvula de segurança (b).



Fonte: Próprio autor.

A pressão de abertura da válvula de segurança, não chegou a ser testada com a válvula acoplada no equipamento ESC-2 (Figura 4.8).

No equipamento ESC existem três (03) manômetros (Figura 4.9) que mostram as pressões do cilindro de armazenamento de CO₂ (M₁), das linhas de entrada (M₂) e de saída (M₃) da coluna de extração. Todos os manômetros têm visor de 4” ou 100 mm e a escala de um deles (M₁) é de 0 a 100 bar (kgf/cm²) e dos outros dois (M₂ e M₃) tem escalas de 0 a 1000 bar (kgf/cm²), ambos com entrada reta com \varnothing 1/4” rosca NPT (cônico-baseado ISO).

Figura 4.9: Instrumentos indicadores de pressão (Manômetros).



Fonte: Próprio autor.

Além disso, de acordo com a seção “instalação de vasos de pressão” da NR-13, todo vaso de pressão deve ser instalado de modo que todos os drenos, respiros, bocas de visita e indicadores de nível, pressão e temperatura, quando existentes, sejam facilmente acessíveis, o que está de acordo ao encontrado no equipamento de ESC-2 no LATESC.

4.6.4 Prontuários das colunas C-1 e C-2

De acordo com a seção 2.8.2.2 deste trabalho, foram elaborados os prontuários dos vasos de pressão, conforme exige a NR-13 do MTE. Este documento deve ser reconstituído, com responsabilidade técnica do fabricante ou de profissional habilitado, sendo imprescindível a reconstituição das características funcionais, dos dados dos dispositivos de segurança e dos procedimentos para determinação da PMTA.

As informações a seguir são os dados para o prontuário dos vasos de pressão C-1 e C-2 do equipamento de extração supercrítica dimensionado no LATESC.

Na Tabela 2.2 (classe de fluido) verifica-se que o fluido CO₂ está na categoria “Classe C”. Naquele mesmo item, no subitem c, é apresentado o potencial de risco que é definido em função do produto PV, onde P é a pressão máxima de operação em MPa e V o seu volume em m³. Considerando a pressão máxima de operação dos vasos de pressão de 400 bar (≈40 MPa) e volume das colunas: C-1 de 138,2 mL (138,2x10⁻⁶ m³) e C-2 de 30,7 mL (30,7x10⁻⁶ m³) o potencial de risco das colunas é definido:

Coluna C-1:

$$P.V.= 40\text{MPa} \times 138,2 \times 10^{-6} \text{ m}^3;$$

$$P.V.= 0,0055 < 1$$

Coluna C-2:

$$P.V.= 40\text{MPa} \times 30,7 \times 10^{-6} \text{ m}^3;$$

$$P.V.= 0,0012 < 1$$

Com estes resultados e verificando na Tabela 2.3 (Grupo de Risco do fluido), conclui-se que o CO₂ é o “Grupo 5”. De acordo com a Tabela 2.4 (categoria do vaso de pressão) da seção 2.7.2.4, cruzando as informações entre os resultados da classe do fluido “Classe C” com o grupo potencial de risco do fluido “Grupo 5”, verifica-se que a classificação dos vasos de pressão utilizado é da “Categoria V”. Com base nestas informações são definidos os prontuários dos vasos de pressão C-1 e C-2 como mostra as Tabelas 4.18 e 4.19.

Tabela 4.18: Prontuário da coluna C-1 de acordo com a NR-13 do MTE.

Itens	Características
Modelo	Vaso cilíndrico – vertical
Matéria prima	Aço inóx 316L
Fluído de trabalho	CO ₂
Fabricante/ano	Metalporto/2009
Nº de série	C-1
Pressão de operação	300 bar
PMTA	330 bar
Pressão de teste hidrostático	350 bar
Diâmetro nominal interno (ϕ_{int}):	20 mm
Diâmetro externo (ϕ_{ext}):	44 mm
Altura do leito (A)	440 mm
Comprimento leito (C) (vaso + camisa)	100 mm
Tampa sextavada (C x H)	50 x 25 mm
Volume interno	138,2 mL
Classe do fluido	C
Grupo de risco	05
Categoria do vaso	V

Tabela 4.19: Prontuário da coluna C-2 de acordo com a NR-13 do MTE.

Itens	Características
Modelo	Vaso cilíndrico – vertical
Matéria prima	Aço inóx 316L/304
Fluído de trabalho	CO ₂
Fabricante/ano	Metal. Efestus/2014
Nº de série	C-2
Pressão de operação	300 bar
PMTA	330 bar
Pressão de teste hidrostático	350 bar
Diâmetro nominal interno (ϕ_{int}):	12,5 mm
Diâmetro externo (ϕ_{ext}):	36,5 mm
Altura do leito (A)	250 mm
Comprimento leito (C) (vaso + camisa)	63,50 mm
Tampa sextavada (C x H)	55 x 29 mm
Volume interno	30,7 mL
Classe do fluido	C
Grupo de risco	05
Categoria do vaso	V

A seguir são definidos os dados complementares para o prontuário do vaso de pressão. Estas informações estão relacionadas a características funcionais da coluna de extração e aos aspectos construtivos, como o tipo de material utilizado e dispositivo de inspeção necessário. Tudo isso é realizado de acordo com a norma ASME Seção VIII – Divisão I.

a) Características Funcionais

O vaso de pressão foi destinado a funcionar como extrator de óleo essencial utilizando o fluido CO₂ supercrítico a alta pressão. Possui uma câmara circular (tipo camisa) para aquecimento do vaso envolvendo completamente a seção circunferencial e parcialmente a altura do lado externo do casco na vertical.

b) Aspectos construtivos e especificação do material

- Casco da coluna de extração – Peça usinada em barra redonda, com rosca externa nas extremidades; material de aço inoxidável Grau 316L.
- Casco da câmara circular (camisa) – Peça proveniente de tubo para condução sem costura; material de aço inoxidável A-312 Grau-304
- Tampo – Peça usinada em barra sextavada com rosca interna; material de aço inoxidável Grau 316L.
- Solda coluna-camisa – Tipo MIG (Metal Inert Gás) com arame inoxidável de 0,8 mm e acabamento em torno mecânico com ferramenta de pastilha para material inoxidável.

c) Dispositivo de Inspeção

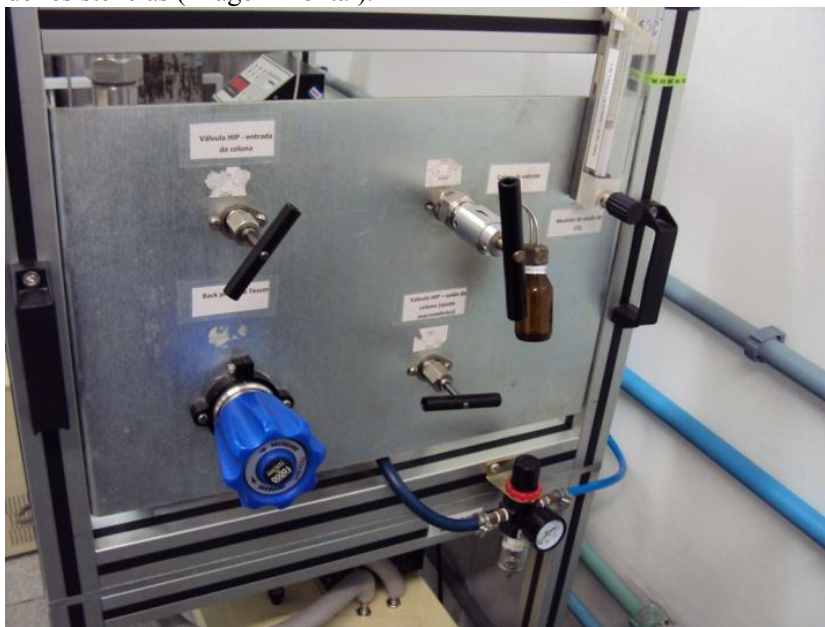
- Sem exame radiográfico;
- Na câmara circular inspeção visual das Juntas (soldas): Código ASME UW-12 Grau de Exame “C”;
- Inspeção de teste hidrostático: de acordo com a ASME UG-99

4.6.5 Testes de operação

O equipamento de extração supercrítica desenvolvido por Mezzomo (2012) não estava em operação por vários meses. Em julho de 2013 alguns alunos de doutorado do LATESC realizaram testes de funcionamento naquela unidade. No ensaio, o equipamento alcançou a pressão máxima de 350 bar durante o período de apenas 30 minutos, tempo este insuficiente para a extração. O curto tempo de operação foi

ocasionado por problemas de congelamento, proveniente do efeito Joule-Thompson (expansão do gás CO_2), nas válvulas (macrométrica, micrométrica) de saída da coluna de extração. Após os testes observou-se que alguns componentes precisavam ser modificados para evitar o congelamento e tornar possível a operação do equipamento no período necessário de extração. Dentre as modificações, o principal deles seria a substituição do sistema de aquecimento das válvulas, pois naquele teste o sistema continha 3 (três) fitas térmicas confeccionadas em tecido de fibreglass com resistência incorporada e de dupla isolamento que envolvia as válvulas da coluna, como mostrado nas Figuras 4.10 e 4.11.

Figura 4.10: Sistema de aquecimento antigo das válvulas através de fitas de resistências (imagem frontal).

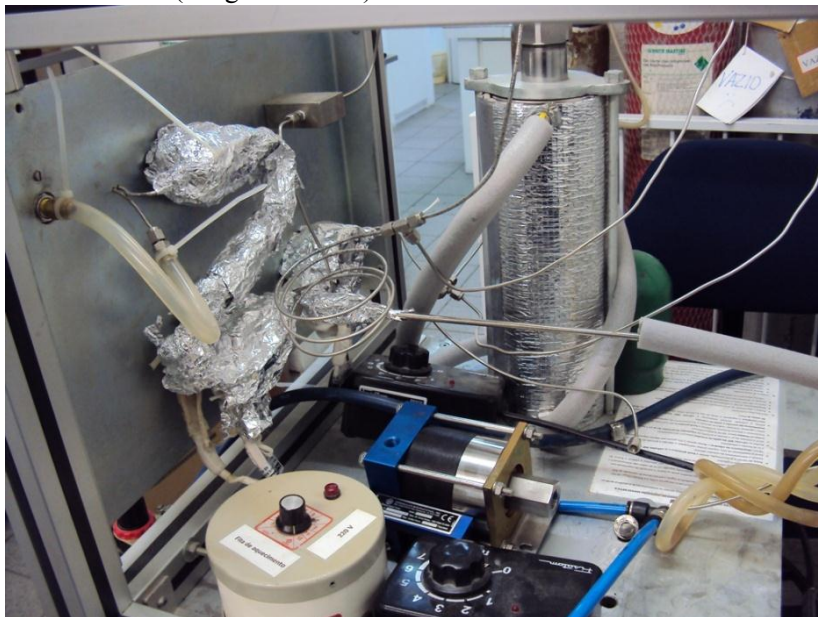


Fonte: Próprio autor.

Dentre as desvantagens observadas na utilização das fitas de aquecimento, estão as suas características analógicas que não permitem o controle preciso da temperatura, assim como a limitação da região de contato, não permitindo a uniformidade e distribuição ideal da temperatura de aquecimento em todas as superfícies das válvulas e acessórios (conexões e tubulações) próximas. Com isso foi proposta a

alteração no sistema de aquecimento mediante a retirada das fitas, substituindo-as por um banho de aquecimento, de forma que o lado inferior das válvulas e seus acessórios de conexão ficassem mergulhados no líquido.

Figura 4.11: Sistema de aquecimento antigo das válvulas através de fitas de resistências (imagem traseira).



Fonte: Próprio autor.

O novo sistema de aquecimento utilizado é o banho ultratermostatizado digital (Figuras 4.12 e 4.13) modelo MA 184 da marca Marconi-Equipamento para Laboratórios com capacidade da cuba de 18 L e temperatura de trabalho de 60 °C.

Figura 4.12: Sistema de aquecimento proposto das válvulas através banho ultratermostatizado digital.



Fonte: Próprio autor.

Figura 4.13: Modificação do sistema de aquecimento da ESC-2.



Fonte: Próprio autor.

A modificação do sistema de aquecimento das válvulas através do banho (Figuras: 4.12 e 4.13) foi testada durante apenas 20 minutos e verificou-se que não houve problemas de congelamento das válvulas. Apesar desse novo sistema de aquecimento não ter sido testado em um experimento de ESC completo, foi observado que houve um melhor desempenho da unidade utilizando o banho em relação ao antigo sistema de aquecimento das válvulas por fitas de resistência.

4.6.6 Tipos de ligações das colunas de extração na ESC-2.

A coluna de extração C-2 foi fixada no suporte da unidade próximo a coluna C-1 como mostra e Figura 4.14. Apesar da coluna C-2 não ter sido testado em um experimento de ESC completo, torna-se possível utilizar as colunas do equipamento em diferentes configurações: individuais (C-1 ou C-2) ou interligados (série ou paralelo). Os desenhos esquemáticos das ligações das colunas individuais, em série e em paralelo estão indicados nas Figuras 4.15, 4.16 e 4.17.

Figura 4.14: Colunas C-1 e C-2 montados na ESC - (a) saída das colunas; (b) entrada das colunas.



Fonte: Próprio autor.

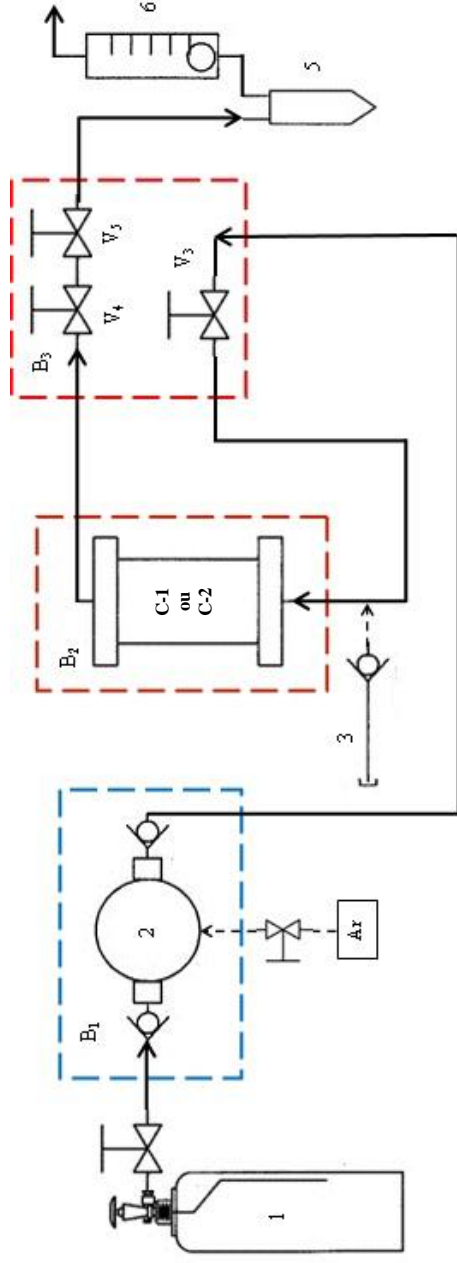


Figura 4.15: Projeto do Equipamento ESC-2 com uma coluna de extração.

Figura 4.16: Projeto do Equipamento ESC-2 com as duas colunas de extração ligadas em série.

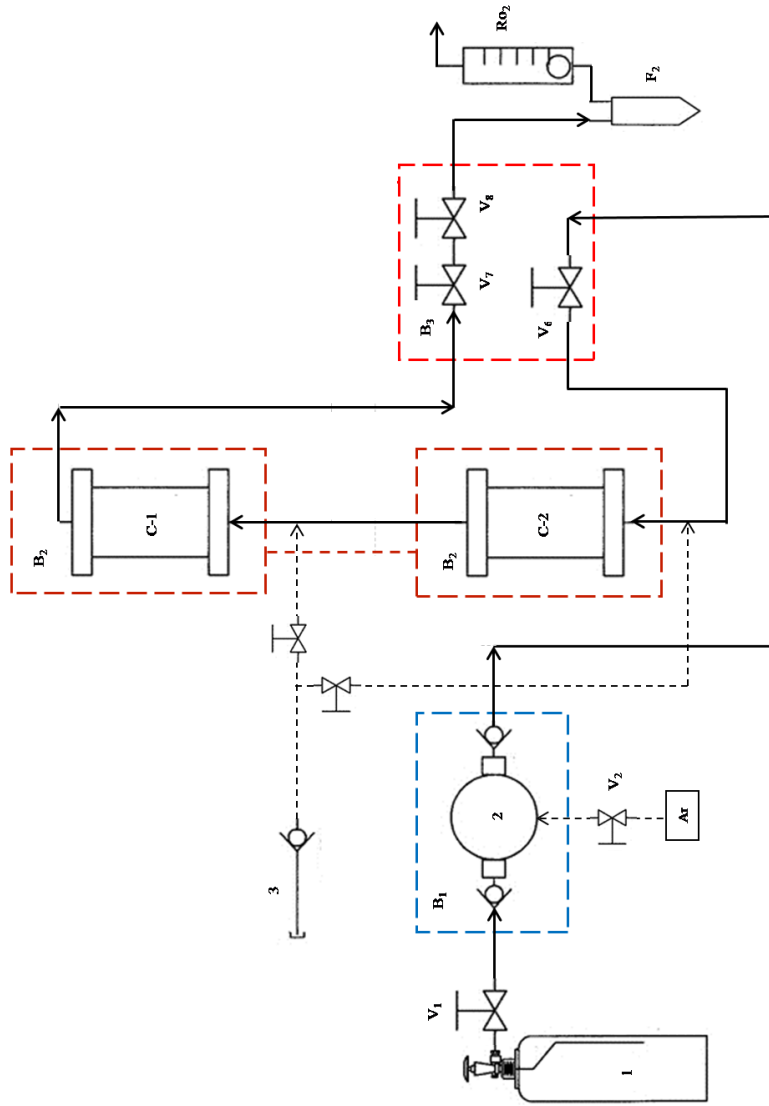
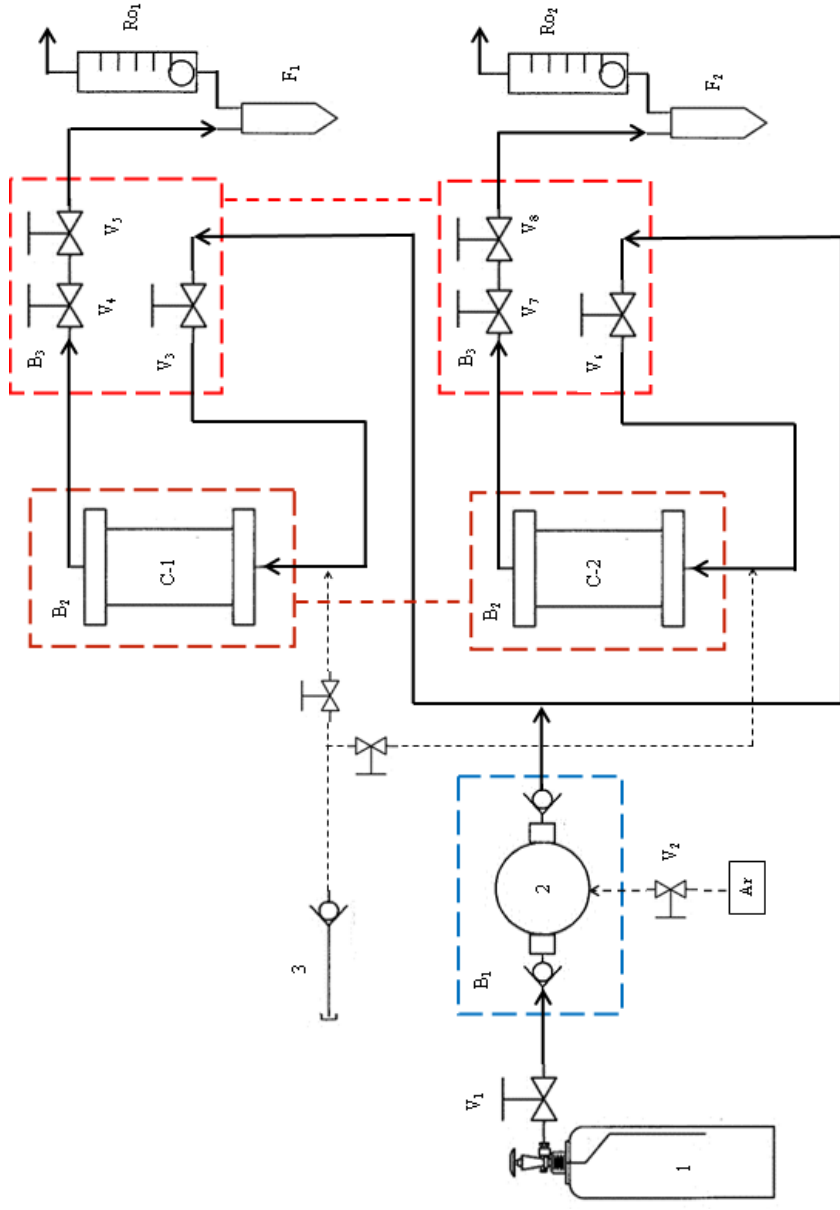


Figura 4.17: Projeto do Equipamento ESC-2 com as duas colunas de extração ligadas em paralelo.



4.6.7 Custo da coluna C-2

Em maio de 2014, com o intuito comparativo e obedecendo as mesmas características técnicas necessária para a utilização do produto, foi realizado o levantamento do custo da fabricação da coluna por metalúrgicas e a cotação da coluna já disponível no mercado por empresas do ramo. O custo de fabricação da coluna (C-2) de volume 30,7 mL realizado pela metalúrgica Efestus, localizado em Florianópolis-SC, foi de R\$ 1298,00 (R\$ 42,3/mL). No mesmo período foi realizada a cotação de colunas na empresa Labsolutions (importadora do fabricante *Supercritical Fluid Technologies*) nos volumes de 25 mL e 50 mL, obtendo os valores de U\$ 3429,00 [R\$: 7612,38 (R\$ 304,5/mL)] e U\$ 4000,00 [R\$: 8880,00 (R\$ 177,6/ mL)] na primeira e segunda coluna respectivamente. Além disso, os valores da Labsolutions não incluem o valor do frete de importação.

Com base nas informações, é verificada a viabilidade econômica da fabricação da coluna C-2 pela metalúrgica, já que o custo dela foi pelo menos quatro (04) vezes menor do que o valor cobrado do mesmo produto pela importadora.

5 CONCLUSÕES

O resíduo agroindustrial (casca) da manga Tommy Atkins (*Mangifera indica* Linn) se apresentou como uma matéria-prima viável para a obtenção de compostos fenólicos nos diferentes métodos de extração empregados. O sistema Soxhlet apresentou os melhores rendimentos de extração na casca de manga, especialmente quando o solvente empregado foi o etanol. Já na extração supercrítica foram obtidos rendimentos comparáveis a extração com hexano, sendo o maior valor obtido na condição de 300 bar/50 °C utilizando cossolvente na proporção 5,0% de etanol. O uso de etanol como solvente (em todas as técnicas a baixa pressão empregadas) se mostrou como melhor para concentrar compostos fenólicos da casca de manga, independente do tipo de secagem empregado. Na quantificação e identificação dos compostos fenólicos por CLAE, foram encontradas maiores quantidade de flavonóis principalmente do composto rutina, obtidas nas extrações com solvente de polaridade intermediária a alta.

De acordo com os resultados mostrando, foi observado que a casca de manga pode ser considerada uma matéria-prima interessante para a obtenção de extratos de alto valor agregado (como compostos fenólicos) e viável economicamente no ponto de vista do aproveitamento de um descarte agroindustrial. Além disso, é observado que a matéria-prima tem afinidade por solvente de maior polaridade, pois tanto o rendimento como o TFT tiveram maiores resultados com os solventes de polaridade alta. O emprego da ESC como tecnologia limpa para obtenção de extratos de alto valor agregado é indicado por ser um método ambientalmente seguro, pois não libera resíduo tóxico no ambiente e não contamina o extrato.

Neste trabalho foram realizadas melhorias na unidade de extração supercrítica (ESC-2), desenvolvida por Mezzomo (2012), através da modificação no sistema de aquecimento das válvulas de entrada e saída da coluna de extração, assim como o dimensionamento, construção e instalação de uma nova coluna de extração C-2 (30,7 mL), fabricado em aço inoxidável 316L, visando o estudo de ampliação de escala. Além disso, foi realizada a inspeção de segurança inicial nas colunas de extração C-1 (138 mL) e C-2 (30,7 mL), através do teste hidrostático de acordo com a norma NR-13 e o código ASME. Conforme as verificações feitas através dos cálculos apresentados, conclui-se que as colunas de extração (C-1 e C-2) estão em condições normais de operação e funcionamento, considerando-se neste caso a sua resistência estrutural de acordo com a norma de segurança e código de projeto de

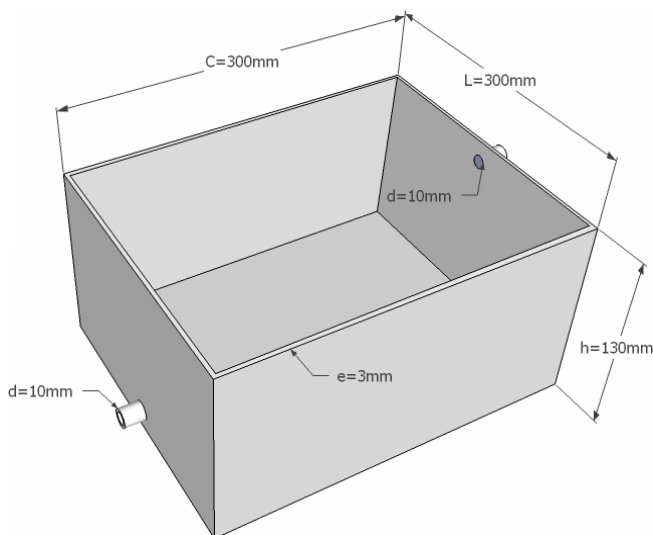
vaso de pressão, podendo as mesmas suportar satisfatoriamente e com segurança a pressão de operação e pressão máxima de trabalho admissível projetada.

6 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Como sugestões relevantes para a continuidade deste trabalho é indicado realizar os testes de ESC completos avaliando o bom funcionamento das válvulas de segurança calibradas, a coluna C-2 e o novo sistema de aquecimento (banho de válvulas). Além disso, é recomendado a fabricação de um recipiente de água para o banho, pois este ficará instalado permanentemente no equipamento ESC-2. O recipiente será fabricado em material aço galvanizado (evitar a oxidação) de dimensões compactas (Figura 6.1) e com isso terá menor volume (11,7 litros) em relação ao recipiente do banho utilizado (18 litros). Esse novo recipiente substituirá aquele primeiro (Figuras 4.12 e 4.13) que foi utilizado apenas nos teste para a mudança do antigo sistema de aquecimento das válvulas com fitas para aquecimento com água.

Este novo recipiente (Figura 6.1) será acoplado internamente na própria estrutura da ESC-2, interligado por mangueira a outro banho termostaticado de dimensões menores.

Figura 6.1: Dimensões do recipiente/banho de aquecimento compacto das válvulas de entrada e saída da coluna de extração.



7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDALLA, A. E. M.; DARWISH, S. M.; AYADA, E. H. E.; EL-HAMAHMY, R. M. Egyptian mango by-product 1. Compositional quality of mango seed kernel. **Food Chemistry**, Oxford, v. 103, p. 1134–1140, 2007a.

ABDALLA, A. E. M.; DARWISH, S. M.; AYAD, E. H. E.; EL-HAMAHMY, R. M. Egyptian mango by-product 2: antioxidant and antimicrobial activities of extract and oil from mango seed kernel. **Food Chemistry**, v. 103, n. 4, p. 1141-1152, 2007b.

AGHEL, N.; YAMINI, Y.; HADJIAKHOONDI, A.; POURMORTAZAVI, S.M. Supercritical carbon dioxide extraction of *Mentha pulegium* L. essential oil. **Talanta**, v. 62, p. 407-411, 2004. *Agricultura*, p. 87, 88. v. 5., 1974.

AJILA, C. M.; NAIDU, K. A.; BHAT, S. G.; PRASADA RAO, U. J. S.; **Food Chemistry**, 105, 982, 2007.

AJILA, C.M. et al. Mango peel powder: A potential source of antioxidant and dietary fiber in macaroni preparations. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v.11, n.1, p.219-224, 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.ifset.2009.10.004>>. Acesso em: 10 jul. 2014.

Allen, R.G.; Pereira, L.S.; Raes, D.; Smith, M. Crop evapotranspiration: guidelines for computing crop water requirements. Rome: FAO, **Irrigation and Drainage Paper**, 56 297p., 1998.

ALI, K.; MALTESE, F.; CHOI, Y.; VERPOTE, R. Metabolic constituents of grapevine and grape - derived products. **Phytochemistry Reviews**, v. 9, n. 3, p. 357 - 378, sept. 2010.

ALISSANDRAKIS, E.; DAFERERA, D.; TARANTILIS, P. A.; POLISSIOU, M.; HARIZANIS, P. C. Ultrasound- assisted extraction of volatile compounds from citrus flowers and citrus honey. **Food Chemistry**, v. 82, p. 575-82, 2003.

ALMEIDA-DORIA, R. F.; REGITANO-D'ARCE, M. A. B. Antioxidant activity of Rosemary and orégano ethanol extracts in soybean oil under

thermal oxidation. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 20, n. 2, 2000.

ALMEIDA, P. P. DE; FERREIRA, S. R. S. **Crossover pressure for supercritical fluid extraction of spearmint (*Mentha spicata* L.) essential oil with pure CO₂ and CO₂ plus ethanol**. In: Iberoamerican Conference on Supercritical Fluids (PROSCIBA). Foz do Iguaçu, Caderno de Resumos do PROSCIBA, 2007.

AMERICAN SOCIETY OF MECHANICAL ENGINEERS. **Código ASME para caldeiras e vaso de pressão**. Seção VIII - Divisão 1. Rio de Janeiro (RJ): ASME, 1986.

ANAGNOSTOPOULOU, M. A.; KEFALA, P.; PAPAGEROGIOU, V. P.; ASSIMOPOULOU, A. N.; BOSKOU, D. Radical scavenging activity of various extracts and fractions of sweet orange peel (*Citrus sinensis*). **Food Chemistry**, v. 94, p. 19-25, 2006.

ANDRADE, C. A.; COSTA, C. K.; BORA, K.; MIGUEL, M. D.; MIGUEL, O. G.; KERBER, V. A. Determinação do conteúdo fenólico e avaliação da atividade antioxidante de *Acacia podalyriifolia* A. Cunn. ex G. Don, Leguminosae-mimosoideae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, n. 2, p. 231-235, 2007.

ANDRADE, K.S et al. Supercritical fluid extraction from spent coffee grounds and coffee husks: Antioxidant activity and effect of operational variables on extract composition, **Talanta**, 2012.

ANDREO, D.; JORGE, N. Antioxidantes naturais: técnicas de extração. **CEPPA**, v.24 (2), p. 319-36, 2006.

ANGUS, S.; ARMSTRONG, B.; DE REUCK, K. M. International thermodynamic tables of the fluid state: Carbon dioxide. Oxford: **Pergamon Press**, 1976.

AOAC. Association of Official Analytical Chemists - **Official Methods of Analysis of the AOAC International**. 18. ed. Maryland: AOAC, 2005.

ARABBI, P.R.; GENOVESE, M.I.; LAJOLO, F.M. Flavonoids in vegetable foods commonly consumed in Brazil and estimated by the Brazilian population. *J. Agric. Food Chem.*, v. 52, p. 1.124-1.131, 2004.

ARAÚJO, J. M. A. **Química de alimentos: teoria e prática**. 2. ed., Viçosa: UFV, 1999.

ARAÚJO, J. M. A.; Antioxidantes. In: **Química de alimentos: teoria e prática**. Viçosa: Ed. Viçosa, 3. ed., 2004, cap. 2, 26p.

AROMALANDIA. **Óleos essenciais: Métodos de extração**. Disponível em: <<http://www.aromalandia1.hpg.ig.com.br/extracao.htm>>. Acesso em: set. 2008.

ASSIS, S.A.; LIMA, D.C.; OLIVEIRA, O.M.M.F. Activity of pectin methyl esterase, pectin content and vitamin C in acerola fruit at various stages of fruit development. **Food Chemistry**, v. 74, p. 133-137, 2001.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 5876 Roscas: terminologias**. 1988.

AZEVEDO, A. C. S. **Estudo das enzimas oxidativas e presença de compostos bioativos em mangas (*Mangifera indica* L.) produzidas no Brasil**. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2006.

AZEVEDO, L.C.DE; AZOUBEL, P.M.L; SILVA, I.R.A; ARAUJO, A.J. de B.; OLIVEIRA, S.B. Caracterização físico-química da farinha da casca de manga cv. tommy atkins. **Anais do XXI CBCTA**, 2008.

AZIZAH, A. H.; RUSLAWATTI, N. M.; TEE, T. S. Extraction and characterization of antioxidant from cocoa by-products. **Food Chemistry**, London, v. 64, n. 2, p. 199-202, 1999.

BABU, C. M. Enzymatic isolation of carotenoid-protein complex from shrimp head waste and its use as a source of carotenoids. **LWT**, v. 41, p. 227-235, 2008.

BALASUNDRAM, N.; SUNDRAM, K.; SAMMAN, S. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: antioxidant

activity, occurrence, and potential uses. **Food Chemistry**, London, v. 99, n. 1, p. 191-203, 2006.

BARRETO, J. C.; TREVISAN, M.T. S.; HULL, W. E.; ERBEN, G.; de BRITO, E. S.; PFUNDSTEIN, B.; WÜRTELE, G.; SPIEGELHALDER; OWEN, R. W. Characterization and quantitation of polyphenolic compounds in bark, kernel, leaves, and peel of mango (*Mangifera indica* L.). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 56, p. 5599-5610, 2008.

BARWICK, V. J. Strategies for solvent selection – a literature review. **Trends in analytical chemistry**. v. 16, n. 6, p. 293-309, 1997.

BASTOS D DA S, SOARES DMBG, ARAÚJO KG DE L & VERRUMA-BERNARDI MR. Desidratação da polpa de manga “TommyAtkins” utilizando a técnica de - avaliações químicas, físico-químicas e sensoriais. **Brazilian Journal of Food Technology**, 8:283-290, 2005

BECHARA, E. J. H. Fontes vegetais naturais de antioxidantes. **Química Nova**, v. 32, n. 3, p. 689-702, 2009.

BE-JEN, W.; YEN-HUI, L.; ZER-RAN, Y. Supercritical fluid extractive fractionation: study of the antioxidant activities of propolis. **Food Chemistry**, v.86 (2), p. 237-43, 2004.

BENEVIDES SD, RAMOS AM, STRINGHETA PC & CASTRO VC. Qualidade da manga e polpa da manga Ubá. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, 28:571-578,2008.

BERARDINI, N.; FEZER, R.; CONRAD, J.; BEIFUSS, U.; CARLE, R.; SCHIEBER, A. Screening of mango (*Mangifera indica* L.) cultivars for their contents of flavonol O- and xanthone C glycosides, anthocyanins and pectin. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 53, p. 1563-1570, 2005a.

BERNARDES-SILVA APF, LAJOLO FM & CORDENUNSI BR, Evolução dos teores de amido e açúcares solúveis durante o desenvolvimento e amadurecimento de diferentes cultivares de manga. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, 23:116 -120, 2003.

BISCAIA, D. **Comparação Entre tecnologia supercrítica e técnicas convencionais de extração para obtenção de extratos de própolis avaliados através de suas propriedades biológicas.** 2007. 142 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – Departamento de Engenharia Química e Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2007.

BLEINROTH EW. Manuseio e tratamento de pós-colheita da manga. In: Donadio LC & Ferreira FR (Eds.). **Anais do II simpósio sobre mangicultura.** Jaboticabal, FCAV-FUNEP. p.171- 184, 1989.

BRAND-WILIAMS, W.; CUVELIER, M.E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **Food Science and Technology**, v.28, p.25-30. 1995.

BRASIL. Ministério do Desenvolvimento, Indústria e Comércio Exterior. Alice web: **Dados das Exportações brasileiras por período.** Brasília, DF. Disponível em: <<http://aliceweb2.mdic.gov.br/>>. Acesso em: 17 nov. 2012.

BRASIL. **Agricultores fazem a colheita da uva e da manga no Vale do São Francisco.** Disponível em: <<http://g1.globo.com/economia/agronegocios/noticia/2014/09/agricultores-fazem-colheita-da-uva-e-da-manga-no-vale-do-sao-francisco.html>>. Acesso em: 10.jan.2015.

BRASIL. **Produtores de manga da BA aumentam o lucro na entressafra.** Disponível em: <<http://g1.globo.com/economia/agronegocios/noticia/2012/01/produtores-de-manga-da-ba-aumentam-o-lucro-na-entressafra.html>>. Acesso em: 05.out.2013.

BRASIL. **Resolução CNS/MS n° 04**, de 24 de novembro de 1988. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br/alimentos/legis/especifica/aditivos.htm>>. Acesso em: 01 fev. 2011.

BRAVO, L. Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism and nutrition significance. **Nutrition Reviews**, v. 56(11), p. 317-33, 1998.

BRUNNER, G. Gas extraction: an introduction to fundamentals of supercritical fluids and the application to separation process. v.4. **Darmstadt: Steinkopff**, 1994

BYERS, J. A. Catálogo Phenomenex. Disponível em: <http://www.phenomenex.com/phen/Doc/z366.pdf>. Acesso em 08.jun.2013.

CAMPOS, L. M. A. S., LEIMANN, F. V., PEDROSA, R. C., FERREIRA, S. R. S. Free radical scavenging of grape pomace extracts from Cabernet sauvignon (*Vitis vinifera*). **Bioresource. Technology**, v. 99, p. 8413-8420, 2008.

CAMPOS, L. M. A. S.; MICHIELIN, E. M. Z.; DANIELSKI, L.; FERREIRA, S. R. S. Experimental data and modeling the supercritical fluid extraction of marigold (*Calendula officinalis*) oleoresin. **Journal of Supercritical Fluids**. v. 34, p. 163-170, 2005.

CANUTO, K. M. Propriedades Químicas e Farmacológicas de Mangiferina: Um Composto Bioativo de Manga (*Mangifera indica L.*) **EMBRAPA Semi-arido**, Petrolina-PE, 2009.

CARVALHO JÚNIOR, R. **Obtenção de extrato de alecrim (*Rosmarinus officinalis*) por extração supercrítica: determinação do rendimento global, de parâmetros cinéticos e de equilíbrio e outras variáveis do processo**. Campinas: UNICAMP, 2004. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos), Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, 2004.

CASAS, L., MANTELL, C., RODRÍGUEZ, M., LÓPEZ, E., OSSA, E. M. Industrial design of multifunctional supercritical extraction plant for agroo-food raw materials, **Chemical Engineering Transactions**, 17,1585-1590, 2009.

CATANEO, C. B.; CALLARI, V.; GONZAGA, L. V.; KUSKOSKI, E. M.; FETT, R. Atividade antioxidante e conteúdo fenólico do resíduo agroindustrial da produção de vinho. **Ciências Agrárias**. v. 29, n. 1, p. 93-102, 2008.

CHEYNIER, V.; MOUTOUNET, M.; SARNI-MACHADO, P. **OEnologie - Fondements Scientífiques et Technologiques**. Collection

Science & Techniques Agroalimentaires. Techniques & Documentation, Paris, pp124-162, 1998.

CHINNICI, F.; BENDINI, A.; GAIANI, A.; RIPONI, C. Radical scavenging activities of peels and pulps from cv. Golden delicious apples as related to their phenolic composition. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, v. 52, p. 4684-4689, 2004.

CHUNG, H. S.; CHANG, L. C.; LEE, S. K.; SHAMON, L. A.; VAN BREEMEN, R. B.; MEHTA, R. G.; FARNSWORTH, N. R.; PEZZUTO, J. M.; KINGHORN, A. D. Flavonoid constituents of *chorizanthe diffusa* with potential cancer chemopreventive activity. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 47, p. 36-41, 1999.

CLAVIER, J-Y.; PERRUT, M. **Scale-Up Issues for Supercritical Fluid Processing in Compliance with GMP**. France: Champigneulles, 2004.

CLIMATEMPO. Disponível em: <<http://www.climatempo.com.br/>>. Acesso em: 14.jun.2013.

COCOZZA, F. Maturação e conservação de manga Tommy Atkins submetida a aplicação pós colheita de – metilciclopropeno. Tese de Doutorado em Engenharia Agrícola,. Faculdade de Engenharia Agrícola, UNICAMP. Campinas, 2003.

COELHO, E.M., AZEVEDO, L.C. Comparação entre técnicas de secagem para obtenção de farinha a partir da casca de manga cv. Tommy Atkins; **VII CONNEPI**, 2012.

CÓRDOVA, K.R.V.; GAMA, T.M.M.T.B.; WINTER, C.M.G.; NETO, G.K.; FREITAS, R.J.S. Características físico-químicas da casca do maracujá-amarelo (*Passiflora edulis Flavicarpa Degener*) obtidas por secagem. **Boletim CEPPA**, Curitiba, v. 23, n. 2, 2005.

CORRÊA, L. C. ; BIASOTO, A. C. T. ; PEREIRA, G. E. ; SILVA, P. T. S. E. ; RYBKA, A. C. P. . Determinação de compostos fenólicos em vinhos produzidos na região do submédio do vale do são francisco por cromatografia líquida de alta eficiência (clae). In: **Congresso Latino-**

Americano de Cromatografia e Técnicas Relacionadas (COLACRO XIV), 2012, Florianópolis- SC. Livro de Resumos, 2012. p. 321.

CORREIA, R. C.; ARAUJO, J. L. P. Cultivo da Mangueira - Mercado Interno; Mercado externo; Características do mercado. **Embrapa Semiárido: Sistemas de Produção**, 2 - 2ª edição. ISSN 1807-0027. Versão Eletrônica. Ago/2010.

COSTA, A. R. da S. **Sistema de secagem solar para frutas tropicais e modelagem da secagem de banana em um secador de coluna estática**. Tese de Doutorado; Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Natal: 2008.

COSTA, C.A.; CASALI, V.W.D.; RUIZ, H.A.; JORDÃO, C.P.; CECON, P.R. Teor de metais pesados e produção de alface adubada com composto de lixo urbano. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 19 n. 01, p. 10-16, 2001.

COWAN, M. M. Plant products as antimicrobial agents. **Clinical Microbiology**, v. 12, p. 564-82, 1999.

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

DAMIANI, C. et al. Análise física, sensorial e microbiológica de geléias de manga formuladas com diferentes níveis de cascas em substituição à polpa. **Revista Ciência Rural**, v.38, n.5, ago, 2008.

DAMIANI, C. et al. Avaliação química de geléias de manga formuladas com diferentes níveis de cascas em substituição à polpa. **Revista Ciências. agrotecnica.**, Lavras, v. 33, n. 1, p. 177-184, jan./fev., 2009.

DAMIANI, C. et al. Doces de corte formulados com casca de manga. ISSN 1983-4063 - www.agro.ufg.br/pat - **Pesq. Agropec. Trop.**, Goiânia, v. 41, n. 3, p. 360-369, jul./set. 2011.

DANDGE, D.K.; HELLER, J.P.; WILSON, K.V. Structure solubility correlations: organic compounds and dense carbon dioxide binary systems. **Industrial Engineering and Chemical Production: Research and Development**. v. 24, p. 162-166, 1985.

DECKER, E. A.; WARNER, K.; RICHARDS, M. P.; SHAHIDI, F. Measuring antioxidant effectiveness in Foods. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, v. 53, p. 4303-4310, 2005.

DEGÁSPARI, C. H.; WASZCZYNSKYJ, N. Propriedades antioxidantes de compostos. **Visão acadêmica**, v. 5, n. 1, p. 33-40, 2004.

DEL VALLE, J. M.; AGUILLERA, J. M. Review: high pressure CO₂ extraction. Fundamentals and applications in the food industry. **Food Science and Technology International**, London, v. 5, p. 1-24, 1999.

DÍAZ-REINOSO, B.; MOURE, A.; DOMÍNGUES, H.; PARAJÓ, J.C. Supercritical CO₂ Extration and Purification of Compounds with Antioxidant Activity. **Journal of Agricultural Food Chemistry**. v.54, p. 2441-2469, 2006.

DONELIAN, A. **Extração do óleo essencial de Patchouli Pogostmon cablin (blanco) benth utilizando dióxido de carbono supercrítico**. Florianópolis: UFSC, 2004. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos), Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, 2004.

DORTA, E. et al. Using drying treatments to stabilize mango peel and seed: Effect on antioxidant activity. **LWT - Food Science and Technolog**. Spain., 2011.

FAO – Food and Agriculture Organization of United Nations. Exportações de Manga Produzida no Submédio do Vale do São Francisco no Período de 2003- 2012.

FARR, J. R.; JAWAD, M. H. **Guidebook for de designe of ASME Section VIII**, pressure vessel. 2 ed, 2001.

FELIPE, É. M. de F. et al. Avaliação da qualidade de parâmetros minerais de pósalimentícios obtidos de casca de manga e maracujá. **Revista Alimentação e Nutrição**. ISSN 0103-4235. Araraquara, v.17, n.1, p.79-83, jan./mar. 2006.

FERNÁNDEZ-PONCE, M.T. et al. Extraction of antioxidant compounds from different varieties of *Mangifera indica* leaves using green technologies. **J. of Supercritical Fluids** 72, 168 – 175, 2012.

FERNANDES, A. L. M. A. P. **Impacto da rolha de cortiça na composição polifenólica de vinhos tintos engarrafados.** 2007, 161 p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia, Ciência e Segurança Alimentar da Faculdade de Ciências) – Universidade do Porto, 2007.

FERREIRA, S. R. S.; MEIRELES, M. A. A. Modeling the supercritical fluid extraction of black pepper (*Piper nigrum L.*) essential oil. **Journal of Food Engineering**, v. 54, p. 263-9, 2002.

FERREIRA, S. R. S.; NIKOLOV, Z. L.; DORAISWAMY, L. K.; MEIRELES, M. A. A.; PETENATE, A. J. Supercritical fluid extraction of black pepper (*Piper nigrum L.*) essential oil. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 14, p. 235-45, 1999.

FONSECA, N. et al. PACLOBUTRAZOL E ESTRESSE HÍDRICO NO FLORESCIMENTO E PRODUÇÃO DA MANGUEIRA (*Mangifera indica*) „TOMMY ATKINS“ **Revista Brasileira Fruticultura**, Jaboticabal - SP, v. 27, n. 1, p. 21-24, Abril 2005

FRANCO, M.R.B.; RODRIGUEZ-AMAYA, D.; LANÇAS, F.M. Compostos Voláteis de Três Cultivares de Manga (*Mangifera indica L.*). **Ciência Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.24, n.2, p. 165-169, 2004.

GÁMEZ-MEZA, N. et al. Antioxidant activity in soybean oil of extracts from Thompson grape bagasse. **Journal of the American Oil Chemists Society**, Chicago, v. 76, n. 12, p. 1445-1447, 1999.

GARRIDO, G.; GONZÁLEZ, D.; LEMUS, Y.; GARCIA, D.; LODEIRO, L.; QUINTERO, G.; DELPORTE, C.; NÚÑEZ-SÉLLES, A.J.; DELGADO, R. In vivo and in vitro anti-inflammatory activity of *Mangifera indica L.* extract (VIMANGO). **Pharmacological Research**, London, v. 50, p. 143–149, 2004.

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

GOMIDE, R. Operações com sistemas sólidos granulares. v. 1, São Paulo. **Catálogo na Publicação Câmara Brasileira do Livro**, 1983.

GONDIM, A. M.; MOURA, V. M. F.; DANTAS, S.A.; MEDEIROS, R. L. S.; SANTOS, K. M. Composição Centesimal e de minerais em cascas de frutas. **Ciência Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.25, n.4, p.825-827, 2005.

GU, Z.; CHEN, D.; HAN, Y.; CHEN, Z.; GU, F. Optimization of carotenoids extraction from *Rhodobacter sphaeroides*. **LWT**. v. 41, p. 1082–1088, 2008.

HAWTHORNE, S. B.; MILLER, D. J. Extraction and Recovery of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons from Environmental Solids Using Supercritical Fluids. **Analytical Chemistry**, v. 59, p. 1705-1708, 1987.

HERRERO, M.; CIFUENTES, A.; IBANEZ, E. Sub and supercritical fluid extraction of functional ingredients from different natural sources: plants, food-by-products, algae and microalgae: a review. **Food Chemistry**, London, v. 98, n. 1, p. 136-148, 2006.

HOSTETTMANN, K.; WOLFENDER, J. L.; RODRIGUEZ, S. Rapid detection and subsequent isolation of bioactive constituents of crude plant extracts. **Planta Medica**, v.63, p. 2-10, 1997.

HUANG, M-T.; HO, C-T.; LEE, C. Y. Phenolic compounds in food and their effects on health. Washington: **American Chemical Society**, 1992.

HUI, Y. H. *Bailey's industrial oil & fat products*. 5th ed. New York: **John Wiley & Sons**, 1996. v. 3,

IBGE. Banco de dados agregados: Sistema IBGE de recuperação automática: **SIDRA**. Rio de Janeiro, [2012]. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br>>. Acesso em: 18 nov. 2012.

IBGE. Banco de dados agregados: Sistema IBGE de recuperação automática: **SIDRA**. Rio de Janeiro, [2013]. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br>>. Acesso em: 05 fev. 2014.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ - Normas analíticas do Instituto Adolf Lutz: **métodos químicos e físicos para análise de alimentos**. 4.ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2005. p.1018.

JACQUES, R. S. **Caracterização química da erva mate (*Ilex paraguariensis*): aplicação de diferentes processos de extração e influência das condições de plantio sobre a composição química**. Porto Alegre: UFRGS, 2005. Tese (Doutorado em Química), Instituto de Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2005.

JARDINI, F. A.; FILHO, J. M. Avaliação da atividade antioxidante em diferentes extratos da polpa e sementes da romã (*Punica granatum*, L.). **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 43, n. 1, 2007.

JULKUNEM-TIITO, R. Phenolic constituents in the leaves of northern willows, methods for the analysis of certain phenolics. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 33, n. 2, p. 213-217, 1985.

JUNTACHOTE, T.; BERGHOFER, E. Antioxidant properties and stability of ethanolic extracts of Holy basil and Galangal. **Food Chemistry**, London, v. 92, n. 2, p. 193-202, 2005.

KALT, W.; RYAN, D. A. J.; DUY, J. C.; PRIOR, R. L.; EHLENFELDT, M. K.; VANDER KLOET, S. P. Interspecific variation in anthocyanins, phenolics and antioxidant capacity among genotypes of high bush and low bush blueberries (*Vaccinium* section *cyanococcus* spp.). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, p. 4761-4767, 2001.

KANG, H.J; CHAWLA, S. P.; JO, C.; KWON, J. H.; BYUN, M.W. Studies on the development of functional powder from citrus peel. **Bioresource Technology**, v. 97, 614-620, 2006.

KHAJEH, M., YAMINI, Y., SEFIDKON, F., BAHRAMIFAR, N. Comparision of essencial oil composition of *Carum copticum* obtained by supercritical carbon dioxide extraction and hydro-distillation methods. **Food Chemistry**, v. 86, p 587-591, 2004.

KIM H.; MOO, J.Y.; KIM, H.; LEE, D.; CHO, M.;CHOI, H .;KIM, Y.S.;MOSADDIK, A.; CHO, S. K.; Antioxidant and antiproliferative

activities of mango (*Mangifera indica* L.) flesh and peel. **Food Chemistry**, 429–436, 2010

KIM, H.; KIM, H.; MOSADDIK, A.; GYAWALI, R.; AHN, K. S.; CHO, S.K. ; Induction of apoptosis by ethanolic extract of mango peel and comparative analysis of the chemical constituents of mango peel and flesh. **Food Chemistry**, 2012.

KITZBERGER, C. S. G. **Obtenção de extrato de cogumelo Shiitake (*Lentinula edodes*) com CO₂ a alta pressão**. Florianópolis: UFSC, 2005. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos), Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, 2005.

KNOWLES, D. E.; RICHTER, B. E.; WYGANT, M. B.; NIXON, L.; ANDERSEN, M. R. Supercritical fluid chromatography: A new technique for Association of Official Analytical Chemistry (AOAC). **Journal AOAC**, v. 71(3), p.451-7, 1988.

KRANL, K.; SCHLESIER, K.; BITSCH, R.; HERMANN, H.; ROHE, M.; BOHM, V. Comparing antioxidative food additives and secondary plant products – use of different assays. **Food Chemistry**, v. 93, p. 171-175, 2005.

KRIKORIAN, R.; BOESPFLUG, E. L.; FLECK, D. E.; STEIN, A. L.; WIGHTMAN, J. D.; SHIDLER, M. D.; HOSSIENY, S. S. Concord grape juice supplementation and neurocognitive function in human aging. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**60, 5736–5742, 2012.

LEAL, P. F. et al. Functional properties of spices extracts obtained via supercritical fluid extraction. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 51, n. 9, p. 2520-2525, 2003.

LEONTOWICZ, M.; GORINSTEIN, S.; LEONTOWICZ, H.; KRZEMINSKI, R.; LOJEK, A.; KATRICH, E.; CIZ, M.; MARTIN-BELOSO, O.; SOLIVA-FORTUNY, S.; HARUENKIT, R.; TRAKHTENBERG, S. Apple and pear pulp and their influence on plasma lipids and antioxidant potentials in rats fed cholesterol-containing diets. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, v. 51, p. 5780-5785, 2003.

LI, H.; PORDESIMO, L.; WEISS, J. High intensity ultrasound-assisted extraction of oil from soybeans. **Food Research International**, v. 37, p. 731-8, 2004.

LI, X.; OHTSUKI, T.; SHINDO, S.; SATO, M.; KOYANO, T.; PREEPRAMES, S.; KOWITHAYAKOM, T.; ISHIBASHI, M. Mangiferin identified in a screening study guided by neuraminidase inhibitory activity. **Planta Medica**, Stuttgart, v. 73, p. 1195-1196, 2007.

LIMA FILHO, J.M.P. Determinação do potencial hídrico da mangueira utilizando-se a câmara de pressão. **Anais do XVI Congresso Brasileiro de Fruticultura** (Resumos em CD-ROM). Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza, 2000.

LIMA, E. O. Plantas e suas propriedades antimicrobianas: Uma breve análise histórica. In: **Plantas Mediciniais: sob a ótica da Química Medicinal Moderna**. Chapecó, p. 481-502, 2001.

LIMA, M. **Caracterização química de sucos produzidos em escala industrial com novas variedades brasileiras de uva cultivadas no nordeste do Brasil**. Florianópolis: UFSC, 2014. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos), Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, 2014.

LIMA, V. L. A. G.; MÉLO, E. A.; MACIEL, M. I. S.; SILVA, G. S. B.; LIMA, D. E. S. Fenólicos totais e atividade antioxidante do extrato aquoso de broto de feijão-mungo (*Vigna radiata* L.). **Revista de Nutrição**, v. 17, n. 1, p. 53-57, 2004.

LING, L.T. et al. Standardised *Mangifera indica* extracts is an ideal antioxidant, **Food Chemistry**, 113(4), 1154-1159, 2009.

LIRA FILHO, J.F. **Utilização da casca do maracujá- amarelo (*Passiflora edulis*, f. *Flavicarpa Degener*) na produção de geleia**, 1995. 131 f. Dissertação (Mestre em Tecnologia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas Campinas, 1995.

LIU, F.; FU, S.; BI, X.; CHEN, F.; X.; HU, X.; WU, J.; Physico-chemical and antioxidant properties of four mango (*Mangifera indica* L.) cultivars in China. **Food Chemistry**, 2013.

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

LUQUE-GARCÍA, J. L.; CASTRO, M. D. L. Ultrasound: a powerful tool for leaching. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 22(1), p. 41-7, 2003.

M.T.E. **Norma Regulamentadora nº 1 - Disposições Gerais.**
Disponível em:
<http://portal.mte.gov.br/data/files/FF8080812BE914E6012BEF0F7810232C/nr_01_at.pdf> Acesso em: 15 set. 2013.

M.T.E. **Norma Regulamentadora nº 13 – Caldeiras, vasos de pressão e tubulações.** Disponível em: <http://portal.mte.gov.br/data/files/FF8080812BE914E6012BEF2695817E43/nr_13.pdf> Acesso em: 15 set. 2013.

MA, Y.; YE, X.; FANG, Z.; CHEN, J.; XU, G.; LIU, D. Phenolic compounds and antioxidant activity of extracts from ultrasonic treatment of Sastsuma mandarin (*Citrus unshiu* Marc.) peels. **J. Agric. Food Chem.**, v. 56, p. 5682-90, 2008.

MAKARE, N.; BODHANKAR, S.; RANGARI, V. Immunomodulatory activity of alcoholic extract of *Mangifera indica* L. in mice. **Journal of Ethnopharmacology**, Lausanne, v. 78, p. 133–137, 2001.

MAKRIS, D. P.; KALLITHRAKAB, S.; KEFALASA, K. Flavonols in grapes, grape products and wines: Burden, profile and influential parameters. **Journal of Food Composition and Analysis**, 19, 396–404, 2006.

MALACRIDA, C. R.; ANGELO, P. M.; ANDREO, D.; JORGE, N. Composição química e potencial antioxidante de extratos de sementes de melão amarelo em óleo de soja. **Revista Ciência Agronômica**, v. 38, n. 4, p. 372-376, 2007.

MANFROI, V. Enologia. **In:** Viticultura e Enologia: elaboração de grandes vinhos nos terroirs brasileiros / Eduardo Giovannini; Vitor Manfroi – Bento Gonçalves. IFRS, 2009

MARINOVA, E. M.; YANISHLIEVA, N. V. I. Antioxidant activity of extracts from selected species of the family Lamiaceae in sunflower oil. **Food Chemistry**, London, v. 58, n. 3, p. 245- 248, 1997.

MARKON, M.; HASAN, M.; DAUD, W. R. W.; SINGH, H.; JAHIM, J. M. Extraction of hydrolysable tannins from *Phyllanthus niruri* Linn.: Effects of solvents and extraction methods. **Separation and Purification Technology**. v. 52, p. 487-496, 2007.

MARQUES, A; et al. Composição centesimal e de minerais de casca e polpa de manga (*Mangifera indica* L.) cv. Tommy atkins. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal - SP, v. 32, n. 4, p. 1206-1210, Dezembro 2010.

MARTÍNEZ, J. **Extração de Óleos Voláteis e Outros Compostos com CO₂ Supercrítico: Desenvolvimento de uma Metodologia de Aumento de Escala a partir da Modelagem Matemática do Processo e Avaliação dos Extratos Obtidos**. 2005. 190 p. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2005

MARTÍNEZ, J.; MARTÍNEZ, J.M. Fitting the sovová's supercritical fluid extraction model by means of a global optimization tool. **Computers and Chemical Engineering**, in press, 2007.

MARTÍNEZ, J.; MONTEIRO, A. R.; ROSA, P. T. V.; MARQUES, M. O. M.; MEIRELES, M. A. A. Multicomponent model to describe extraction of ginger oleoresin with supercritical carbon dioxide. **Industrial Engineering of Chemistry Research**, v. 42, p. 1057-63, 2003.

MARTÍNEZ, J.; ROSA, P. T. V; MENUT, C.; LEYDET, A.; BRAT, P.; PALLET, D.; MEIRELES, M. A. A. Valorization of Brazilian Vetiver (*Vetiveria zizanioides* (L.) Nash ex Small) Oil. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 52, p. 6578-6584, 2004.

MARTINEZ-TOME, M. et al. Antioxidant properties of Mediterranean spices compared with common food additives. **Journal of Food Protection**, Des Moines, v. 64, n. 9, p. 1412-1419, 2001.

MARTINEZ, R.; TORRES, P.; MENESES, M. A.; FIGUEROA, J. G.; PEREZ-ALVAREZ, J. A.; VIUDA-MARTOS, M., Chemical, technological and in vitro antioxidant properties of mango, guava, pineapple and passion fruit dietary fibre concentrate. **Food Chemistry**, 2012, 135, 1520-1526.

MATTHÄUS, B. Antioxidant activity of extracts obtained from residues of different oilseeds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, 3444-3452, 2002.

MAXIMATOR. **High pressure technology, hydraulics, pneumatics and testing equipment.** Disponível em: <<http://www.maximator.de/flycms/en/screen/23/-/Documents.html>>. Acesso em: 17 abr. 2013.

MEDLICOTT AP, REYNOLDS SB, NEW SW & THOMPSON AK. Harvest maturity effects on mango fruit ripening. **Tropical Agriculture**, 65:153-157,1988.

MEIRELES, M.A.A. Supercritical extraction from solid: process design data (2001-2003). *Current Opinion in Solid State and Materials Science* v. 7, p. 321-330, **Elsevier**, 2003.

MELECCHI, M. I. S. **Caracterização química de extratos de Hibiscus tiliaceus L: Estudo comparativo de métodos de extração.** Porto Alegre: UFRGS, 2005. Tese (Doutorado em Química), Instituto de Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2005.

MENSOR, L. L.; MENEZES, F. S.; LEITÃO, G. G.; REIS, A. S.; SANTOS, T. C.; COUBE, C. S.; LEITÃO, S. Screening of Brazilian plant extracts for antioxidant activity by the use of DPPH free radical method. **Phytother. Res.**, v. 15, p. 127-30, 2001.

MEZZOMO, N. **Óleo de amêndoa de pêssego: avaliação da técnica de extração, da qualidade dos extratos e parâmetros para ampliação de escala.** Florianópolis: UFSC, 2008. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos), Departamento de Engenharia Química e

Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, 2008.

MEZZOMO, N. **Extração e encapsulamento de compostos com importância tecnológica e biológica proveniente do resíduo de processamento de camarão.** Florianópolis: UFSC, 2012. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos), Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, 2012.

MEZZOMO, N.; MARTÍNEZ, J.; FERREIRA, S. R. S. Supercritical fluid extraction of peach (*Prunus pérsica*) almond oil: Kinetics, mathematical modeling and scale-up. **J. of Supercritical Fluids**, v. 51, p. 10-6, 2009.

MICHIELIN, E. M. Z. **Obtenção de extrato de erva baleeira (*Cordia verbenacea* D.C.) por diferentes técnicas: medida da atividade biológica, modelagem matemática e determinação do equilíbrio de fases.** Florianópolis: UFSC, 2009. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos), Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, 2009.

MICHIELIN, E. M. Z.; BRESCIANI, L. F. V.; DANIELSKI, L.; YUNES, R.; FERREIRA, S. R. S. Composition profile of horsetail (*Equisetum giganteum* L.) oleoresin: comparing SFE and organic solvents extraction. **Journal of Supercritical Fluids**. v. 33, p. 131–138, 2005.

MORRISON, R.; BOYD, R. **Química orgânica.** 13.ed., 1510p. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1996.

MONTGOMERY, D. C. **Design and analysis of experiments.** 6. ed. 643p., USA: John Wiley & Sons, Inc., 2005.

MUDNIC, I.; MODUN, D.; RASTIJA, V.; VUKOVIC, J.; BRIZIC, I.; KATALINIC, V.; KOZINA, B.; MEDIC-SARIC, M.; BOBAN, M. Antioxidative and vasodilatory effects of phenolic acids in wine. **Food Chemistry** 119, 1205–1210, 2010.

NEGRI, M.L.S.; POSSAMAI, J.C.; NAKASHIMA, T. Atividade antioxidante das folhas de espinheira-santa -*Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reiss., secas em diferentes temperaturas. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 19, n. 2b, p. 553-556, 2009.

NONG, C.; HE, W.; FLEMING, D.; PAN, L.; HUANG, H. Capillary electrophoresis analysis of mangiferin extracted from *Mangifera indica* L. bark and *Mangifera persiciformis* C.Y. Wu et T.L. Ming leaves. **Journal of Chromatography B**, Amsterdam, v. 826, p. 226–231, 2005.

NORTON, ROBERT L. Projeto de máquinas: uma abordagem integrada/Robert L. Norton;tradução João Batista de Aguiar, et al. 2. ed,931p, Porto Alegre: **Bookman**, 2004.

OH, Y. S.; LEE, J. H.; YOON, S. H. OH, C. H.; CHOI, D. -S.; CHOE, E.; JUNG, M. Y. Characterization and Quantification of Anthocyanins in Grape Juices Obtained from the Grapes Cultivated in Korea by HPLC/DAD, HPLC/MS, and HPLC/MS/MS. **Journal of Food Science**73, N. 5, 2008.

OJEWOLE, J. A. O. Antiinflammatory, analgesic and hypoglycemic effects of *Mangifera indica* Linn. (Anacardiaceae) stem-bark aqueous extract. **Methods and Findings in Experimental and Clinical Pharmacology**, Barcelona, v. 27, p. 547-554, 2005.

OLIVEIRA, A. C.; VALENTIN, I. B.; GOULART, M. O. F.; SILVA, C. A.; BECHARA, E. J. H.; TREVISAN, M. T. S. Fontes vegetais naturais de antioxidantes. **Química Nova**, v. 32, n. 3, p. 689-702, 2009.

OLIVEIRA, L. F.; NASCIMENTO, M. R. F.; BORGES, S. V.; RIBEIRO, P. C. N.; RUBACK, V. R. Aproveitamento alternativo da casca do maracujá- amarelo (*Passiflora edulis* F. Flavicarpa) para produção de doce em calda. **Ciência e Tecnologia Alimentos**, Campinas, v.22, n. 3, p. 259- 262, 2002.

ORDÓÑEZ , J. A. et al. Tecnologia de alimentos: componentes dos alimentos e processos p. 33-49. Porto Alegre: **Artmed**, 2005.

ÖZCAN, A.; ÖZCAN, A.S. Comparison of supercritical fluid and Soxhlet extractions for the quantification of hydrocarbons from *Euphorbia macroclada*. **Talanta**. v. 64, p. 491-495, 2004.

ÖZKAL, S.G.; YENER, M.E.; BAYINDIRLI, L. Mass transfer modeling of apricot kernel oil extraction with supercritical carbon dioxide. **Journal of Supercritical Fluids**. v. 35, p. 119–127, 2005a.

PALAFIX-CARLOS, H., YAHIA, E. M., GONZÁLEZ-AGUILAR, G. A. Identification and quantification of major phenolic compounds from mango (*Mangifera indica*, cv. Ataulfo) fruit by HPLC–DAD–MS/MS–ESI and their individual contribution to the antioxidant activity during ripening. **Food Chemistry**, 135, 105–111, 2012.

PARDO-ANDREU, G. L.; BARRIOS, M.F., CURTI, C., HERNÁNDEZ, I., MERINO, N., LEMUS, Y., MARTINEZ, I., RIAÑO, A.; DELGADO, R. Protective effects of *Mangifera indica* L extract (Vimang), and its major component mangiferin, on iron-induced oxidative damage to rat serum and liver. **Pharmacological Research**, London, v. 57, p. 79–86, 2008.

PAREJO, I., VILADOMAT, F., BASTIDA, J., ROSAS-ROMERO, A., FLERLAGE, N., BURILLO, J., CODINA, C. Comparison between the radical scavenging activity and antioxidant activity of six distilled and nondistilled Mediterranean herbs and aromatic plants. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, p. 6882–90, 2002.

PASSOTTO, J. A.; PENTEADO, M. V. C.; MANCINI-FILHO, J. Atividade antioxidante do β -caroteno e da vitamina A. Estudo comparativo com antioxidante sintético. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 18, n. 1, 1998.

PASTRANA-BONILLA E, AKOH C, SELLAPPAN S, KREWER G. Phenolic content and antioxidant capacity of muscadine grapes. **Journal of Agricultural and Food Chemistry** 51:5497–503, 2003.

PENCHEV, P. **Study on the extraction and purification of bioactive products from plants by integration of separation techniques at low and high pressure**. Tese (Thesis) University of Toulouse, 2010.

PELLERIN, P. Supercritical fluid extraction of natural raw material for the flavor and perfume industry. **Perfumer and Flavorist**, v.16, p. 37–9, 1991.

PELIZER, L. H.; PONTIERI, M. H.; MORAES, I. O. Utilização de resíduos agroindustriais em processos biotecnológicos como perspectiva de redução do impacto ambiental. *J. Technol. Manag. Innov.*, v. 2 (1), p. 118-27, mar. 2007.

PERRUT, M. Supercritical fluid applications: industrial developments and economic issues. *Industrial Engineering Chemical Research*. v. 39, p. 4531, 2000.

PESCHEL, W.; SÁNCHEZ-RABANEDA, F.; DIEKMANN, W.; PLESCHER, A.; GARTZÍA, I.; JIMÉNEZ, D.; LAMUELA-RAVENTÓS, R.; BUXADERAS, S.; CODINA, C. An industrial approach in the search of natural antioxidants from vegetable and fruit wastes. *Food Chemistry*, v. 97, p. 137-50, 2006.

PIETTA, P., *Journal of Natural Products*, vol. 63, nº. 7, p1035-1042, 2000.

PINELO, M.; SINEIRO, J.; NÚÑEZ, M. J. Mass transfer during continuous solid-liquid extraction of antioxidants from grape byproducts. *Journal of Food Engineering*., v. 77, p. 57-63, 2006.

PINTO, A. C. Q. O agronegócio da manga. In: ALBUQUERQUE, A. C. S.; DA SILVA, A. G (Ed.). *Agricultura Tropical: quatro décadas de inovações tecnológicas, institucionais e políticas*. Brasília, DF: Embrapa **Informação Tecnológica**, 2008, p. 402.

PIO-CORRÊA, M. *Dicionário das plantas úteis do Brasil*. Rio de Janeiro: **Ministério da Agricultura**, p. 87, 88. v. 5., 1974.

POKORNY, J.; KORCZAK, J. Preparation of Natural antioxidants. In: POKORNY, J.; YANISHLIEVA, N.; GORDON, M. **Antioxidants in food: practical applications**. New York: CRC Press, 2001. p. 311-330.

POURMORTAZAVI, S. M.; HAJMIRSADEGUI, S. H. Supercritical fluid extraction in plant essential and volatile oil analysis. *J. Chromatograf. A*, v.1163, p. 2-24, 2007.

PRADO, I. M.; PRADO, G. H. C.; PRADO, J. M.; MEIRELES M. A. M. Supercritical CO₂ and low-pressure solvent extraction of mango (*Mangifera indica L.*) leaves: Global yield, extraction kinetics, chemical

composition and cost of manufacturing. **Food and bioproducts processing**, 2013.

PRASHANTH, D.; AMIT, A.; SAMIULLA, D. S.; ASHA, M. K.; PADMAJA, R. a- Glucosidase inhibitory activity of *Mangifera indica* bark. **Fitoterapia**, Milano, v. 72, p. 686 -88, 2001.

PRISTA, L. N., ALVES, A. C. & MORGADO, R. M. R. Técnica farmacêutica e farmácia galênica. 3.ed. Lisboa: **Calouste Gulbenkian**.147p., 1981.

RAMALHO, V. C.; JORGE, N. Antioxidantes utilizados em óleos, gorduras e alimentos gordurosos. **Química Nova**, v. 29, n. 4, p. 755-760, 2006.

RAPISARDA, P., TOMAINO, A.; LO CASCIO R.; BONINA, F.; DE PASQUALE, A.; SAIJA, A. Antioxidant effectiveness as influenced by phenolic content of fresh orange juices. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 47, p.4718-4723, 1999.

RAVENTÓS, M.; DUARTE, S.; ALARCÓN, R. Application and possibilities of supercritical CO₂extraction in food processing industry: an overview. **Food Science and Technology International**, London, v. 8, n. 5, p. 269-284, 2002.

RE, R.; PELLEGRINI, N.; PROTEGGENTE, A.; PANNALA, A.; YANG, M.; RICE-EVANS, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolourization assay. **Free Radical Biology & Medicine**. v. 26, p. 1231-1237, 1999.

REHMAN, Z.; HABIB, F.; SHAH, W. H. Utilization of potato peels extract as a natural antioxidant in soy bean oil. **Food Chemistry**, London, v. 85, n. 2, p. 215-220, 2004.

REVERCHON, E., DE MARCO, I. Supercritical fluid extration and fractionation of natural matter. **Journal of Supercritical Fluids**. v. 38, p.146-166, 2006.

REVERCHON, E. DELLA PORTA, G. Supercritical CO₂ Fractionation of Jasmine Concrete. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 8, p. 60-65, 1995.

RIBEIRO, E. T. **Emprego de técnicas de extração a alta e baixa pressão para obtenção de polifenóis antioxidantes do subproduto agroindustrial de maçã**. 133 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) - Departamento de Engenharia Química e Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2007.

RIBEIRO, S. M. R.; BARBOSA, L. C. A.; QUEIROZ, J. H.; KNODLER, M.; SCHIEBER, A. Phenolic compounds and antioxidant capacity of brazilian mango (*Mangifera indica* L.) varieties. **Food Chemistry**, v. 110, p. 620-626, 2008.

RIBÉREAU-GAYON, P.; GLORIES, P.; MAUJEAN, A.; DUBOURDIEU, Y. **Tratado de Enología: química del vino estabilización y tratamientos**. 1ª. Ed. Buenos Aires: Hemisfério Sur, 2003. V.2, 537p.

RICE-EVANS, C.; MILLER, N.; PAGANGA, G. Structureantioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. **Free Radical Biology and Medicine**, New York, v. 20, n. 7, p. 933-956, 1996.

RICHARDSON, P. M. The taxonomic significance of C-glycosylxanthenes in flowering plants. **Biochemical Systematics and Ecology**, Oxford, v. 11, p. 371-375, 1983.

ROCHA, A. A.; PEREIRA, D. N.; PADUA, H. B. Produtos de pesca e contaminantes químicos na água da Represa Billings, São Paulo (Brasil). **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v.19, n.5, p.401-410, 1985.

ROCHA RIBEIRO, S.; QUEIROZ, J.; LOPES RIBEIRO DE QUEIROZ, M.; CAMPOS, F.; PINHEIRO SANT'ANA, H., Antioxidant in Mango (*Mangifera indica* L.) Pulp. **Plant Foods Hum Nutr** 2007, 62, 13-17.

RODRIGUES, H. G.; DINIZ, Y. S.; FAINE, L. A.; ALMEIDA, J. A.; FERNANDES, A. A. H.; NOVELLI, E. L. B. Suplementação nutricional com antioxidantes naturais: efeito da rotina na concentração de colesterol-HDL. **Revista de Nutrição**, v. 16, n. 3, 2003.

RODRIGUES, V. M. **Efeito da vazão do solvente na cinética de extração e na qualidade do óleo de Cravo-da-índia (*Eugenia caryphyllus*) obtido com CO₂ Liquefeito.** 1996. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1996.

ROGINSKY, V.; LISSI, E.A. Review of Methods to Determine Chain-breaking Antioxidant Activity in Food. **Food Chemistry**. v. 92, p.235-254, 2005.

ROSA, P. T. V.; MEIRELES, M. A. A. Rapid estimation of the manufacturing cost of extracts obtained by supercritical fluid extraction. **Journal of Food Engineering**. v. 67, p. 235–240, 2005a.

ROSA, P. T. V.; MEIRELES, M. A. A. Supercritical technology in Brazil: system investigated (1994–2003). **Journal of Supercritical Fluids**. v. 34, p. 109–117, 2005b.

ROSSI, J. A. J.; SINGLETON, V. L. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic phosphotungstic acid reagents. **American Journal Enol. Vitic.** v. 16, p. 144-58, 1965.

RUDNICKI, M.; DE OLIVEIRA, M. R.; PEREIRA, T. V.; REGINATTO, F. H.; DAL-PIZZOL, F.; MOREIRA, J. C. F. Antioxidant and antiglycation properties of *Passiflora alata* and *Passiflora edulis* extracts. **Food Chemistry**, v. 100, p. 719-724, 2007.

SACHINDRA, N.M.; BHASKAR, N.; MAHENDRAKAR, N.S. Recovery of carotenoids from shrimp waste in organic solvents. **Waste Management**, v. 26, p. 1092–1098, 2006.

SAIRAM, K.; HEMALATHA, S.; KUMAR, A.; SRINIVASAN, T.; GANESH, J.; SHANKAR, M.; VENKATARAMAN, S. Evaluation of anti-diarrhoeal activity in seed extracts of *Mangifera indica*. **Journal of Ethnopharmacology**, Amsterdam, v. 84, p.11-15, 2003.

SANTANA, M. F. S.; GASPARETTO, C. A. Microestrutura da fibra alimentar do albedo de laranja: um estudo por técnicas físicas e análises de imagens. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v. 29(1), p. 124-34, 2009.

SANCHEZ, G.Y. et al. Dinamic microbial response under ethanol stress to monitor *saccharomyces cerevisiae* activity in different initial physiologic state. **Bioprocess Biosyst Eng** 32(4):459-66, 2009.

SANTOS, W. J., SILVA, E. A.; TARANTO O. P.; Supercritical Fluid Extraction from Mango (*Mangifera indica* L.) Leaves: Experiments and Modeling. **Chemical Engineering Transactions** vol. 32, 2013.

SAUTTER, C. K.; DENARDIN, S.; ALVES, A. O.; MALLMANN, C. A.; PENNA, N. G.; HECKTHEUER, L. H. Determinação de resveratrol em sucos de uva no Brasil. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 25, n. 3, p. 437-442, 2005.

SCALIA, S.; GIUFREDDA, L.; PALLADO, P. Analytical and preparative supercritical fluid extraction of Chamolile flowers and its comparison with conventional methods. **J. Pharm. Biomed. Anal.**, v. 21, p. 549-58, 1999.

SCHIEBER, A.; BERARDINI, N.; CARLE, R. Identification of flavonol and xanthone glycosides from mango (*Mangifera indica* L. Cv, "Tommy Atkins") peels by High-Performance Liquid Chromatography-Electrospray Ionization mass spectrometry. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 51, p. 5006-50011, 2003.

SELLÉS, A. J. N.; CASTRO, H. T. V.; AGUERO-AGUERO, J.; GONZÁLEZ-GONZÁLEZ, J.; NADDEO, F.; DE SIMONE, F.; RASTRELLI, L. Isolation and quantitative analysis of phenolic antioxidants, free sugars, and polyols from mango (*Mangifera indica* L.) stem bark aqueous decoction used in Cuba as nutritional supplement. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 50, p. 762-766, 2002.

SHAHIDI, F.; WANASUNDARA, P. K. J. P. D. Phenolic antioxidants. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 32, n. 1, p. 67-103, 1992.

SHAI, F.; NACZK, M. Food phenolics: sources, chemistry, effects and applications. **Lancaster: Technomic Publishing**, p. 281-319, 1995.

SHAMI, N. J. I. E.; MOREIRA, E. A. M. Licopeno como antioxidante. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 17, n. 2, p. 227-236, 2004.

SHUI, G.; LEONG, L. P. Residue from star fruit as valuable source for functional food ingredients and antioxidant nutraceuticals. **Food Chemistry**, v. 97, p. 277-284, 2006.

SILVA, D. C. M. N. **Determinação experimental de parâmetros de processo na extração supercrítica de óleo essencial de carqueja (*Baccharis trimera* Less)**. 2004. 130 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) - Departamento de Engenharia Química e Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2004.

SILVA, P. C. G. da; COELHO, R. C. Cultivo da Mangueira - O cultivo da manga no Brasil e no Semiárido nordestino; **A importância econômica e social da mangueira no Submédio do Vale do São Francisco**; Organização e coordenação setorial. Embrapa Semiárido: Sistemas de Produção, 2 - 2ª edição. ISSN 1807-0027. Versão Eletrônica. Ago/2010. Disponível em: <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Manga/CultivodaMangueira_2ed/socioeconomia.htm> Acesso em: 15 set. 2013.

SILVA, R. J. M. Estrutura e composição das procianidinas da uva e do vinho. Efeitos potenciais na saúde. **3º Simpósio de Vitivinicultura do Alentejo**. Évora, Portugal. 1995. Vol. 2: 343-355.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; DE MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**, 6ª Edição, Porto Alegre, UFSC, UFRGS, 2010.

SINGH, V. K. Physiological and biochemical changes with special reference to mangiferin and oxidative enzymes level in malformation resistant and susceptible cultivars of mango (*Mangifera indica* L.). **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v.108, p. 43-48, 2006.

SOARES, M. R. **Coefficiente de distribuição (KD) de metais pesados em solos do Estado de São Paulo**. 2004. 202 f. Tese (Doutorado) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, Piracicaba, 2004.

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

- SOGI D.S. et al.. Total phenolics, antioxidant activity, and functional properties of „Tommy Atkins“ mango peel and kernel as affected by drying methods. **Food Chemistry**,141 2649–2655, 2013.
- SOONG, Y. Y.; BARLOW, P. J. Antioxidant activity and phenolic content of selected fruit seeds. **Food Chemistry**., v. 88, p. 411-417, 2004.
- SOUSA, C. M. M.; SILVA, H. R.; VIEIRA-JÚNIOR, G. M.; AYRES, M. C. C.; COSTA, C. L. S.; ARAÚJO, D. S.; CAVALCANTE, L. C. D.; BARROS, E. D. S.; ARAÚJO, P. B. M.; BRANDÃO, M. S.; CHAVES, M. H. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 351-357, 2007.
- SOVOVÁ, H. Rate of the vegetable oil extraction with supercritical CO₂ – I. Modelling of extraction curves. **Chemical Engineering Science**. v.49, n. 3, p. 409-414, 1994.
- SPAYD, S. E.; TARARA, J. M.; MEE, D. L.; FERGUSON, J. C. Separation of sunlight and temperature effects on the composition of *Vitis vinifera* cv. Merlot berries. **American Journal of Enology and Viticulture** 53, 171–182, 2002.
- STEMMER, GASPAR ERICH. **Ferramentas de corte II: brocas, alargadores, ferramentas de roscar, fresas, rebolos, abrasivos**. 4.ed. Florianópolis: Ed da UFSC,2008.
- SUN, J.; CHU, Y.; WU, X.; LIU, R. Antioxidant and antiproliferative activities of common fruits. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, pp. 7449–7454, 2002.
- TELLES,PEDRO CARLOS DA SILVA. **Vasos de Pressão**, 2. Ed.atual.,[reimpr.].Rio de Janeiro: LTC,320p, 1996.
- TOMAS-BARBERAN, F.; ESPIN, J.C. Phenolic compounds and related enzymes as determinants of quality of fruits and vegetables. **J. Sci. Food and Agric.**, v. 81, p. 853-876, 2001.

TSAO, R.; DENG, Z. Separation procedures for naturally occurring antioxidant phytochemicals. **Journal of Chromatography B**. v. 812, p. 85-99, 2004.

VALGAS, C. **Avaliação de métodos de triagem para a determinação de atividade antimicrobiana de produtos naturais**. Florianópolis: UFSC, 2002. Dissertação (Mestrado em Farmácia), Departamento de Farmácia, Universidade Federal de Santa Catarina, 2002.

VANDEN BERGHE, D.A.; VLIETINCK, A.J. Screening methods for antibacterial and antiviral agents from higher plants. **Methods Plant Biochemistry**, v.6, p. 47-69, 1991.

VAQUERO, E. M.; BELTRÁN, S.; SANZ, M. T. Extraction of fat from pigskin with supercritical carbon dioxide. **Journal of Supercritical Fluids**. v. 37, p. 142-150, 2006.

VARONA, S.; KARETH, S.; MARTÍN, Á.; COCERO, M. J. Formulation of lavandin essential oil with biopolymers by PGSS for application as biocide in ecological agriculture. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 54, p. 369-377, 2010.

VEKIARI, S. A.; OREOPOULOU, V.; TZIA, C.; THOMOPOULOS, C. D. Oregano flavonoids as lipid antioxidants. **Journal of the American Oil Chemists Society**, Chicago, v. 70, n. 5, p. 483-487, 1993.

VINATORU, M. An overview of the ultrasonically assisted extraction of bioactive principles from herbs. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 8, p.303-13, 2001.

YANG, Y.; ZHANG, F. Ultrasound-assisted extraction of rutin and quercetin from *Euonymus alatus* (Thunb.) Sieb. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 15, p. 308-13, 2008.

XIA, E. Q.; FANG, D. G.; JUN, G. Y.; BIN, L. H. Biological Activities of Polyphenols from Grapes. **International Journal of Molecular Sciences**, 11, 622-646, 2010.

ZANCAN, K. C.; MARQUES, M. O. M.; PETENATE, A. J.; MEIRELES, M. A. A. Extraction of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) oleoresin with CO₂ and co-solvents: a study of the antioxidant action of

the extracts. **The Journal of Supercritical Fluids**, New York, v. 24, n. 1, p. 57-76, 2002.

ZETZL, C.; BRUNNER, G.; MEIRELES, M. A. A. Standardized low-cost batch SFE Units for University education and comparative research. **Proceedings of the 6th International Symposium on Supercritical Fluids**, v. 1, p. 577, 2003.

ZHENG, W.; WANG, S. Antioxidant activity and phenolic composition in selected herbs. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 49, n. 11, p. 5165-5170, 2001.

ZIAKOVA, A.; BRANDSTETEROVA, E. Application of different preparation techniques for extraction of phenolic antioxidants from lemon balm (*Melissa officinalis*) before HPLC analysis. **J. Liq. Chromatogr. R. T.**, v. 25, p. 3017-32, 2002.

8 APÊNDICE

Apêndice 1: Dados experimentais da curva de extração

Tabela I: Tempos de extração, massas de extrato, massas acumuladas e rendimentos do experimento cinético a 200 bar, 50 °C e 0,5 kg/h de CO₂.

N°	Tempo (min)	Massa (g)	Massa Acumulada (g)	X₀ (%)
1	0	0,0040	0,0040	0,0267
2	5	0,0020	0,0060	0,0133
3	10	0,0009	0,0069	0,0060
4	15	0,0013	0,0082	0,0087
5	20	0,0007	0,0089	0,0047
6	25	0,0018	0,0107	0,0120
7	30	0,0051	0,0158	0,0340
8	40	0,0061	0,0219	0,0407
9	50	0,0208	0,0427	0,1387
10	60	0,0089	0,0516	0,0593
11	80	0,0104	0,0620	0,0693
12	100	0,0124	0,0744	0,0827
13	120	0,0101	0,0845	0,0673
14	150	0,0087	0,0932	0,0580
15	180	0,0052	0,0984	0,0347
16	210	0,0016	0,1000	0,0107
17	240	0,0012	0,1012	0,0080
18	300	0,0003	0,1015	0,0020
19	360	0,0028	0,1043	0,0187
20	420	0,0068	0,1111	0,0453

Apêndice 2: Curvas padrão

Figura I: Curva analítica de ácido gálico utilizada na análise do conteúdo de teor de fenólicos totais (TFT).

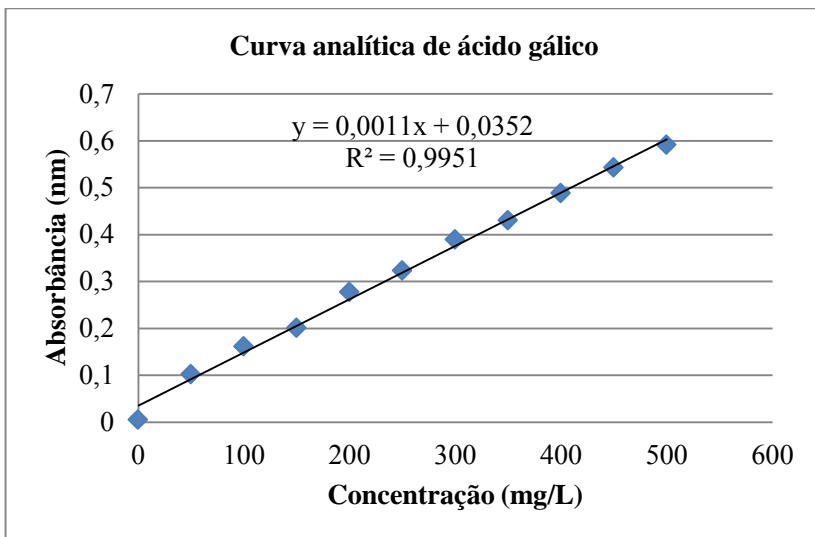
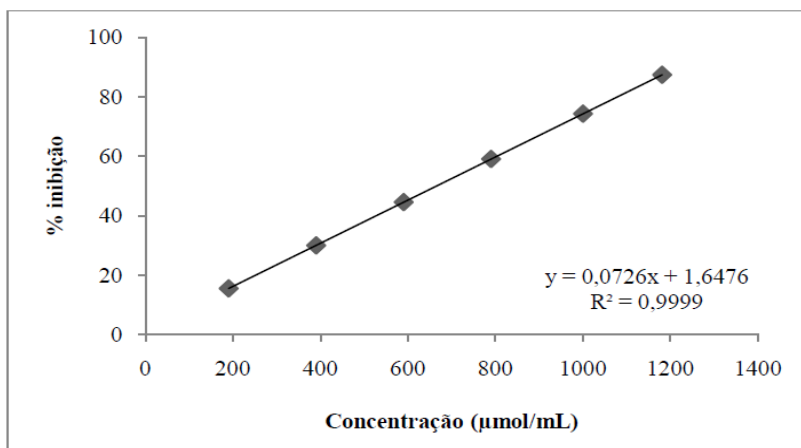


Figura II: Curva analítica de Trolox utilizada na determinação da atividade antioxidante (AA).



Apêndice 3: Projeto da coluna C-2

Figura III: Vista geral explodida do conjunto da coluna C-2

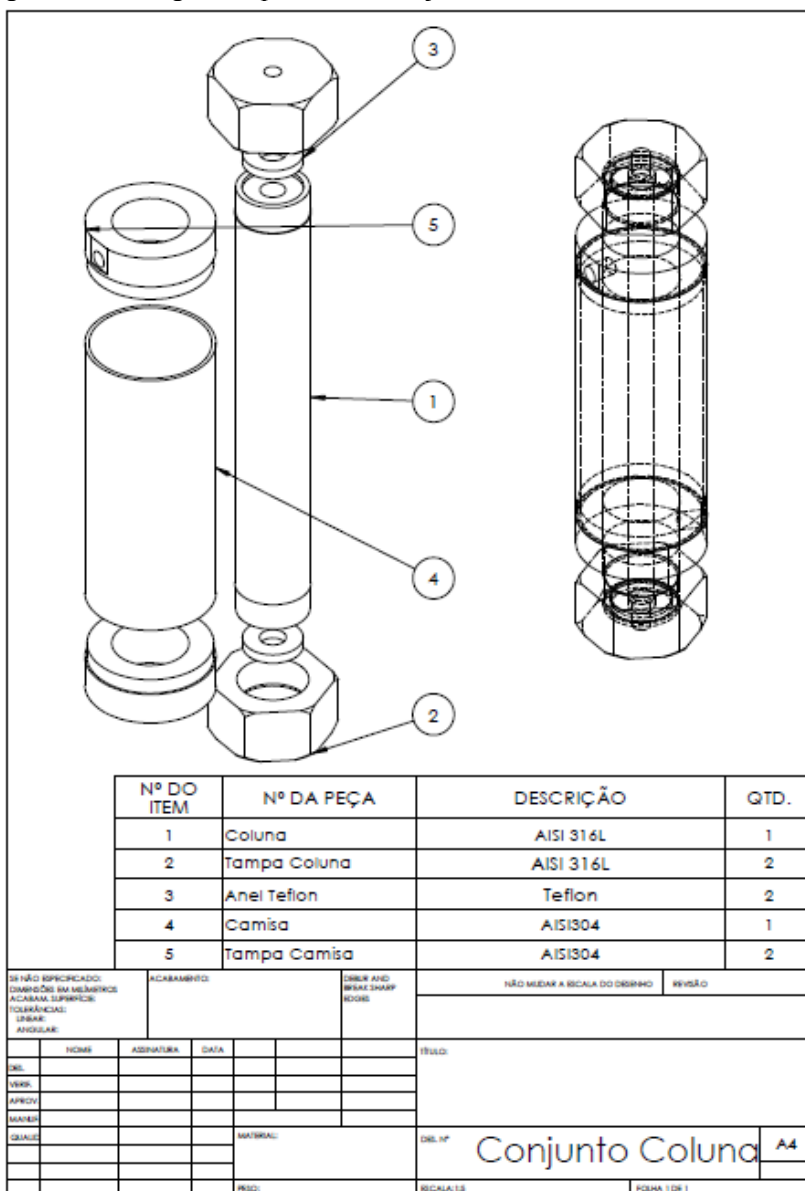


Figura IV: Vista da solda e vedação da coluna C-2

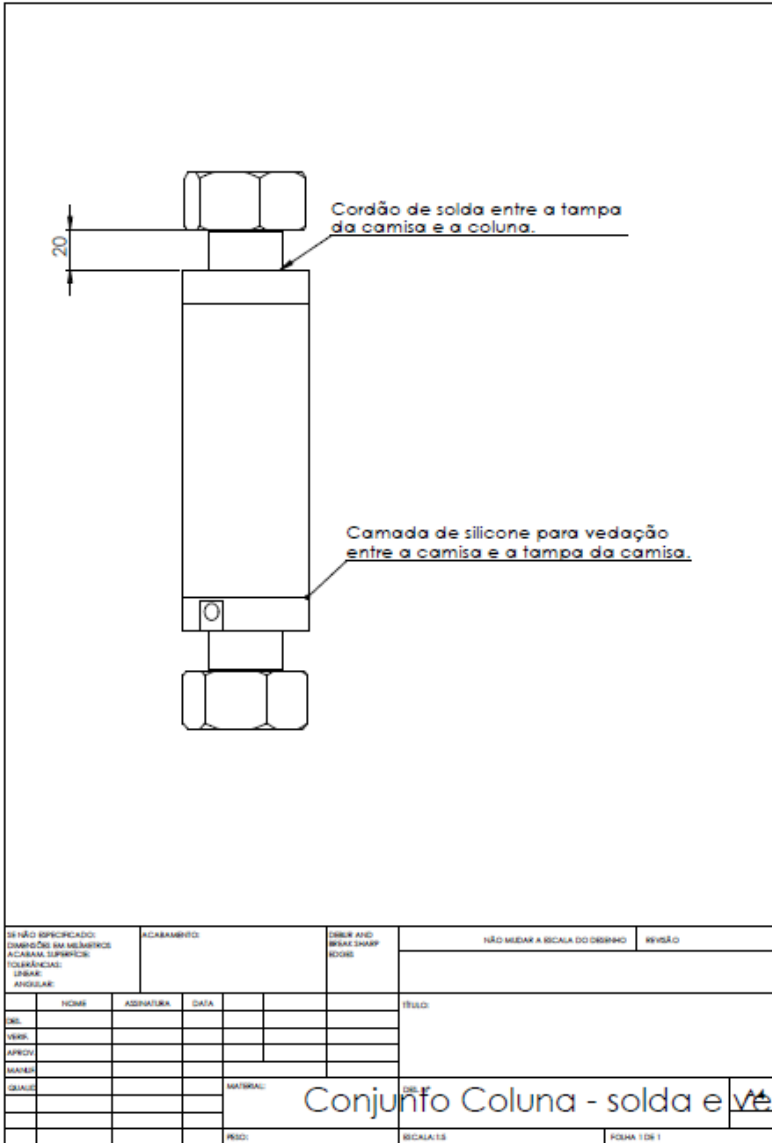


Figura V: Vista das tampas da coluna C-2

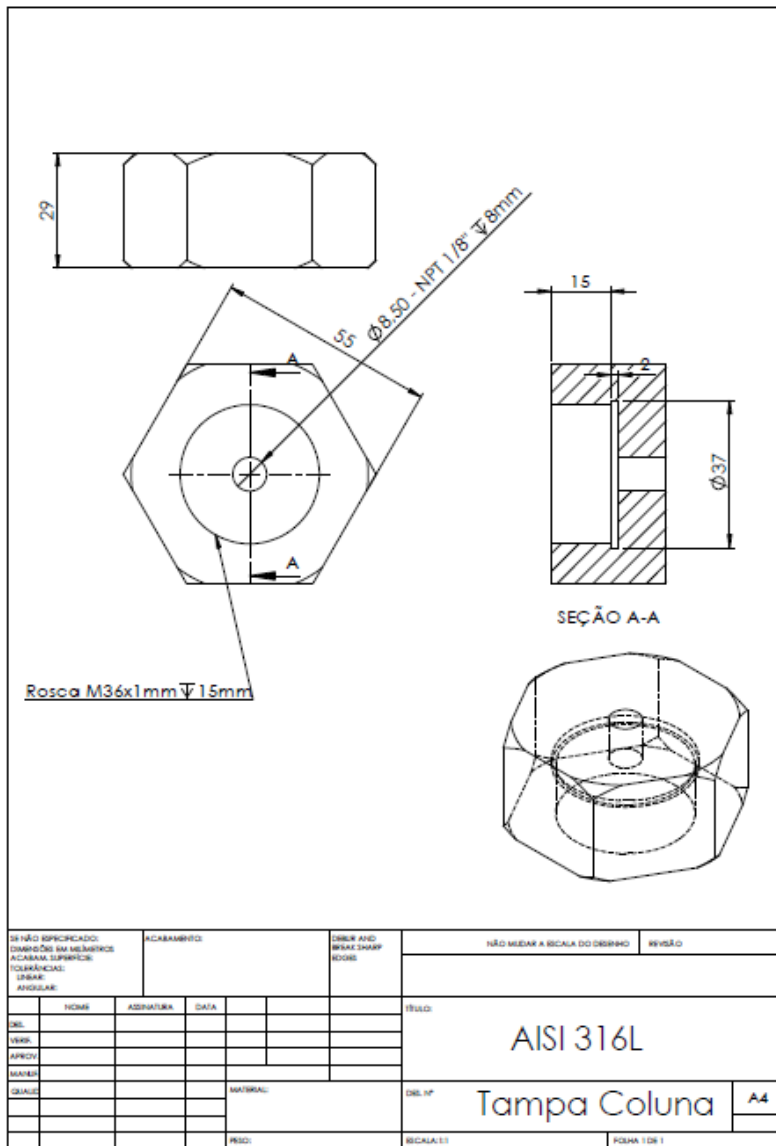


Figura VI: Vista do anel de teflon para vedação das tampas da coluna

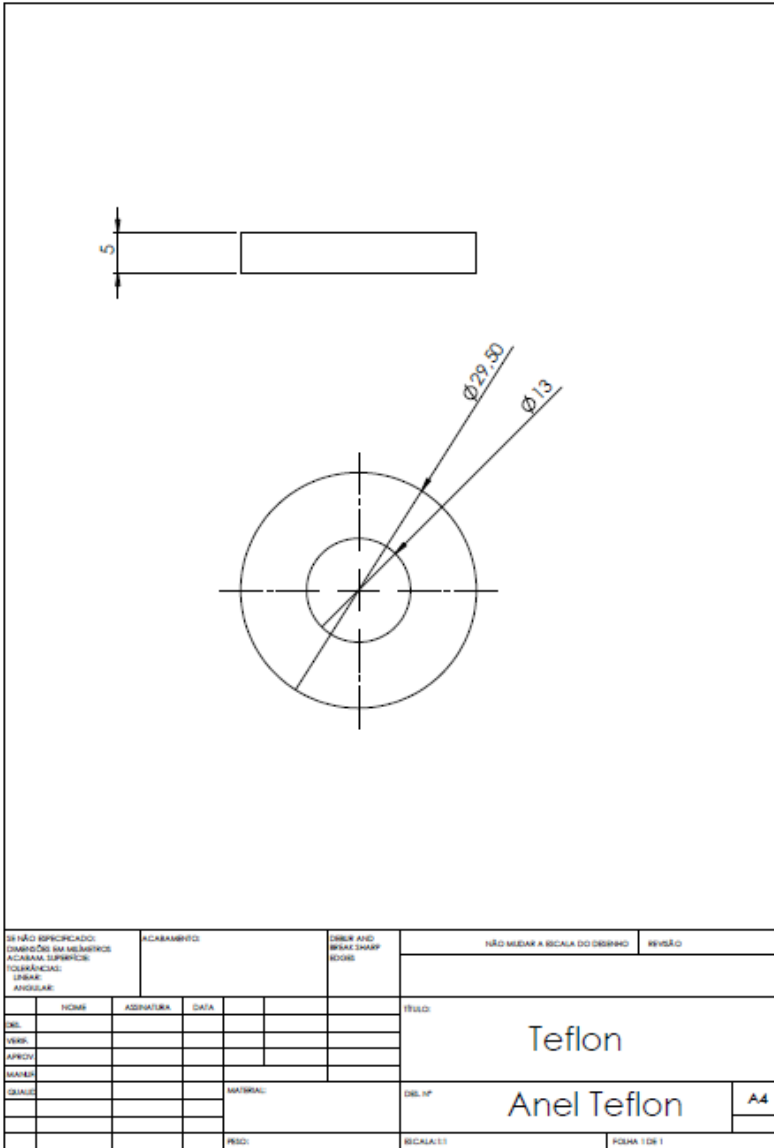


Figura VII: Vista lateral da coluna C-2

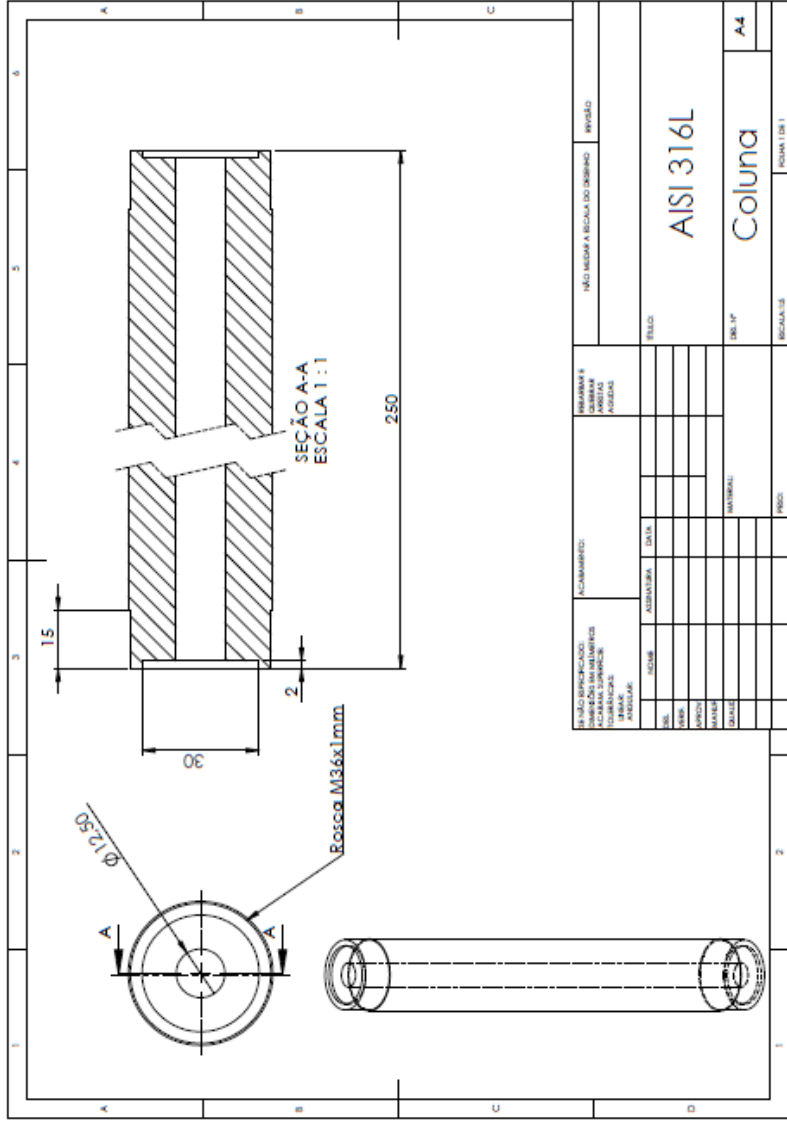


Figura VIII: Vista da tampa da camisa de aquecimento da coluna

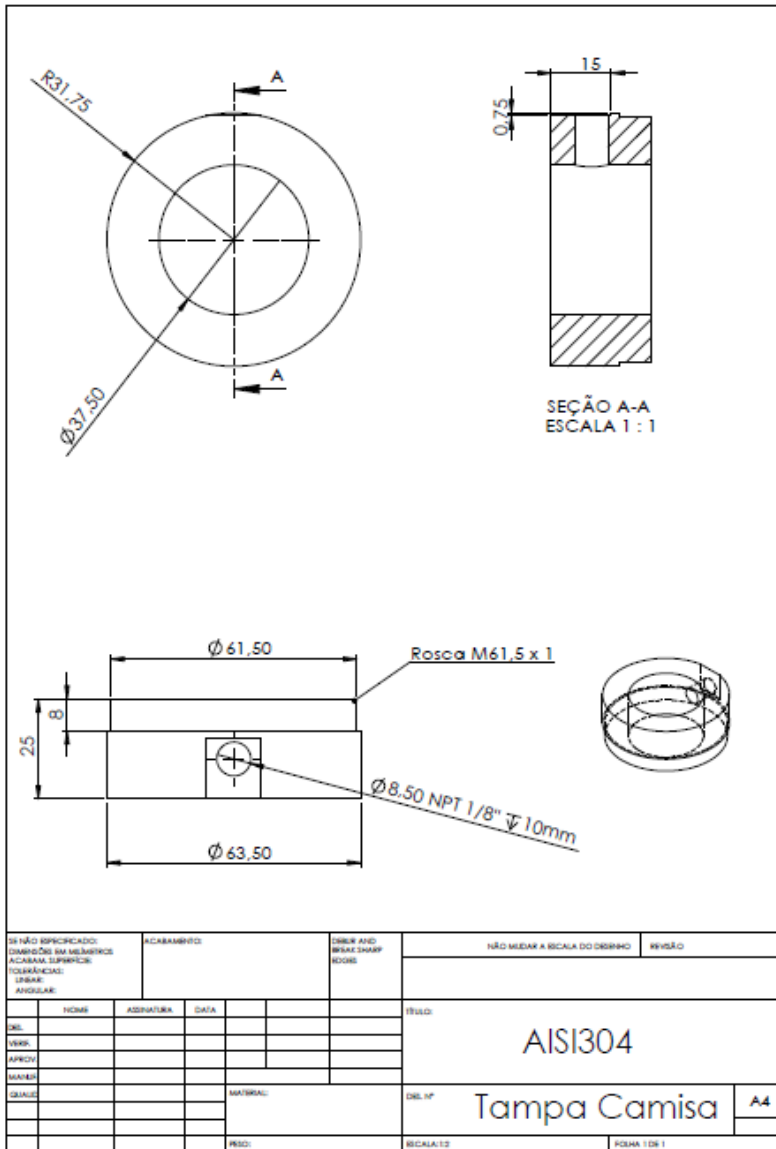


Figura IX: Vista da camisa/cilindro de aquecimento da coluna

