

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

**OBTENÇÃO E AVALIAÇÃO DE EXTRATOS DE FOLHAS DE
EUCALIPTO (*Eucalyptus dives*) COMO POTENCIAIS
ANTIOXIDANTES EM ALIMENTOS**

LUIS FERNANDO WENTZ BRUM

**Florianópolis
2010**

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

**OBTENÇÃO E AVALIAÇÃO DE EXTRATOS DE FOLHAS DE
EUCALIPTO (*Eucalyptus dives*) COMO POTENCIAIS
ANTIOXIDANTES EM ALIMENTOS**

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

Área de concentração:
Desenvolvimento de Processos na
Indústria de Alimentos

Orientador: Prof. Dr. Julian Martínez

**LUIS FERNANDO WENTZ BRUM
Engenheiro de Alimentos**

**Florianópolis
2010**

“Obtenção e avaliação de extratos de folhas de eucalipto (*Eucalyptus dives*) como potenciais antioxidantes em alimentos”

Por

Luis Fernando Wentz Brum

Dissertação julgada para a obtenção do título de **Mestre em Engenharia de 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. Dr. Julian Martínez
Orientador

Prof^ª. Dr^ª. Alcilene Monteiro Rodrigues Fritz
Coordenadora do CPGEA

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Julian Martínez

Prof^ª. Dr^ª. Vera Maria Rodrigues

Prof. Dr. Haiko Hense

Prof. Dr. Bruno Augusto Mattar Carciofi

Prof. Dr. Marcelo Lanza

Florianópolis, 17 de dezembro de 2010.

AGRADECIMENTOS

À Deus, pelo amparo, força e por ter me concedido esta oportunidade.

Aos meus pais, Antônio e Sirlei, pelo amor e total incentivo em todos os momentos da minha vida.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Julian Martínez, pela confiança e todas as contribuições para a realização deste trabalho.

Aos membros da banca pela disponibilidade, sugestões e comentários.

Às estagiárias de Iniciação Científica, Bruna e Pamela, pela ajuda, responsabilidade e dedicação.

Aos meus irmãos, Gisele, Marcos, Fábio e Márcio pela amizade e apoio.

À minha sobrinha Isabele, pelo amor, carinho e todos os momentos de “interrupções” nos estudos.

A toda minha família e afilhados pelo apoio, carinho, torcida em todos os momentos.

Aos grandes amigos da graduação, do mestrado e companheiros de jornada e moradia Luís Carlos, Marieli e Raquel por todos os bons momentos, apoio e amizade: contem sempre comigo.

Aos colegas do LATESC pelas dicas, troca de ideias, reuniões e momentos de descontração, em especial Susana, Natália e Patrícia.

Aos demais colegas do PPGA por todos os momentos de estudos, lazer e diversão, em especial Thiago, Karina, Jaqueline, Gustavo, Barbara e Gilson.

Ao grande amigo Tiago pela concessão das folhas de eucalipto, pela disponibilidade e amizade.

Às grandes amigas Daia e Michi pelos momentos de diversão e ajuda na coleta das amostras.

A todos os meus amigos, por todos os bons momentos compartilhados, torcida e amizade.

Ao CNPq pelo apoio financeiro dedicado a este trabalho.

*"Há homens que lutam um dia e são bons.
Há outros que lutam um ano e são melhores.
Há os que lutam muitos anos e são muito bons.
Porém, há os que lutam toda a vida.
Esses são os imprescindíveis."*

Bertolt Brecht.

RESUMO

O processamento da madeira de eucalipto gera um considerável volume de resíduo formado principalmente por galhos, flores e folhas da árvore. As folhas são compostas por substâncias de grande interesse para a indústria química, farmacêutica e de alimentos como compostos antioxidantes e aromáticos. A espécie *Eucalyptus dives*, da família *Myrtaceae*, possui folhas com óleo essencial rico em piperonal, eucaliptol e timol. Para obtenção deste óleo são empregadas várias técnicas de extração, dentre as quais se pode destacar a Extração Supercrítica (ESC) que opera a altas pressões, é livre de resíduos tóxicos e não provoca degradação térmica aos extratos, conservando as características sensoriais do produto, além das técnicas de extração convencionais como hidrodestilação e extração com solventes orgânicos. O estudo da cinética de ESC e das variáveis operacionais através da modelagem matemática permite definir parâmetros fundamentais para a viabilidade econômica do processo. Neste trabalho, o objetivo foi avaliar a obtenção do óleo essencial de folhas de eucalipto através de diferentes métodos de extração, a potencial atividade antioxidante dos extratos e sua funcionalidade como ingrediente para alimentos e estudar a cinética e modelagem de ESC a fim de propor um estudo de viabilidade econômica do processo. Folhas de eucalipto foram coletadas na região norte do Rio Grande do Sul e encaminhadas para os processos de preparação da matéria-prima, extração de seu óleo essencial através de hidrodestilação, extração Soxhlet utilizando diferentes solventes orgânicos e ESC operando em diferentes condições de pressão e temperatura. Avaliou-se o comportamento do rendimento global de ESC em função da pressão e temperatura de operação. Os extratos foram avaliados quanto a sua potencial atividade antioxidante, teor de fenólicos totais e capacidade em inibir reações de peroxidase em vegetais. O uso de folhas de eucalipto provenientes do resíduo do processamento da madeira na obtenção de óleo essencial através de ESC é um processo viável economicamente e apresenta vantagens sobre outras técnicas convencionais de extração, como aumento no rendimento global de extração. A condição de operação de ESC que apresentou melhor rendimento global de extração foi a de 250 bar e 30°C. A modelagem matemática apresentou bons ajustes dos parâmetros para o Modelo de Martínez et al. (2003) e o estudo de viabilidade econômica apresentou um custo específico de óleo entre US\$ (2,47 – 3,78)/kg de óleo com um tempo de operação entre 30 e 60 minutos, sendo compatível com o preço de mercado.

ABSTRACT

The processing of eucalyptus wood generates a huge content of waste consisting mainly of twigs, flowers and leaves of the trees. The leaves are composed of substances of great interest for the chemical, pharmaceutical and food industries, such as antioxidants and aromatic compounds. The specie *Eucalyptus dives*, from *Myrtaceae* family, has leaves with essential oil rich in piperonal, eucalyptol and thymol. Various extraction techniques can be employed to obtain this oil, among which we highlight Supercritical Fluid Extraction (ESC), which operates at high pressures, is free of toxic waste and does not lead to thermal degradation of the extract compounds, retaining the sensory characteristics, as well as conventional extraction techniques such as hydrodistillation and extraction with organic solvents. The kinetic study of ESC and its operational variables through mathematical modeling allows setting basic parameters for the study of economic viability of the process. This study was conducted to obtain the essential oil of eucalyptus leaves using different extraction methods, evaluating the potential antioxidant activity of extracts and its functionality as an ingredient for foods, as well as the study of the kinetics and modeling of ESC in order to propose an economic feasibility study process. Eucalyptus leaves were collected in northern Rio Grande do Sul, Brazil, and brought to the preparation processes of raw material, extraction of essential oil by hydrodistillation, Soxhlet extraction using different organic solvents and ESC operating under different conditions of pressure and temperature. The performance of the global yield of ESC as a function of pressure and temperature was evaluated. The extracts were screened for their potential antioxidant activity, total phenolic content and ability to inhibit peroxidase reactions in vegetables. The use of eucalyptus leaves from the byproducts of wood in obtaining essential oil through ESC is economically feasible and has advantages over other conventional extraction techniques, such as increasing the global yield of extraction. The operational mode of ESC with the best global yield was of 250 bar and 30°C. The mathematical modeling showed good fits of the parameters for the model of Martinez et al. (2003) and economic feasibility study showed a specific cost of oil between US\$ (2,47 – 3,78) / kg oil with a running time between 30 and 60 minutes, which is a compatible price with the market

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	27
2. OBJETIVOS	29
2.1 Objetivo Geral	29
2.2 Objetivos Específicos	29
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	31
3.1 Eucalipto	31
3.1.1 Produção de eucalipto no Brasil	32
3.1.2 Composição da folha de eucalipto	33
3.1.2.1 Óleos essenciais	35
3.1.2.2 Óleos essenciais de eucalipto	37
3.1.3 <i>Eucalyptus dives</i>	39
3.2 Atividade antioxidante	41
3.2.1 Compostos fenólicos	42
3.2.2 Peroxidase em vegetais	43
3.3 Métodos de extração	44
3.3.1 Hidrodestilação	44
3.3.2 Extração com solventes orgânicos	45
3.3.3 Extração supercrítica	45
3.3.3.1 CO ₂ supercrítico	48
3.3.3.2 Curva de extração	49
3.3.3.3 Rendimento	50
3.4 Modelagem matemática	51
3.4.1 Modelo de Sovová (1994)	51
3.4.2 Modelo de Martínez et al. (2003)	52
3.4.3 Modelo da Segunda Lei de Fick adaptado por Crank (1975)	53
3.5 Viabilidade econômica da implementação do processo	54

4. MATERIAL E MÉTODOS.....	57
4.1 Coleta, identificação e preparo da matéria-prima.....	57
4.1.1 Coleta	57
4.1.2 Identificação da espécie de eucalipto	57
4.1.3 Preparo	57
4.1.3.1 Secagem	57
4.1.3.2 Moagem	58
4.1.3.3 Congelamento	59
4.1.3.4 Umidade	59
4.2 Obtenção do extrato de folhas de eucalipto.....	60
4.2.1. Hidrodestilação.....	60
4.2.2. Extração com solventes orgânicos.....	60
4.2.3. Extração supercrítica	61
4.2.3.1 Parâmetros da ESC.....	61
4.2.3.2 Equipamento de ESC	62
4.2.3.3 Obtenção do óleo essencial utilizando fluido supercrítico.....	64
4.3 Estudo das cinéticas de extração e viabilidade econômica do processo	65
4.3.1 Estudo das cinéticas de extração	65
4.3.2 Viabilidade econômica do processo	66
4.4 Caracterização do extrato	66
4.4.1 Atividade Antioxidante (AA).....	66
4.4.2 Determinação do teor de fenólicos totais	67
4.4.3 Teste de inibição de peroxidase em vegetais.....	68
4.5 Análise estatística.....	69
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	71
5.1 Identificação e preparo da matéria-prima	71
5.1.1 Identificação da espécie estudada.....	71
5.1.2 Secagem da matéria-prima	71
5.1.3 Umidade	72

5.2 Obtenção do óleo essencial de folhas de eucalipto.....	73
5.2.1 Hidrodestilação	73
5.2.2 Extração com solventes orgânicos.....	74
5.2.3 Extração supercrítica	77
5.3 Estudo das cinéticas de extração e viabilidade econômica do processo.....	83
5.3.1 Estudo das cinéticas de extração.....	83
5.3.2 Viabilidade econômica do processo	89
5.4 Caracterização dos extratos obtidos.....	97
5.4.1 Atividade antioxidante.....	97
5.4.2 Teor de compostos fenólicos	100
5.4.3 Teste de inibição de peroxidase em vegetais	102
6. CONCLUSÕES	105
7. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS.....	107
REFERÊNCIAS	109
ANEXOS	119
Anexo I: Laudo de identificação da espécie de eucalipto fornecido pela UFSM.....	119
APÊNDICES.....	121
Apêndice A: Teste preliminar para verificação do tempo de ESC.....	121
Apêndice B: Quadros de ANOVA e Teste de Tukey	123
Apêndice C: Dados da secagem da matéria-prima	129
Apêndice D: Cálculo da solubilidade da matéria-prima no solvente supercrítico	131
Apêndice E: Valores de massa de extrato obtida e tempo de obtenção para cada curva de cinética de extração.....	133

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 <i>Eucalyptus citriodora</i>	32
Figura 2 <i>Eucalyptus globulus</i>	32
Figura 3 Esquema de corte transversal de folha de eucalipto.....	34
Figura 4 Representação do ciclo biossintético dos componentes secundários originados na formação dos óleos essenciais.....	36
Figura 5 <i>Eucalyptus dives</i>	40
Figura 6 Estrutura química do piperonal.....	40
Figura 7 Estrutura química do eucaliptol em 2 diferentes arranjos estruturais.....	41
Figura 8 Estrutura química do timol.....	41
Figura 9 Esquema de um módulo de ESC.....	47
Figura 10 Diagrama de fase pressão-temperatura (PT) para CO ₂	48
Figura 11 Curva típica de extração segundo Brunner (1994).....	49
Figura 12 Folhas de eucalipto após a secagem.....	58
Figura 13 Folhas de eucalipto após a moagem.....	59
Figura 14 Planta de ESC do LATESC.....	63
Figura 15 Diagrama do processo de ESC.....	63
Figura 16 Curva de secagem das folhas de eucalipto.....	72
Figura 17 Gráfico de rendimentos globais para extrato de folhas de eucalipto obtidos através de Soxhlet com diferentes solventes orgânicos e por hidrodestilação.....	75
Figura 18 Gráfico de médias e desvios padrões de rendimento global para os solventes orgânicos utilizados nas extrações Soxhlet.....	76
Figura 19 Gráfico de rendimentos globais de ESC nas condições experimentais testadas.....	79
Figura 20 Superfície de resposta da influência da temperatura e da pressão no rendimento global da extração supercrítica do extrato de folhas de eucalipto.....	80
Figura 21 Curvas de extração obtidas a 150 bar nas temperaturas de 30°C e 50°C.....	81

Figura 22	Curvas de extração obtidas a 250 bar nas temperaturas de 30°C e 50°C.....	81
Figura 23	Curvas de extração obtidas a 30°C nas pressões de 150 bar e 250 bar.....	82
Figura 24	Curvas de extração obtidas a 50°C nas pressões de 150 bar e 250 bar.....	82
Figura 25	Curvas de ESC de extrato de folhas de eucalipto experimental e modeladas para a condição de pressão de 150 bar e de temperatura de 30°C.....	84
Figura 26	Curvas de ESC de extrato de folhas de eucalipto experimental e modeladas para a condição de pressão de 250 bar e de temperatura de 30°C.....	85
Figura 27	Curvas de ESC de extrato de folhas de eucalipto experimental e modeladas para a condição de pressão de 200 bar e de temperatura de 40°C.....	85
Figura 28	Curvas de ESC de extrato de folhas de eucalipto experimental e modeladas para a condição de pressão de 150 bar e de temperatura de 50°C.....	86
Figura 29	Curvas de ESC de extrato de folhas de eucalipto experimental e modeladas para a condição de pressão de 250 bar e de temperatura de 50°C.....	86
Figura 30	Diagrama da divisão de custos estimados para 2 extratores de 100 L de ESC para obtenção de extrato de folhas de eucalipto na condição de 150 bar e 50°C e 60 minutos de processo	94
Figura 31	Diagrama da divisão de custos estimados para 2 extratores de 400 L de ESC para obtenção de extrato de folhas de eucalipto na condição de 150 bar e 50°C e 60 minutos de processo	94
Figura 32	Diagrama da divisão de custos estimados para 2 extratores de 100 L de ESC para obtenção de extrato de folhas de eucalipto na condição de 250 bar e 30°C e 30 minutos de processo	95
Figura 33	Diagrama da divisão de custos estimados para 2 extratores de 400 L de ESC para obtenção de extrato de folhas de eucalipto na condição de 250 bar e 30°C e 30 minutos de processo	95
Figura 34	Custo específico do extrato de folhas de eucalipto em função da condição 150 bar e 50°C.....	96

Figura 35	Custo específico do extrato de folhas de eucalipto em função da condição 250 bar e 30°C.....	96
Figura 36	Valores obtidos para AA (%) e EC ₅₀ dos extratos de folhas de eucalipto.....	99
Figura 37	Curva padrão de ácido gálico.....	101
Figura 38	Laudo de identificação de espécie de folha de eucalipto ...	119
Figura 39	Curva de extração de OE de eucalipto obtida no teste preliminar para verificação do tempo de ESC.....	121

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 Óleos essenciais majoritários das principais espécies de eucalipto relatados por Vieira, (2004).....	38
Tabela 2 Condições experimentais testadas no procedimento de ESC	64
Tabela 3 Resumo dos extratos obtidos através dos métodos aplicados.....	65
Tabela 4 Valores para umidade das folhas de eucalipto.....	72
Tabela 5 Rendimento para extrato das folhas de eucalipto obtido por hidrodestilação	73
Tabela 6 Rendimento para extrato de folhas de eucalipto obtido através de Soxhlet com diferentes solventes orgânicos.....	75
Tabela 7 Rendimentos globais de ESC nas condições experimentais testadas	78
Tabela 8 Variáveis das condições operacionais testadas empregadas no processo de ESC.....	84
Tabela 9 Parâmetros ajustáveis e erros médios quadráticos obtidos através de modelagem matemática das curvas de ESC de óleo essencial de folhas de eucalipto.....	88
Tabela 10 Variáveis de processo para estimativa de viabilidade econômica para implantação	90
Tabela 11 Custos estimados para implementação de unidade de ESC para obtenção de OE de folhas de eucalipto na condição de 150 bar e 50°C.....	92
Tabela 12 Custos estimados para implementação de unidade de ESC para obtenção de extrato de folhas de eucalipto na condição de 250 bar e 30°C.....	93
Tabela 13 Dados de atividade antioxidante (AA%) e EC ₅₀ (µg/mL) obtidos no extrato de folhas de eucalipto	98
Tabela 14 Teor de compostos fenólicos presentes nos extratos de folhas de eucalipto obtidos através das técnicas de extração empregadas.....	102
Tabela 15 Atividade de peroxidase e porcentagem de inibição de peroxidase em alface através de aplicação do extrato de folhas de eucalipto obtido por diferentes técnicas de extração.....	103

Tabela 16	Dados da secagem da matéria-prima.....	129
Tabela 17	Cálculos de solubilidade da matéria-prima no solvente supercrítico.....	131

NOMENCLATURA

ρ_p	Densidade da matriz sólida a ser extraída (M/L)
ρ_{CO_2}	Densidade do solvente supercrítico (M/L)
ρ_A	Densidade aparente (M/L)
ρ_R	Densidade real (M/L)
AA	Atividade Antioxidante
b	Parâmetro ajustável do Modelo Logístico de Martínez (T^{-1})
CER	Taxa constante de extração
CMP	Custo de matéria-prima (US\$/ano)
COP	Custo com operadores (US\$/ano)
CUM	Custo de manufatura (US\$/ano)
CUT	Custo com utilidades (US\$/ano)
Db	Diâmetro do leito de extração em (L)
Dp	Diâmetro médio da partícula de matéria-prima (L)
D	Coefficiente de difusividade mássica (L/T)
EC ₅₀	Concentração efetiva referente a 50% de atividade antioxidante (M)
FER	Taxa decrescente de extração
h	Coordenada axial do leito de extração (L)
Hb	Altura do leito de extração preenchido com a matriz sólida (L)
k_{XA}	Coefficiente de transferência de massa na fase sólida (T^{-1}) do Modelo de Sovová
k_{YA}	Coefficiente de transferência de massa na fase fluída (T^{-1}) do Modelo de Sovová
m_0	Massa inicial total de óleo (soluto) no leito no leito de extração (g)
N	Diferença entre o valor da massa inicial e massa final (M)
P	Peso da amostra (M)
p	Probabilidade de significância, valor-p
q_{CO_2}	Vazão do solvente supercrítico (M/T)
r	Raio do leito de extração (L)
t	Tempo de extração (T)
t_m	Parâmetro ajustável do Modelo Logístico de Martínez (T)
U	Velocidade superficial do solvente (L/T)

X_0	Rendimento global de extração
x_0	Fração mássica da massa de óleo obtida e da quantidade de matéria-prima
y^*	Solubilidade da matriz sólida no solvente supercrítico
x_p	Soluto de fácil acesso (M)
x_k	Soluto de difícil acesso (M)

1. INTRODUÇÃO

A indústria da madeira no Brasil é responsável pela geração de grande parcela do PIB nacional. As indústrias de papel, papelão e de celulose consomem a maioria desta madeira, sendo de inegável importância na economia atual. A obtenção destes produtos se dá mediante o processamento da madeira de árvores como o eucalipto. Originalmente a obtenção de madeira para a produção de papel e celulose era realizada através do extrativismo, nas últimas décadas a exigência da sociedade e da própria legislação por processos sustentáveis tem se acentuado. Desta forma, tornou-se comum o fato das indústrias possuírem suas próprias fazendas de eucalipto, de onde obtém matéria-prima para seus produtos de forma renovável. Ainda assim, a produção de subprodutos da madeira de eucalipto gera um considerável volume de resíduos, compostos pelas partes da planta que não são aproveitadas na confecção dos produtos. Entre estas partes destacam-se folhas, flores, galhos menores e cascas das árvores. Estes resíduos constituem uma rica fonte de compostos aromáticos e antioxidantes de grande interesse para a indústria química, farmacêutica e de alimentos (EMBRAPA, 2008).

A espécie *Eucalyptus dives* (*E. dives*) foi recentemente introduzida no Brasil através de áreas de reflorestamento no sul do país. Possui estrutura mediana, casca rugosa e suas folhas apresentam um teor médio de 50% de piperitona, que pode facilmente ser convertida em timol e mentol. Outro componente, o felandreno (20 a 30%), vem sendo muito utilizado como solvente nas indústrias química e farmacêutica (BRAGA, 1971).

A obtenção de óleos essenciais (OE) a partir de matérias-primas de origem vegetal, como as folhas de eucalipto, é uma atividade comum para as indústrias de forma a obter determinados compostos presentes no óleo para aplicação em diversas finalidades através de diferentes tipos de métodos de extração, tais como hidrodestilação, extração com solvente orgânico e Extração Supercrítica (ESC).

A Extração Supercrítica é uma tecnologia que tem se destacado devido ao seu interesse para a indústria de alimentos, como uma alternativa aos processos convencionais como extração com solvente e destilação a vapor, para a obtenção de OE e oleoresinas. Os extratos produzidos por ESC são livres de resíduos; além disso, a mesma pode

ser conduzida a baixas temperaturas, o que é necessário para preservar a qualidade de produtos termosensíveis (MEZZOMO, 2008).

A ESC pode ser realizada em uma ampla faixa de condições (temperatura e pressão). O ajuste desses parâmetros de processo afeta a solubilidade de cada composto no solvente, possibilitando a extração seletiva dos produtos desejados com melhores características funcionais e nutricionais (BRUNNER, 1994).

A viabilidade econômica dos processos utilizando a ESC é determinante para a sua aplicação e a mesma é avaliada através do aumento de escala que consiste na estimativa do comportamento do sistema em processos em escala industrial, a partir de processos em laboratório. O alto investimento da instalação de uma unidade de extração é justificado devido à necessidade de equipamentos e acessórios com material resistente às altas pressões empregadas nos processos.

A modelagem matemática dos processos de extração tem como principal objetivo determinar os parâmetros ajustáveis dos modelos a partir de dados experimentais, a fim de que estes sejam mantidos constantes na transposição de escala para, então, se obter o *design* do processo em maior escala, como dimensão de equipamento, vazão do solvente e tamanho da partícula (MARTÍNEZ et al. 2003).

A qualidade dos extratos obtidos através do conhecimento de sua composição química, seu potencial antioxidante e demais finalidades específicas é vital para a aprovação de sua viabilidade e utilização em subprodutos ou em demais processos industriais.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Este trabalho tem como objetivo principal estudar a viabilidade de obtenção de componentes naturais oriundos das folhas de eucalipto, com aplicabilidade na indústria de alimentos, de forma que tais produtos sejam potenciais substitutos de ingredientes sintéticos, através da avaliação dos processos de extração e da qualidade dos extratos obtidos.

2.2 Objetivos Específicos

- a) Identificação de espécie de eucalipto com potencial para uso na produção de ingredientes para a indústria de alimentos;
- b) Avaliação dos rendimentos dos extratos de eucalipto obtidos através dos sistemas de extração hidrodestilação, extração com solvente orgânico e extração supercrítica;
- c) Avaliação da atividade antioxidante, do teor de compostos fenólicos e do potencial inibidor de peroxidase em vegetais dos extratos de folhas de eucalipto obtidos pelos métodos aplicados;
- d) Estudo da cinética dos processos de extração empregados, através de modelagem matemática;
- e) Avaliação do custo fixo e operacional dos diversos processos empregados, visando à análise da viabilidade econômica da produção de extratos de eucalipto.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Eucalipto

Segundo Pereira (1987), dentre as espécies de eucalipto utilizadas, as do gênero *Eucalyptus* destacam-se pela grande plasticidade e por desenvolverem-se com grande vigor em diferentes condições ecológicas. São utilizadas pela importância da madeira como combustível para siderurgia, indústria moveleira, construção civil, postes e fabricação de papel.

As folhas descartadas dos processos citados anteriormente, antes tratadas como resíduos vêm ganhando destaque em sua produção nos últimos anos para a extração de seu óleo essencial, atualmente muito utilizado por indústrias de diversos segmentos.

O gênero *Eucalyptus*, da família *Myrtaceae*, compreende mais de 700 espécies (Ambiente Brasil, 2008), algumas das quais têm sido estudadas quanto ao potencial de seus extratos. A grande diversidade de espécies de eucalipto faz com que a variedade de compostos presentes nas plantas seja grande. Por isso, é fundamental identificar qual espécie está em estudo, e classificar as mesmas quanto ao tipo de substância dela extraíveis.

As espécies de eucalipto são compostas por tronco, cascas, flores, frutos e folhas. As folhas são distribuídas em folhagem persistente e são cobertas de glândulas que segregam óleo. Muitas espécies apresentam ainda dimorfismo foliar. Quando jovens as suas folhas são arredondadas e ocasionalmente, sem pecíolo. Depois de um a dois anos de crescimento, a maior parte das espécies passa a apresentar folhas alternadas, lanceoladas a falciformes (com forma semelhante a uma foice), estreitas e pendidas a partir de longos pecíolo (AMBIENTE BRASIL, 2008).

As Figuras 1 e 2 demonstram espécies distintas de eucalipto encontradas no Brasil.



Figura 1 *Eucalyptus citriodora*.

Fonte: Ambiente Brasil, 2008.



Figura 2 *Eucalyptus globulus*.

Fonte: Ambiente Brasil, 2008.

3.1.1 Produção de eucalipto no Brasil

O Brasil possui atualmente cerca de 6 milhões de hectares em área reflorestada com eucaliptos que são destinadas à produção de carvão vegetal para a indústria siderúrgica e de ferroligas, para produção de celulose, papel, painéis de madeira e outros subprodutos, como tecido

sintético, cápsulas de remédios, produtos de limpeza, alimentícios, perfumes e medicamentos. Numa proteção racional às florestas nativas, cresce a cada dia o uso da madeira sólida proveniente dessas plantações florestais. Embora muitas vezes criticadas pela opinião pública como uma ameaça às florestas naturais, as florestas plantadas de eucalipto cumprem na verdade um papel de compensação, fornecendo a matéria-prima que de outra forma seria obtida das florestas naturais. Além disso, os eucaliptos são árvores de crescimento rápido, de alta rotatividade natural e comercial, pois possuem diversas aplicações e utilidades (BRASIL ESCOLA, 2010).

As alternativas de produção associadas à preservação ambiental e ao aumento do nível de emprego e renda têm sido geradas visando à melhoria da qualidade de vida dos produtores e sociedade em geral. O plantio de florestas de eucalipto tem sido utilizado como um Sistema Agroflorestal, que consiste na combinação de cultivos simultâneos e/ou seqüenciais de espécies arbóreas naturais e/ou introduzidas com culturas agrícolas anuais através de culturas frutíferas, pastagens, etc. (RODIGHERI, 1998).

O eucalipto é utilizado no Brasil em diversos segmentos comerciais e industriais, onde toda a planta é aproveitada. Das folhas, extrai-se o OE empregado em produtos de limpeza e alimentícios, em perfumes e na indústria farmacêutica. A casca oferece tanino, usado no curtimento do couro. O tronco fornece madeira para sarrafos, lambris, ripas, vigas, postes, varas, esteios para minas, mastros para barco, tábuas para embalagens e móveis. Sua fibra é utilizada como matéria-prima para a fabricação de papel e celulose (EMBRAPA, 2008).

3.1.2 Composição da folha de eucalipto

As folhas de eucalipto segregam seu OE por estruturas secretoras especializadas – pêlos glandulares, células parenquimáticas diferenciadas, canais oleíferos e bolsas específicas. Tais estruturas podem estar localizadas em algumas partes específicas da folha, em toda ela ou em toda a planta. Porém, óleos essenciais obtidos de diferentes órgãos de uma mesma planta, como folhas e flores, por exemplo, podem apresentar composição química, características físico-químicas e odores distintos. (SIMÕES, 2004).

A Figura 3 demonstra as estruturas secretoras da folha de eucalipto, produtoras de seu óleo essencial.

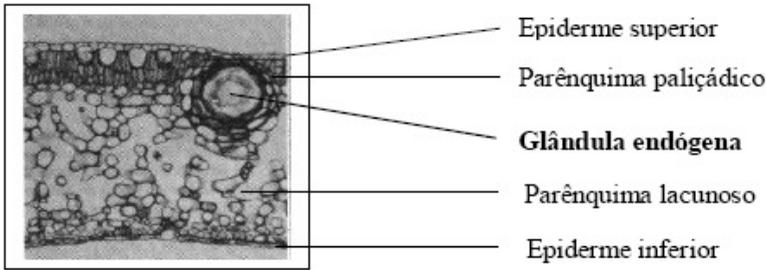


Figura 3 Esquema de corte transversal de folha de eucalipto.

Fonte: Oliveira; Akisue; Akisue, 1998.

São vários os fatores que são citados por Simões (2004), por exercerem influência na obtenção do OE de eucalipto, sendo eles:

- Variabilidade genética: de forma geral, é considerado um instrumento valioso para a realização de trabalhos de melhoramento, visando o incremento na produção de óleo e o aumento da quantidade do componente químico desejado.
- Idade da folha: Propõe-se a existência de 5 tipos morfológicamente distintos de folhas durante o tempo de vida da árvore, cada um correspondendo a um estágio de desenvolvimento. Assim, na planta podem existir: folhas cotiledonares, folhas de plântulas, folhas juvenis, folhas intermediárias, folhas adultas.

Segundo Matos (2002), a média de vida normal das folhas de eucalipto é de aproximadamente 18 meses, o que pode estar sujeito a uma ampla variação, existindo folhas que permanecem apenas poucos meses e folhas que permanecem por 3 a 4 anos presas ao caule, ocorrendo a transição dos tipos de folhas nesse período.

Boland et al. (1982), relatam que, para o *E. delegatensis*, o rendimento de óleo de folhas de plântulas é muito menor do que o observado nas outras fases das folhas da planta. Franich (1986) relata que, para o *E. nitens*, o rendimento do óleo essencial para folhas juvenis foi de 1%, ou seja, menos da metade do que o normalmente relatado para folhas de árvores adultas (2,5%).

- Ambiente: a temperatura, a umidade relativa, a duração da exposição ao sol e o regime de ventos exercem influência direta

na segregação do óleo essencial na superfície da folha. Wang; Wang; Xie (1997) concluíram que o rendimento em óleo é afetado por condições ecofisiológicas, e que as melhores estações para a coleta de folhas e extração de óleo são inverno e primavera.

- Métodos de amostragem, extração e análise do óleo: Penfold; Willis (1961) citam cuidados que devem ser tomados na coleta, armazenamento e utilização das amostras de folhas de eucalipto. Em primeiro lugar, os autores citam os métodos de amostragem, sugerindo a atenção para a aleatorização da coleta e a composição da amostra (ramos, pecíolos e folhas ou somente a lâmina foliar). Também são citados cuidados no armazenamento, mudanças no ambiente em que se encontram as amostras, como umidade e aquecimento, e as técnicas de extração, juntamente com as condições dos aparelhos e experiência do técnico responsável pelo experimento, sempre relacionando os fatores com o rendimento de óleo essencial encontrado para cada tipo de situação.
- Manejo da cultura: o corte da árvore, o sistema de rotação de plantio, a indução do crescimento e o tempo de espera para o corte exercem influência direta na formação da planta e na composição química da madeira e das folhas da mesma.

3.1.2.1 Óleos essenciais

Os óleos essenciais são definidos como produtos obtidos de partes da planta através de mecanismos induzidos para este fim (SIMÕES, 2004). São produtos voláteis resultantes do metabolismo secundário das plantas, normalmente formados em células ou grupos de células especializadas, geralmente encontradas nos caules e folhas (HILI; EVANS; VENESS, 1997). Os óleos essenciais contêm variadas classes de compostos orgânicos. De acordo com Brilho (1967), a presença de tais compostos nos óleos em altas ou baixas concentrações afeta diretamente sua qualidade.

Segundo o decreto 50.040, de 24 de janeiro de 1961 da ANVISA (2010), considera-se óleo essencial o produto aromático, sávido, volátil, sob a forma oleosa, extraído de vegetais.

Embora todos os órgãos de uma planta consigam acumular óleos voláteis, sua composição pode variar segundo a localização do óleo nas mesmas, como por exemplo, óleo extraído de casca de uma planta rico

Os óleos podem ser líquidos à temperatura ambiente e, em alguns casos, semi-sólidos. A série terpênica apresenta densidade inferior a da água, e as substâncias aromáticas apresentam densidade superior. Possuem odor característico e são diferenciados pelo índice de refração. São solúveis em álcool e em solventes orgânicos e muito pouco solúveis em água (BUSATTA, 2006).

Uma gama bastante ampla de constituintes químicos pode ser identificada nos óleos essenciais, havendo referências da presença de hidrocarbonetos terpênicos, aldeídos, cetonas, fenóis, ésteres, éteres, óxidos, peróxidos, furanos, ácidos orgânicos, lactonas, etc. Entre os constituintes do óleo essencial, alguns apresentam maior concentração e são conhecidos como componentes principais. Aqueles que se apresentam em baixíssimas concentrações são conhecidos por componente traço (SIMÕES, 2004).

3.1.2.2 Óleos essenciais de eucalipto

Segundo Doran (1991), cerca de 20 espécies de eucalipto são citadas pela produção de óleo essencial com interesses pela gama de constituintes químicos presentes em cada um deles. Eles encontram-se divididos em três grupos, em função da sua utilização final: óleos medicinais, óleos para perfumaria e óleos industriais.

Na produção de óleo essencial de eucalipto, para cada 1000 kg de massa foliar, são obtidos cerca de 10 a 16 kg de óleo (1,0 a 1,6% de rendimento) e entre 65 a 85% de seus componentes majoritários. As exportações brasileiras do óleo essencial de eucalipto, no período de 2005-2008, somaram US\$ 9,6 milhões relativos a 1.237 t, sendo 66% oriundo do estado de São Paulo e 33% de Minas Gerais. O principal importador foi a União Europeia (45%), especificamente Espanha (24%), Reino Unido (13%) e Suíça (10%), seguido dos Estados Unidos (33%) (BIZZO; HOVELL; REZENDE, 2009).

São considerados óleos essenciais para uso medicinal aqueles que apresentam teores de 1,8-cineol acima de 70% e baixos teores de felandreno. Para Lassak (1988), esse tipo de óleo é encontrado nas espécies *E. globulus*, *E. tereticornis*, *E. smithii*, *E. camadulensis* entre outros. Segundo Matos (2004), algumas espécies de eucalipto demonstraram apresentar atividade contra bactérias, fungos, protozoários e enzimas.

Os óleos essenciais de eucalipto utilizados na perfumaria possuem o citronelal como constituinte majoritário, sendo o *E. citriodora* sua principal fonte. Esses óleos fazem parte da composição

de perfumes para diversos fins, sendo mais utilizados em produtos de limpeza, como desinfetantes e sabões (VITTI; BRITO, 2003).

Entre os óleos industriais os constituintes majoritários são o felandreno, matéria-prima utilizada em desodorantes e odorizadores, o mentol que é um flavorizante de produtos medicinais, e a piperitona de onde é extraído o timol, utilizado como conservante de gomas e pastas (DORAN, 1991). A Tabela 1 lista os principais tipos de óleos essenciais de eucalipto existentes na literatura e suas respectivas composições.

Tabela 1 Óleos essenciais majoritários das principais espécies de eucalipto relatados por Vieira, (2004).

Espécie	Componente principal		Rendimento (%)
	Nome	Teor (%)	
Óleos medicinais			
<i>E. camadulensis</i>	Cineol	80-90	0,3 a 2,8
<i>E. cneorifolia</i>	Cineol	40-90	2,0
<i>E. dives</i>	Cineol	60-75	3,0 a 6,0
<i>E. dumosa</i>	Cineol	33-70	1,0 a 2,0
<i>E. elaeophara</i>	Cineol	60-80	1,5 a 2,5
<i>E. globulus</i>	Cineol	60-85	0,7 a 2,4
<i>E. lecoxylon</i>	Cineol	65-75	0,8 a 2,5
<i>E. polybractea</i>	Cineol	60-93	0,7 a 5,0
<i>E. radiata</i>	Cineol	65-75	2,5 a 3,5
<i>E. sideroxylon</i>	Cineol	60-75	0,5 a 2,5
<i>E. smithii</i>	Cineol	70-80	1,0 a 2,2
<i>E. tereticornis</i>	Cineol	45	0,9 a 1,0
<i>E. viridis</i>	Cineol	70-80	1,0 a 1,5
Óleos industriais			
<i>E. dives</i>	Felandreno	20-40	1,5 a 5,0
<i>E. dives</i>	Piperitinol	40-56	3,0 a 6,5
<i>E. Elata</i>	Piperitona	40-55	2,5 a 5,0
<i>E. radiata</i>	Felandreno	35-40	3,0 a 4,5
Óleos para perfumaria			
<i>E. citriodora</i>	Citronelal	65-80	0,5 a 2,0
<i>E. macarthurii</i>	Ácido de geraniol	60-70	0,2 a 1,0
<i>E. staigerana</i>	Citral (a + b)	16-40	1,2 a 1,5

O óleo essencial de eucalipto pode sofrer variações no seu rendimento e na sua composição química devido à influência de diversos fatores. Dentre estes, pode-se citar como relevantes a genética, as condições ambientais (luz, água, temperatura, solo, tipo de manejo florestal, etc), os fisiológicos (parte utilizada da planta, a idade da planta e da folha, etc), além da técnica de extração e análise de óleo (XAVIER, 1993).

Os óleos essenciais presentes em algumas espécies de *Eucalyptus* (*Myrtaceae*) são sintetizados em estruturas secretoras, em que a secreção é formada em glândulas endógenas que eventualmente se rompem e liberam substâncias na cavidade resultante deste rompimento. Esses óleos podem estar envolvidos nas interações animal-planta, planta-micro-organismos e planta-planta, com a finalidade de sobrevivência ou manutenção da planta, conferindo a ela capacidade de adaptação às condições do meio em que se vive (DORAN, 1991).

O monitoramento dos princípios ativos e o estudo dos fatores envolvidos na variação dos teores destes constituintes são fundamentais nas recomendações de manejo do ambiente, otimizando a produção e a conservação dos compostos químicos do óleo essencial.

3.1.3 *Eucalyptus dives*

A espécie *Eucalyptus dives* é originária da Austrália e foi introduzida no Brasil no final da década de 90 por extrativistas e exploradores da madeira do eucalipto. É uma árvore frondosa e de pequeno porte; as folhas juvenis têm coloração azul esverdeada. A folhagem adulta é espessa, brilhante e amplamente lanceolada. No verão pequenas flores brancas aparecem nas axilas foliares. A Figura 5 demonstra as folhas da espécie de *E. dives*.

Além da madeira ser amplamente utilizada, alguns estudos referentes ao óleo essencial de suas folhas tem sido relatados na literatura; o óleo predominante varia de acordo com a região de extração; o óleo volátil consiste principalmente em piperonal, cineol (eucaliptol) ou timol. É uma planta aromática, antisséptica que tem efeitos antiinflamatórios. Plantas que contêm principalmente piperonal são as mais amplamente usadas. O mentol e timol são utilizados pela indústria principalmente em produtos para higiene oral (CONCEIÇÃO, 2010).



Figura 5 *Eucalyptus dives*
 Fonte: Chest of Books, 2010.

As Figuras 6, 7 e 8 demonstram as estruturas químicas dos principais componentes do OE presente nas folhas da espécie *E. dives*.

O piperonal, também conhecido como heliotropina, é um aldeído aromático em forma de cristais transparentes, possui odor floral comumente descrito como sendo similar ao de baunilha e cereja. É usado como aromatizante e como matéria-prima para perfumes. Ele pode ser obtido pela oxidação do álcool piperonila ou a redução do ácido pipérico (WIKISOURCE, 2010).

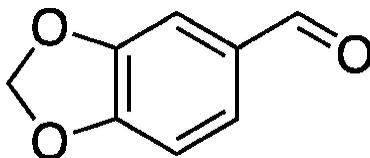


Figura 6 Estrutura química do piperonal.
 Fonte: WIKISOURCE, 2010.

O eucaliptol é um composto orgânico natural, monoterpênóide, em forma de líquido incolor. É um éter cíclico também conhecido por uma variedade de sinônimos como: 1,8-cineol, limoneno óxido cajepitol, 1,8-óxido-p menthane (WIKISOURCE, 2010).

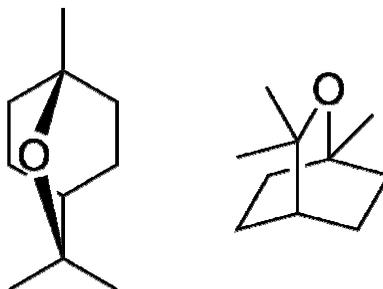


Figura 7 Estrutura química do eucaliptol em 2 diferentes arranjos estruturais

Fonte: WIKISOURCE, 2010.

O timol (*2-isopropil-5-metilfenol*) é uma substância cristalina incolor com cheiro característico que pertence ao grupo dos terpenos. Como todo o fenol, em geral, se dissolve em bases formando um sal correspondente. Um de seus isômeros é o carvacrol. Através de hidrogenação, produz a mistura racêmica de (+/-) mentol.

O timol caracteriza-se por seu poder desinfetante e fungicida. Por seu sabor agradável está presente à formulação de diversos enxaguantes bucais, pastas de dentes, etc (WIKISOURCE, 2010).

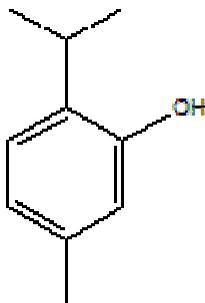


Figura 8 Estrutura química do timol

Fonte: WIKISOURCE, 2010.

3.2 Atividade antioxidante

Uma substância antioxidante pode ser definida como um composto ou substância química que inibe a oxidação ou qualquer substância que, quando presente em baixa concentração comparada a do

substrato oxidável, pode retardar ou inibir significativamente a oxidação do mesmo (ATOUI et al. 2005).

Os antioxidantes podem ser de origem sintética ou natural. A importância de antioxidantes naturais tem sido demonstrada por estudos que comprovam que o consumo de alimentos ricos nesses compostos tem efeito benéfico na saúde humana, embora as substâncias sintéticas sejam mais baratas, de fácil obtenção e de qualidade homogênea (DORMAN et al. 2003). No entanto, a utilização de antioxidantes sintéticos é restrita em vários países devido aos seus possíveis efeitos indesejáveis na saúde humana, fazendo com que haja grande interesse na obtenção e utilização de antioxidantes de fontes naturais (HRAS et al. 2000).

Quando adicionados a alimentos, os antioxidantes minimizam a rancidez, retardam a formação de produtos de oxidação tóxicos, mantêm a qualidade nutricional e aumentam a vida de prateleira (FUKOMOTO; MAZZA, 2000).

Os antioxidantes são compostos que contém diferentes grupos químicos e tem diferentes estruturas e propriedades. Para extrair e manipular essas substâncias complexas, um solvente capaz de extrair diferentes grupos de substâncias é necessário. O CO₂ supercrítico parece ser o solvente ideal neste campo devido às condições de temperatura suaves empregadas no estágio da extração. Além disso, o processamento com o CO₂ cria um meio sem oxigênio, de modo que as reações indesejáveis da oxidação podem ser evitadas (CORTESEI et al. 1995).

Antioxidantes naturais extraídos de plantas podem ser utilizados como alternativa aos antioxidantes sintéticos, devido a seu efeito equivalente ou maior na inibição da oxidação lipídica. (BANDONIENE; MURKOVIC, 2002). Os antioxidantes naturais podem funcionar como agentes redutores, inibidores de radicais livres, quelantes e sequestrantes de oxigênio (GÓMEZ, 2003). Esses compostos incluem flavonóides, ácidos fenólicos, terpenos, tocoferóis, fosfolipídios, ácidos orgânicos polifuncionais e também extratos de plantas (RIBEIRO, 2007). Os extratos que contém essas substâncias são ricos em compostos fenólicos e são conhecidos por suas propriedades antioxidantes, antiinflamatórias, anticarcinogênicas e antimicrobianas (HRAS et al. 2000).

3.2.1 Compostos fenólicos

Os compostos fenólicos são comumente encontrados em plantas comestíveis e não comestíveis e estes tem sido reportados por apresentarem múltiplos efeitos biológicos, incluindo atividade

antioxidante (KAUR; KAPOOR, 2001). As propriedades antioxidantes dos fenólicos são devidas principalmente às suas propriedades redutoras, que permitem que ajam como agentes redutores, doadores de hidrogênio e queladores do oxigênio.

Os compostos fenólicos são originados do metabolismo secundário das plantas, sendo essenciais para o seu crescimento e reprodução. Além disso, se formam em condições de estresse como, infecções, fermentos, radiações UV, dentre outros. Esses compostos encontram-se largamente em plantas e são um grupo muito diversificado de fitoquímicos derivados de fenilalanina e tirosina. Os fenólicos, em plantas, são essenciais no crescimento e reprodução dos vegetais, além de atuarem como agentes antipatogênicos e contribuírem na pigmentação. Em alimentos, são responsáveis pela cor, adstringência, aroma e estabilidade oxidativa (NACZK; SHAHIDI, 2004).

Os fenólicos são definidos como substâncias que possuem anel aromático com um ou mais substituintes hidroxílicos, incluindo seus grupos funcionais. Possuem estrutura variável e com isso, são multifuncionais. Existem cerca de cinco mil fenóis, dentre eles, destacam-se os flavonóides, ácidos fenólicos, fenóis simples, cumarinas, taninos, ligninas e tocoferóis (SHAHIDI; NACZK, 1995).

3.2.2 Peroxidase em vegetais

A peroxidase é uma importante enzima existente em plantas e que está envolvida em diversas reações, ligações de polissacarídeos, oxidação do ácido indol 3 acético, ligações de monômeros, lignificação, oxidação de fenóis, defesa de patógenos, regulação da elongação de células e outros (CAMPOS et al. 2003).

As plantas contêm um número relativamente elevado de isoenzimas de peroxidase localizadas principalmente nas paredes celulares, chamadas de peroxidases aniônicas. Elas catalisam a oxidação do substrato utilizando o poder antioxidante do H_2O_2 ou de peróxidos orgânicos; o substrato é geralmente um composto aromático como os compostos fenólicos. As isoenzimas diferem em sua afinidade por distintos substratos, porque sua especificidade não é absoluta (CAMPOS et al. 2003).

A importância fisiológica da peroxidase nas reações enzimáticas em que a mesma se envolve no metabolismo da planta tem sido amplamente estudada, sendo que esta enzima pode ainda causar mudanças indesejáveis no aroma, gosto, cor, textura e também a perda de nutrientes em alimentos (MACIEL; GOUVÊA; PASTORE, 2007).

3.3 Métodos de extração

Vários métodos de extração de óleos essenciais são encontrados em bibliografias da área. Conforme o método empregado para extração de um óleo essencial, suas características químicas podem ser alteradas. O calor e a pressão utilizados no ato da extração podem, por exemplo, interferir na qualidade final do óleo essencial, pois no momento da extração as moléculas de um princípio ativo podem ser quebradas e oxidadas em produtos de menor eficácia, ou, às vezes, até tóxico (QUÍMICA ESSENCIAL, 2010).

Usando diferentes técnicas extrativas é possível obter uma grande variedade de produtos a partir de plantas medicinais e aromáticas. Segundo Busatto (2006), três processos merecem atenção especial no que se refere à obtenção de óleos em níveis laboratoriais: hidrodestilação, extração com solvente orgânico e com fluídos supercríticos. Geralmente, em indústrias, as essências são extraídas por arraste a vapor, e em escala laboratorial, por hidrodestilação das plantas ou parte das plantas (folhas, flores, sementes ou raízes). A extração com CO₂ supercrítico é uma técnica em ascensão, amplamente estudada, que utiliza o poder solvente do CO₂ em temperatura e pressão nas vizinhanças do ponto crítico, tendo este um alto poder de extração sem a manutenção de resíduos no extrato.

3.3.1 Hidrodestilação

A extração por hidrodestilação é realizada através do método Clevenger, onde a matriz é imersa em água destilada e o processo é realizado à temperatura de ebulição da mistura. O aquecimento até 100°C provoca formação de vapor que arrasta os compostos mais voláteis. A mistura de vapor e soluto passa por um condensador e, após a condensação, os compostos solúveis separam-se da água por decantação. Trata-se de um processo barato que possui inconvenientes devido a alta temperatura empregada, proporcionando possíveis perdas de compostos termolábeis, reduzindo a qualidade do produto (MARTÍNEZ et al. 2004; ROSA; MEIRELES, 2005; apud MEZZOMO, 2008), além de outros problemas operacionais como a formação de emulsões o que torna necessária a remoção residual da água (MEZZOMO, 2008).

3.3.2 Extração com solventes orgânicos

As extrações com solventes orgânicos podem utilizar uma ampla variedade de solventes com polaridades distintas como: álcoois 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).

Óleos vegetais obtidos em escala laboratorial são produzidos tradicionalmente através da extração Soxhlet. O processo em geral produz altos rendimentos, mas o principal problema é a necessidade de eliminação do solvente após a extração. A possível degradação térmica do óleo, a eliminação incompleta do solvente, se tratar de um processo lento e a baixa seletividade são as principais desvantagens deste procedimento (REVERCHON; ADAMI; CAPUTO, 2006).

3.3.3 Extração supercrítica

O isolamento de substâncias a partir de produtos naturais é objeto de inúmeras pesquisas. Muitas tecnologias analíticas inovadoras no processo de extração têm sido apresentadas a fim de superar as limitações deste isolamento. Uma técnica que vem sendo estudada nas últimas décadas e aplicada para a obtenção destes produtos é a utilização de fluídos supercríticos para a extração, separação e concentração de produtos naturais e componentes bioativos.

A temperatura crítica de um gás é aquela temperatura acima da qual ele não pode mais ser liquefeito, não importando o quanto se eleve a sua pressão. A pressão crítica é definida como a pressão de vapor correspondente a temperatura crítica. Estes valores de temperatura e pressão definem um ponto crítico que é único para uma determinada substância (CALAME; STEINER, 1982; RIZVI, 1994; MUKHOPADHYAY, 2000).

O processo de extração de compostos com gás a partir de matrizes sólidas consiste em duas etapas: a extração e a separação do extrato do solvente. Na extração, o fluxo do fluído supercrítico solvente, através de um leito fixo de partículas sólidas, dissolve os componentes extraídos do sólido. O solvente é alimentado no extrator e uniformemente distribuído na entrada do leito fixo. A mistura é carregada é removida do extrator sendo alimentado no precipitador. A direção do fluxo do solvente supercrítico através do leito fixo pode ser para cima ou para baixo, sendo que a influência da gravidade é

desprezível. A forma do leito fixo também pode ser uma questão de consideração do projeto. A altura e o diâmetro dos leitos fixos, cilindros em forma de camadas de material sólido, e a combinação de extratores e precipitadores podem ser algumas variações possíveis (BRUNNER, 1994).

O material sólido esgotará a partir do material extraído na direção do fluxo. A concentração de extrato de componentes aumenta na direção do fluxo no solvente supercrítico e no material sólido. A forma o sistema operativo dependem das condições de funcionamento, das propriedades cinéticas de extração do material sólido e do poder de solubilidade do solvente supercrítico (BRUNNER, 1994).

O transporte de substâncias pode ocorrer dentro de um sólido através das fronteiras de uma estrutura (estrutura do material vegetal) que difere de substrato para substrato. Um mesmo material de um mesmo tipo de planta é diferente do período de colheita para período de colheita de acordo com as condições e o tratamento pós-colheita, com sua idade e do tratamento antes da extração. Essas influências se referem apenas à estrutura primária. Além disso, o material sólido pode ser composto por partículas de diferentes tamanhos e formas e a distribuição do tamanho das partículas pode variar conforme as condições em que o mesmo foi submetido (BRUNNER, 1994).

A Figura 9 demonstra o esquema de funcionamento de uma planta de extração supercrítica.

A alta seletividade da etapa de separação é conseguida variando-se as condições de temperatura e pressão do sistema, sendo que é possível extrair maiores quantidades de produtos desejáveis em alta pureza para uma determinada aplicação (SCHNEIDER, 1983).

A ESC é um processo livre de resíduos tóxicos, que previne a degradação térmica dos extratos quando utiliza baixas temperaturas, e não requer grandes gastos com energia (devido à pressurização do solvente). Além disso, conserva as características sensoriais do produto (MENACKER et al, 2004). Outra vantagem da ESC é a possibilidade de fácil recuperação do solvente supercrítico após o processo de extração, apenas pelo ajuste de pressão e/ou temperatura, podendo o mesmo ser continuamente reciclado, eliminando o grande problema de dos processos convencionais de extração, que é a separação entre o produto extraído e solvente empregado.

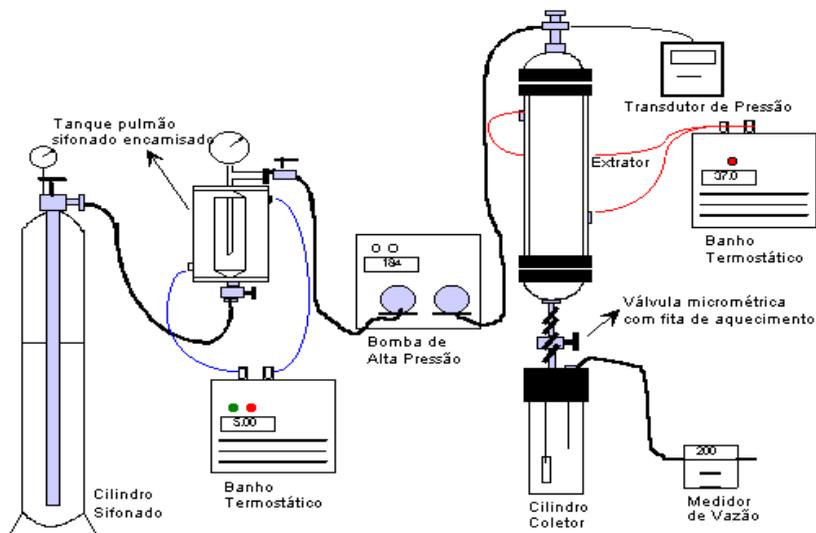


Figura 9 Esquema de um módulo de ESC
 Fonte: COELHO; OLIVEIRA; PINTO, 1997.

Os principais parâmetros da ESC são a vazão do solvente, tamanho da 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 (REVERCHON et al. 2006). É uma técnica que consiste em utilizar fluídos com valores de massa específica próximos aos dos líquidos, associados à difusividade intermediária entre gases e líquidos e viscosidades baixas (BRUNNER, 2004), fazendo com que as taxas de extração e rendimento do extrato sejam altos devido ao aumento do poder de penetração do gás na matriz sólida, devido a sua baixa viscosidade e ao grande poder de solvatação por causa dos altos valores de massa específica.

A escolha do solvente a ser utilizado na ESC é fundamental para o bom desempenho do processo, pois o mesmo deve possuir bom poder de solvatação, ser inerte e facilmente separado do produto, ser relativamente barato, ter pressão e temperatura críticas amenas por razões econômicas e de qualidade. Além disso, para ser empregado na indústria de alimentos deve ser atóxico, não carcinogênico, não inflamável, seguro ao meio ambiente e disponível (REVERCHON; ADAMI, CAPUTO, 2006).

3.3.3.1 CO₂ supercrítico

O CO₂ é um solvente atrativo para aplicação em alimentos. Ele é completamente miscível com hidrocarbonetos de baixo peso molecular e compostos orgânicos oxigenados, possui alta volatilidade se comparado aos compostos orgânicos, facilitando a recuperação do produto, boas propriedades de transporte, como baixa viscosidade e alto coeficiente de difusão, baixo gasto de energia para separação soluto-solvente, e suas propriedades de solvatação no estado supercrítico são melhores do que no estado líquido, solubilizando assim um maior número de compostos (FILIPPI, 1982). Ele é facilmente disponível em alta pureza, barato e apresenta temperatura e pressão críticas relativamente baixas ($T_c = 31,1^\circ\text{C}$ e $P_c = 73,8 \text{ bar}$), conforme mostra a Figura 10 (BRUNNER, 1994).

Em valores de pressão próximos ao de pressão crítica, com o aumento da temperatura, o fluido apresenta valores de difusividade semelhantes ao do gás. Quando comparada com a do fluido no estado líquido apresenta uma capacidade de transporte de massa de 10-100 vezes maior (SCHNEIDER, 1983).

A viscosidade do CO₂ próximo à região crítica possui valores típicos dos gases, até mesmo nas zonas de altas pressões entre 300-400 bar sua viscosidade apresenta valores inferiores aos dos solventes orgânicos líquidos.

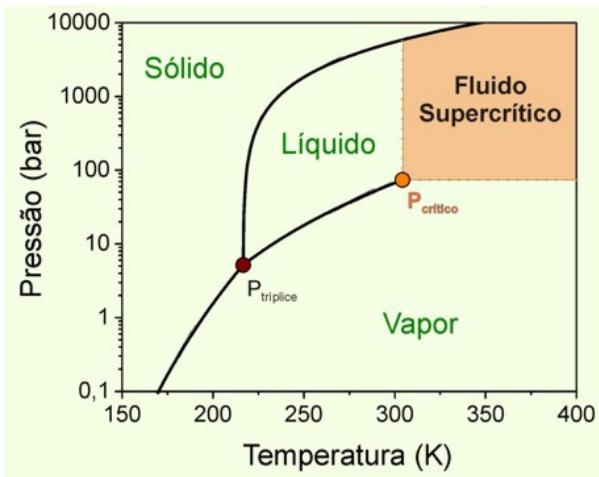


Figura 10 Diagrama de fase pressão-temperatura (PT) para CO₂

O aumento da temperatura acarreta uma diminuição da viscosidade que quando aliada às características de difusividade e ainda de tensão superficial do gás, proporcionam ao solvente uma alta capacidade de penetração em micro poros, o que implica em um aumento muito expressivo nas taxas de transferências de massas (MOYLER, 1993).

3.3.3.2 Curva de extração

As curvas de extração são divididas em três partes:

1. Etapa 1: taxa de extração constante (CER): onde a superfície externa das partículas está completamente coberta em óleo, devido à transferência de massa por convecção na fase fluída.
2. Etapa 2: taxa de extração decrescente (FER): onde começam as falhas na camada superficial do óleo que cobre as partículas, devido aos efeitos convectivos na fase fluída e os difusionais na fase sólida.
3. Etapa 3: taxa de extração controlada pela difusão no sólido: predomínio do fenômeno difusional.



Figura 11 Curva típica de extração segundo Brunner (1994).

A curva da Figura 11 é demonstrativa dos processos onde o sólido possui uma alta concentração inicial de extrato. Durante a primeira parte da extração (CER), as partículas da matriz sólida se encontram completamente envoltas por uma camada superficial de óleo, devido à ruptura das paredes celulares com a trituração, fazendo com que a extração seja caracterizada pela transferência de massa por convecção (BRUNNER, 1994).

A Etapa FER é resultado de processos onde a concentração inicial de soluto na matriz sólida é baixa ou o soluto está inacessível ao solvente (BRUNNER, 1994). Dessa maneira, o processo difusional começa a controlar a transferência de massa, pois o solvente encontra espaços livres para penetração na matriz sólida, solubilização do soluto, e posterior difusão da mistura óleo-solvente para a superfície da partícula. Em ambos os casos, a resistência interna à transferência de massa é dominante desde o início do processo (SOVOVÁ, 1994).

A Etapa 3 é a de taxa quase nula de extração. Nesta etapa a inclinação da curva diminui e o traçado se aproxima assintoticamente do valor que representa o conteúdo teórico de óleo extraível (SOVOVÁ, 1994).

3.3.3.3 Rendimento

A quantidade percentual de material extraível por ESC de uma determinada matéria-prima, ou rendimento global, será denominado X_0 , e calculada conforme a Equação 3.1.

$$X_0 = \left(m_{\text{sóluto}} / m_{\text{matéria-prima}} \right) \times 100 \quad \text{Eq 3.1}$$

Onde X_0 é o rendimento global de extração, $m_{\text{sóluto}}$, é a massa de extrato obtida após o processo de extração, $m_{\text{matéria-prima}}$ é a massa de amostra utilizada no processo.

O valor de X_0 , no entanto, não depende apenas das características da matéria-prima, mas também da forma com que os compostos nela presentes interagem com o solvente. Isto significa que as propriedades do solvente também influem no valor de X_0 . Entre estas propriedades está a densidade do solvente, que afeta diretamente o seu poder de solvatação (MARTÍNEZ, 2005).

3.4 Modelagem matemática

A modelagem matemática de curvas globais de ESC tem sido empregada por vários autores com o objetivo de reproduzir dados experimentais existentes, e a partir deles ajustar parâmetros com os quais se possam simular processos de extração em outras escalas e condições operacionais. Sendo assim, a modelagem matemática de dados experimentais de ESC consiste numa ferramenta muito útil, uma vez que tem como principal objetivo a determinação de parâmetros para *design* de processo, tais como dimensões de equipamentos, vazão de solvente e tamanho de partícula (MARTÍNEZ et al. 2003). Existem na literatura modelos empíricos baseados no formato das curvas de extração experimentais, mas a maioria dos modelos parte do balanço de massa do processo (MARTÍNEZ, 2005). Alguns dos modelos matemáticos de curvas de ESC estão apresentados a seguir.

3.4.1 Modelo de Sovová (1994)

Neste modelo a transferência de massa interfacial ocorre de formas diferentes, dependendo da disponibilidade ou não de soluto de fácil acesso ao solvente. A modelagem é feita para a transferência de massa no processo de extração de óleos com fluído supercrítico, onde é assumida a existência de dois períodos no processo de extração: no primeiro o óleo de fácil acesso é removido a uma taxa constante, e no segundo a resistência interna à transferência de massa controla o processo, correspondendo a extração do óleo de difícil acesso, presente no interior da matriz sólida.

O modelo de Sovová (1994) emprega o coeficiente de transferência de massa na fase fluída para descrever o período de taxa de extração constante (CER) considerando que o soluto de fácil acesso (X_p), disponível na superfície das partículas sólidas vai se esgotando ao longo do leito, o coeficiente de transferência de massa na fase sólida para descrever a etapa na qual a resistência à transferência de massa é dominada pela difusão aonde o soluto de fácil acesso vai se esgotando ao longo do leito iniciando a extração de soluto de difícil acesso (X_K) na etapa (FER) e, na última etapa, quando os solutos de difícil, presentes no interior das partículas sólidas, são retirados a etapa é controlada pela resistência interna à transferência de massa, sendo chamada de etapa difusional. As seguintes equações descrevem as etapas do processo.

- Período de taxa constante de extração (CER), onde $t < t_{CER}$

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

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

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

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

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

Eq 3.4

Onde m_{ext} é a massa de extrato, t_{CER} é a duração da etapa de extração constante, N é a massa de matéria-prima livre de soluto, Y^* é a solubilidade, Q_{CO_2} é a vazão média do solvente, X_0 é a razão mássica inicial de soluto na fase sólida, X_k é a razão mássica de soluto no interior de células intactas e W é um parâmetro para o período de taxa de extração lenta.

3.4.2 Modelo de Martínez et al. (2003)

O modelo de Martínez et al. (2003) considera que para o processo de extração, deve ser levado em conta a variação da composição do extrato ao longo da extração, de forma que se possa otimizar o processo para a obtenção dos compostos de interesse. O modelo é relativo a sistemas multicomponentes e pode ser aplicado considerando o extrato como um pseudocomponente ou uma mistura de substâncias ou grupos de componentes com estrutura química similar. Segundo os autores, a aplicação do modelo considera o óleo como um único componente e também como uma mistura complexa de compostos.

O modelo logístico considera o balanço de massa na fase sólida e na fase fluida, dentro do leito de extração. O acúmulo e a dispersão na fase fluida são negligenciados, pois se assume que ambos os efeitos não

têm influência significativa no processo quando comparados à convecção. O termo de transferência de massa interfacial é representado por uma das soluções da equação logística (MARTÍNEZ et al. 2003).

Neste modelo, quando o tempo tende ao infinito, a massa de extrato tende a um valor fixo, assintoticamente. Este valor fixo pode ser considerado como o total de massa extraível, para determinadas condições operacionais de processo, sendo a expressão do modelo direcionada para um pseudocomponente apenas. (MARTÍNEZ et al. 2003; MARTÍNEZ, 2005).

O Modelo Logístico LM aplicado às curvas de extração resulta na Equação 3.5.

$$m_{ext}(h = H, t) = \frac{m_0}{\exp(bt_m)} \left\{ 1 + \frac{\exp(bt_m)}{1} + \exp[b(tm - t)] - 1 \right\}$$

Eq 3.5

Sendo m_0 a massa total de extrato disponível no sólido, m_{ext} é a massa do óleo extraída, t é o tempo de extração, b e t_m são parâmetros ajustáveis do modelo e t_m corresponde ao instante em que a taxa de extração de cada grupo de compostos ou um único pseudocomposto alcançou seu máximo valor (MARTÍNEZ et al. 2003).

3.4.3 Modelo da Segunda Lei de Fick adaptado por Crank (1975)

O Modelo da Segunda Lei de Fick adaptado por Crank (1975) considera a transferência de massa como uma analogia à transferência de calor, onde cada partícula sólida (corpo sólido que contém o óleo a ser extraído) é como um corpo quente que perde calor para o meio (solvente supercrítico) com o tempo e as substâncias a serem extraídas encontra-se uniformemente distribuídas na partícula sólida (REVERCHON, 1997).

A equação é obtida através da análise do balanço de massa na superfície interna da partícula e baseada na Segunda Lei de Fick para a difusão (Equação 3.6).

$$\frac{\partial C}{\partial t} = D \frac{\partial^2 C}{\partial x^2}$$

Eq 3.6

Onde o coeficiente de difusão não depende da composição. C é a concentração nas dimensões de uma quantidade de substância, t é o tempo, D é o coeficiente de difusão nas dimensões, e x é a posição.

A Segunda Lei de Fick considera o fluxo de massa proporcional ao gradiente de concentração dentro do sólido. Crank (1975) propôs uma solução analítica para a Lei de Fick, considerando distribuição de umidade inicial uniforme e ausência de qualquer resistência térmica.

A representação da difusão da massa de uma substância através de uma partícula é obtida por Crank através de correlações e demonstrada conforme a Equação 3.7:

$$m_{\text{ext}} = m_0 \left[1 - \frac{6}{\pi^2} \sum_{n=1}^{\infty} \frac{1}{n^2} \exp\left(\frac{-n^2 \pi^2 D \cdot t}{r^2}\right) \right] \quad \text{Eq 3.7}$$

Onde: m_{ext} é a massa do extrato, m_0 é a massa inicial do soluto, t é o tempo, D é igual a D_{ef} que corresponde ao coeficiente de difusão, r é o raio da partícula sólida e n é um número inteiro.

3.5 Viabilidade econômica da implementação do processo

O Brasil possui a maior biodiversidade de espécies de plantas conhecidas do mundo (entre 55.000-350.000 espécies), sendo que o país é reconhecidamente competente e possui tradição na produção agrícola, agregando qualidade e custo em quantidade suficiente para a demanda de produção, além de possuir inúmeros estudos de processos com ESC para a obtenção de extratos oriundos de produtos naturais. Porém, nenhuma unidade operacional de ESC em escala industrial funciona no país (ROSA; MEIRELES, 2005).

Devido ao potencial uso do extrato de eucalipto em diversas formulações cosméticas, farmacêuticas e de alimentos e ao fato de que as condições de processo devem satisfazer tanto aspectos de qualidade quanto econômicos, a influência das condições operacionais sobre o custo de manufatura do extrato e sobre o retorno financeiro do investimento tem em seu conhecimento fundamental importância.

Apesar de a ESC ser um processo viável para a obtenção de uma série de extratos de qualidade, o investimento inicial para a implementação desse processo é considerado extremamente caro devido aos equipamentos que operam a altas pressões. O desenvolvimento de

equipamentos em escala industrial traz como consequência a diminuição considerável dos custos de viabilização deste tipo de projeto (ROSA; MEIRELES, 2005).

Na extração de material sólido, os processos tipicamente operam em batelada e algumas considerações devem ser feitas. Nestes processos, a unidade deve ser carregada, descarregada, limpa e todas essas etapas têm um impacto na taxa de produção.

No Brasil, o estudo realizado por Rosa e Meireles (2005) apresentou uma metodologia simplificada para determinar os custos de manufatura de extratos obtidos por tecnologia supercrítica. Os autores basearam-se na metodologia descrita por Turton et al (1998). O ponto de partida para os cálculos foi o custo de uma unidade de extração de tamanho e configuração padrão, isto é, comumente utilizada na indústria para o processamento de ervas, condimentos, pigmentos naturais, dentre outros. O critério de ampliação de escala utilizado foi baseado na hipótese de que o desempenho da unidade industrial é o mesmo da unidade de laboratório, se forem mantidos constantes o tamanho de partículas, a densidade do leito e a relação entre a massa da matriz sólida e a vazão de CO₂. O custo estimado pela metodologia é o custo de manufatura e não o custo de venda do produto.

4. MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi executado em quatro etapas. 1) Coleta, identificação e preparo da matéria-prima; 2) Obtenção do óleo essencial; 3) Estudo das cinéticas de extração e viabilidade econômica do processo e 4) Caracterização do extrato obtido.

4.1 Coleta, identificação e preparo da matéria-prima

4.1.1 Coleta

As folhas de eucalipto foram coletadas em uma área de reflorestamento da região norte do estado do Rio Grande do Sul, Brasil, nos meses de fevereiro e março de 2009, devidamente separadas dos galhos e flores e armazenadas em sacos plásticos.

4.1.2 Identificação da espécie de eucalipto

A espécie de eucalipto coletado foi identificada de acordo com os procedimentos do Instituto de Botânica do Departamento de Botânica da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM).

Dois ramos com galhos, flores, frutos e folhas de eucalipto foram submetidos ao processo de secagem a temperatura ambiente em local seco, por 24 horas, e depois de envoltos por folhas de jornal seco foram submetidas ao Departamento para técnicas de comparação entre ramificações da família *Myrtaceae* para identificação da espécie.

4.1.3 Preparo

O preparo da matéria-prima foi realizado no Laboratório de Termodinâmica e Extração Supercrítica (LATESEC) da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC). As folhas foram preparadas com o objetivo de se obter uma maior exposição do soluto ao solvente de acordo com os seguintes procedimentos:

4.1.3.1 Secagem

A secagem da matéria-prima foi efetuada de acordo com o seguinte procedimento:

- Secagem em estufa de circulação a vácuo (De Leo, Porto Alegre/RS), a 30°C até umidade constante.

Oitenta gramas de folhas de Eucalipto foram depositadas em formas metálicas de modo que tivesse todo o seu leito superior disponível para contato com o ar quente de circulação. Após a passagem de uma hora, as folhas eram viradas do lado contrário. As folhas secas são mostradas na Figura 12.



Figura 12 Folhas de eucalipto após a secagem

4.1.3.2 Moagem

A moagem da matéria-prima foi efetuada de acordo com o seguinte procedimento:

- Moagem das folhas em moinho de facas (De Leo, Porto Alegre/RS), seguido de peneiramento em agitador de peneiras (Bertel Indústria Metalúrgica Ltda, Caieiras/SP). A granulometria utilizada para os experimentos foi de -16 a +80 *mesh*.
- Os tamanhos de partículas avaliados, obtidos das peneiras do equipamento utilizado, foram de (180; 212; 300; 500) (mm/ μ m) e todos os tamanhos obtidos misturados em proporções iguais, sendo esta mistura chamada de (all), também mensurada em (mm/ μ m).

As folhas moídas são mostradas na Figura 13.

4.1.3.3 Congelamento

O congelamento da matéria-prima foi realizado de acordo com o seguinte procedimento:

- Congelamento em freezer (Brastemp, modelo 260) sob temperatura inferior a -10°C .

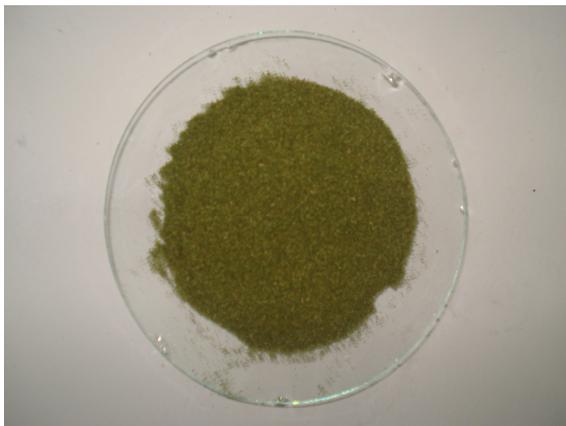


Figura 13 Folhas de eucalipto após a moagem

4.1.3.4 Umidade

Foi determinada a umidade das folhas em estufa a 105°C durante 3 horas de acordo com o método, de Perda por Dessecação (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 1985).

Cinco gramas de amostra foram medidas por gravimetria em pesa-filtro tarado, previamente aquecido em estufa a 105°C por 1 hora, resfriado em dessecador até temperatura ambiente e pesado. Os pesa-filtros com as amostras foram aquecidos em estufa a 105°C por 3 horas, resfriados em dessecador até a temperatura ambiente e pesados. Essa operação de aquecimento e resfriamento é repetida até peso constante da amostra. Foi realizado procedimento em duplicata. Para o cálculo da umidade a seguinte equação foi empregada:

$$u(\%) = 100 \times N/P \quad \text{Eq 4.1}$$

onde N é a diferença entre o peso inicial e o peso final da amostra e P é o peso inicial da amostra.

4.2 Obtenção do extrato de folhas de eucalipto

Todos os procedimentos de extração para a obtenção do extrato de eucalipto foram realizados no LATESC da UFSC a fim de avaliar o rendimento em cada processo de extração e melhores solventes para a obtenção do óleo essencial de eucalipto.

Os extratos foram organizados de acordo com a Tabela 3.

4.2.1. Hidrodestilação

A extração pelo método de Hidrodestilação foi realizada de acordo com o proposto por Wasicky, (1963), foi realizada em duplicata colocando-se 50 g de amostra de folhas de eucalipto devidamente preparada em balão de 1.000 mL de fundo chato adicionado de 700 mL de água destilada sobre manta de aquecimento (Fisatom, modelo EKX2600) com temperatura de 100°C, conectado a um condensador acoplado a um banho termostático (Microquímica, modelo MQBTZ99-19) com temperatura de 10°C por um período de 6 horas. Após esse período, o óleo foi coletado em frasco de vidro por diferença de densidade e pesado em balança analítica (AS200, OHAUS, Florham Park/NJ) e armazenados em freezer a uma temperatura inferior a -10°C.

Foram realizados ensaios em duplicata com todos os tamanhos de partículas obtidos após o peneiramento das amostras oriundas da moagem, a fim de avaliar possíveis diferenças de rendimento entre as amostras.

O rendimento do óleo extraído foi calculado conforme a Equação 3.2.

4.2.2. Extração com solventes orgânicos

Foram realizados experimentos em duplicata com amostras com todos os tamanhos de partículas misturados em proporções iguais (all)(mm/ μ m), para extração Soxhlet com os seguintes solventes: água, acetato de etila, diclorometano, etanol e hexano de acordo com AOAC (1990).

Cinco gramas de folhas de eucalipto devidamente preparadas e 150 mL de solvente foram colocados dentro de um aparato Soxhlet de 500 mL e mantido sob refluxo por 4 horas. O solvente foi removido através de um evaporador rotatório (Fisatom, modelo 802) acoplado de controlador de vácuo (Nova Técnica, modelo NT 613, Piracicaba/SP) e, em seguida, os frascos foram pesados em balança analítica e

armazenados em freezer a uma temperatura inferior a -10°C . O cálculo de rendimento foi realizado de acordo com a Equação 3.2

4.2.3. Extração supercrítica

A ESC foi aplicada através de uma série de técnicas para obtenção do extrato e análise dos parâmetros que envolvem os fenômenos do processo.

4.2.3.1 Parâmetros da ESC

Os parâmetros que envolvem a ESC são essenciais para a análise da cinética das curvas de extração e foram obtidos conforme os dados que seguem.

4.2.3.1.1 Diâmetro médio de partículas

O diâmetro médio de partículas foi determinado utilizando o cálculo proposto por Gomide (1983), conforme a Equação 4.2.

$$\bar{d}_s = \sqrt{\frac{\sum_1^n \Delta \ell_i / d_i}{\sum \Delta \ell_i / d_i^3}} \quad \text{Eq 4.2}$$

$$\Delta \ell = m_i / M \quad \text{Eq 4.3}$$

Onde, \bar{d}_s é o diâmetro médio superficial das partículas em cm; m_i é a massa de amostra retida na peneira em g; M é a massa total de amostra em g; d_i é o diâmetro médio da peneira em cm; n é o número total de frações.

4.2.3.1.2 Densidade real e aparente

A densidade aparente (ρ_a) do leito de partículas de folhas de eucalipto foi determinada de acordo com a relação entre a massa de amostra utilizada nas extrações pelo volume do leito de extração, conforme cálculos expressos no Apêndice A.

$$\rho_a = \frac{m_{amostra}}{V_{leito}} \quad \text{Eq 4.4}$$

Sendo, ρ_a a densidade aparente em g/cm^3 ; $m_{amostra}$ a quantidade de amostra inicial colocada no leito de extração em g; V_{leito} o volume do leito.

A densidade real (ρ_r) foi determinada através de metodologia específica em Equipamento Micromeritics AccuPyc II 134 gas picnometer em gás hélio do LATESC.

4.2.3.1.3 Densidade do CO_2

A densidade do solvente supercrítico (ρ_{CO_2}) foi calculada através da Equação de Angus; Armstrong; de Reuck, (1976) para cada condição experimental utilizada através de planilha elaborada em Excel.

4.2.3.2 Equipamento de ESC

Foi utilizada a planta de ESC do LATESC, que opera com pressões na faixa de 80-300 bar e vazão de CO_2 na faixa de 0,1-2,0 kg/h. A planta é constituída de um cilindro de CO_2 com tubo pescador (White Martins Ltda.) que alimenta a linha de extração imersa em banho termostático (Thermo Haake, modelo C10-K10) que opera com temperatura inferior a 0°C , bomba (Maximotor, modelo M111 CO_2) alimentada por ar comprimido e filtrado. A pressão impressa no sistema de extração é regulada através de uma válvula V1 (Tecsom Cat 26-1761-24-161). O extrator constitui-se de um cilindro encamisado de aço inox com extremidades rosqueadas de 33,5 cm de comprimento e 2,042 cm de diâmetro interno e volume interno de 100 mL. A temperatura aplicada no sistema de extração é mantida constante através de um banho termostático (Thermo Haake, modelo DC30-B30). As válvulas do sistema encontram-se imersas em banho termostático (Microquímica, modelo MQBTZ99-20) que opera com temperatura na faixa de 60°C . A linha de saída do extrator é conectada a V3 (Sitec Microvalve, modelo 710.3012) e em seguida a V4 (Sitec Shutoff Valve, modelo 710.3010) onde é realizada a medida da vazão de CO_2 . O óleo obtido é coletado em frascos âmbar. As Figuras 14 e 15 apresentam a planta de extração descrita que foi utilizada nos experimentos.



Figura 14 Planta de ESC do LATESC

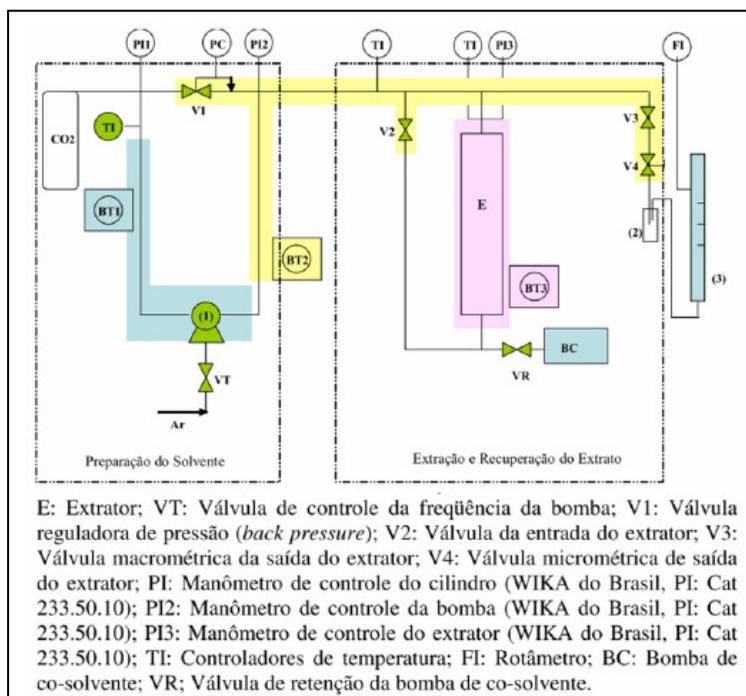


Figura 15 Diagrama do processo de ESC
Fonte: Biscaia (2007)

4.2.3.3 Obtenção do óleo essencial utilizando fluido supercrítico

Foram realizadas extrações em duplicata. Cinco gramas de amostra foram medidas por gravimetria com o objetivo de formar uma altura no leito com pelo menos o dobro do diâmetro do extrator, com todos os tamanhos de partículas misturados (all)(mm/ μ m), devidamente preparada, a qual se observou com altura de 5,13 cm no leito de extração. Utilizou-se uma vazão de 0,5 kg/h de CO₂. Após a coleta do óleo, os frascos foram pesados em balança analítica e armazenados em freezer a uma temperatura inferior a -10°C.

O tempo de extração foi obtido mediante teste preliminar. Foi realizada extração na condição experimental de 150 bar e 30°C, onde se observou a Curva de Cinética de Extração (Rendimento x Tempo). O tempo foi definido a partir da estabilização da etapa difusional da curva (Apêndice A).

O rendimento global de extração foi obtido através dos experimentos onde foram consideradas as condições experimentais de interesse para o estudo, de acordo o planejamento experimental mostrado na Tabela 2.

Foram realizados procedimentos em duplicata para cada condição experimental, realizando um planejamento experimental 2² com ponto central, a fim de avaliar o rendimento, obtido a partir da Equação 3.2.

Tabela 2 Condições experimentais testadas no procedimento de ESC

Variáveis codificadas de P	Variáveis codificadas de T	Pressão (bar)	Temperatura (°C)
-1	-1	150	30
+1	-1	250	30
0	0	200	40
-1	+1	150	50
+1	+1	250	50

As curvas de cinética de extração foram realizadas para todas as condições experimentais do planejamento a fim de avaliar o melhor ajuste dos parâmetros de processo para cada uma delas.

Para cada condição a coleta do soluto extraído foi realizada em intervalos de tempo pré-determinados, sendo o extrato pesado em balança analítica, de forma a determinar a massa de óleo obtida em função do tempo de experimento. A massa de extrato retida na linha do

extrator foi recuperada mediante solução na passagem de álcool etílico pela mesma e após, separada do mesmo e pesada juntamente com a massa de extrato obtida no frasco âmbar.

A Tabela 3 apresenta um resumo dos experimentos realizados para a obtenção de óleo essencial de folhas de eucalipto através das técnicas apresentadas.

Tabela 3 Resumo dos extratos obtidos através dos métodos aplicados

Extr.	Procedimento	Condição de obtenção
1	Hidrodestilação	-
2	Soxhlet	Acetato de etila
3	Soxhlet	Água
4	Soxhlet	Diclorometano
5	Soxhlet	Etanol
6	Soxhlet	Hexano
7	ESC	150-30
8	ESC	150-50
9	ESC	200-40
10	ESC	250-30
11	ESC	250-50

4.3 Estudo das cinéticas de extração e viabilidade econômica do processo

4.3.1 Estudo das cinéticas de extração

A modelagem matemática das curvas de extração foi realizada a fim de avaliar cada modelo no melhor ajuste as curvas experimentais de ESC de óleo de folhas de eucalipto.

Foram utilizados os Modelos propostos por Sovová (1994), Martínez et al. (2003) e da Segunda Lei de Fick adaptado por Crank (1975) adaptado por Reverchon (1997). Os parâmetros de processo necessários para a aplicação dos modelos propostos foram determinados experimentalmente ou estimados com base na literatura disponível.

Na aplicação dos modelos o parâmetro X_0 foi considerado como dado experimental característico da condição operacional da curva a ser modelada, sendo definido como 10 % superior ao valor final de rendimento global (em termos de massa de extrato/massa de substrato, g/g) obtido para o respectivo experimento, conforme descrito por Martínez (2005).

Foi utilizado o programa computacional Fortran para a modelagem realizada com os Modelos de Sovová (1994) e Martínez et al. (2003) para a obtenção dos dados modelados e parâmetros ajustados. A obtenção de dados e valores de parâmetros ajustados para o Modelo da Segunda Lei de Fick adaptado por Crank (1975) foi feita utilizando o programa computacional *Mass Transfer* desenvolvido por Correia et al. (2006).

4.3.2 Viabilidade econômica do processo

A estimativa de custos da ESC do óleo de eucalipto foi realizada com o auxílio do *software Tecanalysis* (ROSA; MEIRELES, 2005), desenvolvido pelo Laboratório de Separações Físicas (LASEFI) do Departamento de Engenharia de Alimentos (DEA) da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP). O cálculo do custo de manufatura é realizado de acordo com os parâmetros exigidos pelo *software* com os respectivos valores baseados nos resultados obtidos nesse trabalho e em dados existentes na literatura.

4.4 Caracterização do extrato

Para a avaliação do potencial químico e biológico dos extratos de eucalipto obtidos foram empregadas técnicas para avaliação de sua atividade antioxidante e aplicação como inibidor de reação enzimática indesejável em alimentos.

4.4.1 Atividade Antioxidante (AA)

Para a determinação da Atividade Antioxidante (AA) dos extratos, os mesmos foram submetidos a análises de acordo com a metodologia de determinação do radical DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl), no LATESC da UFSC.

O experimento foi constituído da incubação por 30 minutos a 37°C do extrato em uma solução etanólica de DPPH na concentração de 0,3 nM, com posterior leitura de absorbância em 517 nm, de acordo com Mensor (2001).

A solução estoque da amostra (1,0 mg/mL) foi diluída em concentrações de 250 e 125 mL de ácido gálico (AG). O percentual de inibição da amostra testada sobre os radicais DPPH foi calculado através da conversão em porcentagem de Atividade Antioxidante (AA) segundo a Equação 4.4. Os experimentos foram realizados em duplicata.

$$AA = 100 - \left[(Abs_{amostra} - Abs_{branco}) \times 100 / Abs_{DPPH} \right] \quad \text{Eq 4.4}$$

Onde AA é a Atividade Antioxidante em %; $Abs_{amostra}$ é a leitura de absorbância realizada para a amostra em nm; Abs_{branco} é a leitura de absorbância realizada para a amostra em branco em nm e Abs_{DPPH} é a leitura de absorbância realizada para a amostra de controle em nm.

4.4.2 Determinação do teor de fenólicos totais

O método foi realizado no LATESC da UFSC de acordo com a metodologia de Folin-Ciocalteu descrito por Peschel et al. (2005), de acordo com os seguintes procedimentos, todos em duplicata:

- Reativo de Folin-Denis: adicionou-se 750 mL de água destilada a uma mistura de 100 g de tungstato de sódio ($Na_2WO_4 \cdot 2H_2O$), 20 g de ácido do fosfomolibdico e 50 mL de ácido ortofosfórico (H_3PO_4). Ferveu-se em refluxo durante 2 horas, esfriou-se e diluiu-se para uma proporção de 1:1;
- Solução saturada de carbono de sódio (Na_2CO_3); adicionou-se 350 g de carbonato de sódio a 1000 mL de água destilada a 80°C. Esfriou-se durante 12 horas. Semeou-se a solução supersaturada de cristais de $Na_2CO_3 \cdot 2H_2O$;
- Solução padrão de ácido tânico: pesou-se 0,1 g de ácido tânico e diluiu-se para 100 mL com água destilada. Transferiu-se uma alíquota de 10 mL para um balão de 100 mL e completou-se o volume com água destilada. Usou-se esta solução para a montagem da curva padrão.

Para a preparação da curva padrão, pipetou-se alíquotas de 1, 2, 4, 6, 8 e 10 mL da solução padrão de ácido tânico para balões de 100 mL contendo 75 mL de água destilada. Adicionou-se 5 mL do reagente Folin-Denis e 10 mL da solução de carbonato de sódio e diluiu-se até a marca dos 100 mL com água destilada. Homogeneizou-se e deixou-se em repouso por 30 min. Filtrou-se e determinou-se a absorbância a 760 nm. As soluções

Construiu-se a curva padrão (absorbância versus concentração de taninos). Para a execução do ensaio, diluiu-se o extrato para 100 mL em balão volumétrico. Pipetou-se 1 mL dessa solução em outro balão de 100 mL. Pipetou-se 5 mL do reagente Folin-Denis e 10 mL da solução saturada de carbonato de sódio. Completou-se o volume com água

destilada, homogeneizou-se e esperou-se 30 min. Fez-se um branco em paralelo. Filtrou-se a amostra e o branco. Efetuou-se a leitura no espectrofotômetro (Spectronic Unicam, modelo Genesys 10 vis, NY/USA) a 760 nm.

Para cálculo da quantidade de fenólicos (em TAE) empregou-se a Equação 4.5

$$\text{Fenólicos Totais} \frac{(g_{TAB})}{(100g_{extrato})} = \frac{\text{leitura (MG/mL)} \times 10}{\text{peso da amostra (g)}} \quad \text{Eq 4.5}$$

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

4.4.3 Teste de inibição de peroxidase em vegetais

O procedimento de inibição da peroxidase iniciou com a higienização das folhas de alface orgânica, provenientes de Antônio Carlos – SC, com água corrente. Dez gramas das folhas foram cortadas, lavadas, trituradas e homogeneizadas, 30 mL de água destilada foi adicionada na homogeneização, a mistura foi filtrada e centrifugada a 10000g por 15 minutos em uma centrífuga para tubos (Quimis – Q222T) e o sobrenadante constituiu a fonte de enzima para o experimento.

A segunda parte foi a preparação do substrato a partir da mistura de 10 mL de guaiacol 1%, com 10 mL de H₂O₂ 0,3% e 100 mL de solução tampão de fosfato de sódio, por fim preparou-se a reação que contém 2,87 mL da mistura do substrato, 0,1 mL da fonte de enzima e 0,03 mL de solução antioxidante MIC 0,13 mL/100 (v/v), 2 X MIC e/ou 4 X MIC, o branco foi feito substituindo a solução antioxidante por água destilada e as análises foram feitas em duplicata. Optou-se por realizar este procedimento utilizando-se a concentração de 4 X MIC, pois na metodologia utilizada esta concentração não foi testada em folhas de alface comum.

A atividade da peroxidase foi determinada utilizando um espectrofotômetro UV-VIS (Femto 800 XI) no comprimento de onda de 470 nm. O resultado foi expresso em porcentagem de peroxidase inibida e esse valor foi comparado com a porcentagem de inibição quando é utilizada uma solução contendo ácido ascórbico (0,017 g/100 g) ao invés do antioxidante proveniente do óleo essencial.

4.5 Análise estatística

Os resultados obtidos quanto ao rendimento e a qualidade dos extratos foram avaliados estatisticamente através de análise de variância (ANOVA) a um nível de significância de 95%.

Os resultados analisados que apresentaram níveis de significância maiores do que 5% foram analisados através do Teste de Tukey para a apuração e quantificação das mesmas.

Gráficos de superfície de resposta, curvas de contorno e equações polinomiais de segunda ordem foram geradas para expressar a dependência das variáveis de resposta (X_0 , polaridade e EC_{50}) em relação aos fatores (P e T) avaliados nos ensaios de rendimento. Em todas as análises o valor de 5 % foi utilizado para o nível de significância ($\alpha = 0,05$), sendo que toda a análise estatística foi realizada através do *software* Statistica versão 6.0 (Statsoft Inc., USA).

As tabelas e gráficos de ANOVA e Teste de Tukey obtidas para os tratamentos estatísticos aplicados estão demonstradas no Apêndice C.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Identificação e preparo da matéria-prima

Os resultados referentes ao preparo da matéria-prima serão apresentados nesta seção.

5.1.1 Identificação da espécie estudada

Após a metodologia aplicada pelo Instituto de Botânica da UFSM, foi identificada a espécie *E. dives*, pertencente ao gênero *Eucalyptus* da família *Myrtaceae* (Anexo I).

Apesar de ter sido difundida no Brasil pelo extrativismo de sua madeira, a espécie *E. dives* é estudada pela composição de seu óleo essencial. Segundo a Tabela 1, algumas espécies foram catalogadas como fonte de óleo medicinal, devido ao seu alto teor de citronelal e outras espécies como fonte de óleo industrial devido aos altos teores de piperitona. O local da plantação e seu respectivo clima, características do solo e ambiente podem influenciar diretamente a composição do óleo essencial de suas folhas.

5.1.2 Secagem da matéria-prima

A Figura 16 mostra a curva de secagem da matéria-prima obtida, sendo a massa de amostra em g x tempo de secagem em h.

A curva demonstra um comportamento característico de secagem para folhas, tendo sua umidade estabilizada após aproximadamente 18 horas de exposição a uma temperatura de 30°C, conforme os dados experimentais do Apêndice E.

A transferência de calor para evaporar o líquido e a transferência de massa da umidade interna e do líquido evaporado são fatores que regem a intensidade do processo, pois são eles que determinam a velocidade do processo de secagem (SHERWOOD, 1929).

A secagem é um processo crucial à preparação adequada dos produtos naturais, que objetiva diminuir consideravelmente o teor de umidade destes. Valores elevados de umidade favorecem o desenvolvimento de fungos e bactérias, bem como possibilitam a atividade hidrolítica de diversas enzimas presentes nas células vegetais, levando à degradação dos princípios ativos (SIMÕES, 2004).

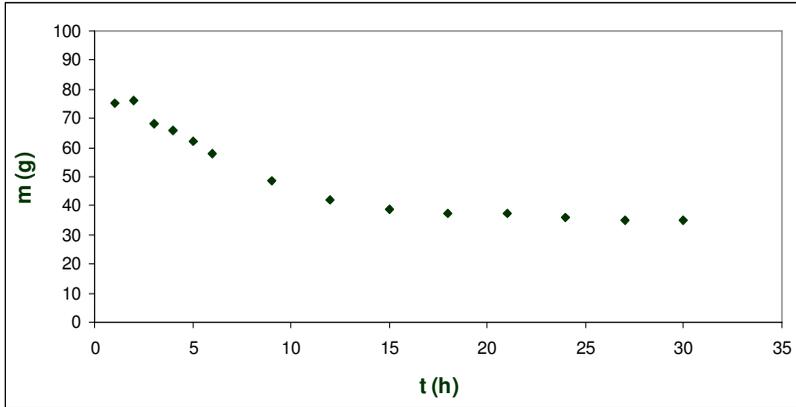


Figura 16 Curva de secagem das folhas de eucalipto

5.1.3 Umidade

A Tabela 4 demonstra os valores obtidos através do teste de umidade da matéria-prima estudada.

Tabela 4 Valores para umidade das folhas de eucalipto

Tempo (h)	Amostras	
	1. Massa (g)	2. Massa (g)
0	45,2	44,05
2	23,18	22,54
3	23,13	22,25
Umidade (%)	51,18	50,51
Média (%)	50,8 ± 0,7	

Castro et al. (2008) encontraram teores de umidade para folhas de *E. citriodora* entre 52-60% para amostras coletadas em fevereiro e teores de 44-50% para amostras coletadas em agosto.

A determinação da umidade das amostras frescas utilizadas em processos de extração de óleos essenciais é de extrema importância, sendo que esta, em termos de massa absoluta de material úmido, pode conduzir a rendimentos diferentes e levar a interpretações distintas com relação aos mesmos (FABROWSKI, 2002; apud CASTRO et al. 2008).

5.2 Obtenção do óleo essencial de folhas de eucalipto

As análises de rendimento do extrato de folhas de eucalipto obtido pelos diferentes métodos de extração empregados têm seus valores mostrados nesta seção.

5.2.1 Hidrodestilação

Foram realizados experimentos em duplicata para obtenção do óleo essencial das folhas de eucalipto através da hidrodestilação, a fim de avaliar o rendimento e também a diferença de rendimento entre partículas de diferentes tamanhos. Os resultados encontram-se na Tabela 5.

Tabela 5 Rendimento para extrato das folhas de eucalipto obtido por hidrodestilação

Hidrodestilação	Partícula (mm/ μ m)	X ₀ (%) ⁽¹⁾
Folhas de eucalipto	500	2,6 ^a ± 0,4
	300	2 ^a ± 0,0
	212	2,4 ^a ± 0,4
	180	2,6 ^a ± 0,4
	all	2,1 ^a ± 0,1

⁽¹⁾ Letras iguais não diferem significativamente (p > 0,05).

Não foram encontradas diferenças significativas entre os rendimentos dos extratos obtidos de folhas de eucalipto com diferentes tamanhos de partículas, sendo o valor encontrado para p na análise de variância de 0,7856. Assim, pode-se afirmar que a obtenção do óleo essencial de folhas de eucalipto não é influenciada pelo tamanho da partícula de matéria-prima, sendo estas menores do que 500 mm/ μ m.

Isso foi levado em conta para a realização dos demais experimentos do presente trabalho. Nas extrações com solventes orgânicos (Soxhlet) e na ESC foram utilizadas amostras “all”, ou seja, com todos os tamanhos de partículas misturados em proporções iguais para cada procedimento.

Pereira; Gherini; Sholl (2007) encontraram rendimento de 0,3% para extrato obtido de folhas de *E. grandis* através de hidrodestilação e rendimento de 1,0% para extrato obtido de folhas de *E.citriodora* por

hidrodestilação. Canzi et al. (2009) obtiveram rendimento de extrato de folhas de *E. grandis* e de *E. citriodora* por hidrodestilação de 0,13% e de 0,11%, respectivamente. Franco et al. (2005) encontraram rendimento de 6,1% para extrato de folhas de *E. cinerea* através de hidrodestilação.

Apesar de variados, os rendimentos de extratos obtidos através de hidrodestilação são considerados muito baixos quando comparados com outras técnicas. Isso acontece devido ao processo ser submetido a altas temperaturas, onde ocorrem perdas consideráveis de compostos voláteis presentes nas amostras, a utilização de vapor d'água como um solvente de baixa seletividade, não carregando consigo compostos que são retidos à matriz sólida da amostra e também devido ao processo de separação do óleo e da água no final do processo acontecer através da diferença de densidade de ambos, onde o erro amostral é muito grande se comparado ao volume de extrato obtido.

5.2.2 Extração com solventes orgânicos

A avaliação do rendimento do extrato de eucalipto através do processo de extração com solventes orgânicos – Soxhlet deu-se em duplicata através da utilização de solventes com diferentes níveis de polaridade. Os solventes utilizados foram hexano, diclorometano, acetato de etila, etanol e água sendo que os índices de polaridade dos mesmos são 0; 3,1; 4,4; 5,2 e 9,0; respectivamente.

A polaridade definida como a habilidade da molécula em participar de interações de todas as espécies com outras moléculas de polaridade similar (BARWICK, 1997).

A Tabela 6 apresenta os valores para rendimento global de extrato de folhas de eucalipto obtido através do processo de extração com solventes orgânicos pelo método de Soxhlet, sendo que a Figura 17 apresenta uma comparação dos mesmos com o rendimento global obtido através da hidrodestilação.

Os resultados apresentados nas Tabelas 5 e 6 e na Figura 13 mostram que o rendimento mais elevado obtido através das extrações com solventes orgânicos por Soxhlet foi com o solvente etanol ($27,0 \pm 0,4\%$) e o mais baixo com o solvente hexano ($14,1 \pm 0,2\%$), além do valor mais baixo encontrado para hidrodestilação ($2,1 \pm 0,1\%$). Na comparação entre o rendimento global obtido com a polaridade de cada solvente utilizado não pode se estabelecer uma regra, pois os resultados oscilaram de forma irregular em comparação à ordem de polaridade dos solventes.

Segundo a ANOVA houve diferença significativa no rendimento global de extração de acordo com o solvente empregado ($p = 0,0346$), ou seja, de acordo com o solvente utilizado na técnica de extração Soxhlet há diferença significativa no rendimento de óleo essencial de folhas de eucalipto a ser obtido.

Tabela 6 Rendimento para extrato de folhas de eucalipto obtido através de Soxhlet com diferentes solventes orgânicos

Soxhlet	Solventes ⁽¹⁾	Polaridade	Rendimento médio (%) ⁽²⁾
Folhas de eucalipto	C ₆ H ₁₄	0	14,1 ^b ± 0,2
	CH ₂ Cl ₂	3,1	21 ^{ab} ± 1,0
	C ₄ H ₈ O ₂	4,4	21,5 ^{ab} ± 1,7
	C ₂ H ₆ O	5,2	27,0 ^a ± 0,4
	H ₂ O	9,0	26 ± 4,0

⁽¹⁾ C₆H₁₄ = Hexano; CH₂Cl₂ = Diclorometano; C₄H₈O₂ = Acetato de etila; C₂H₆O = Etanol; H₂O = Água. ⁽²⁾ Letras iguais não diferem significativamente ($p > 0,05$).

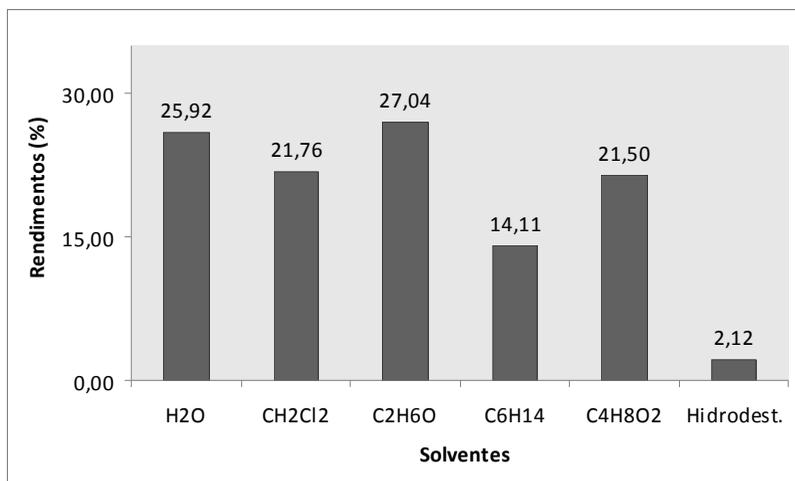


Figura 17 Gráfico de rendimentos globais para extrato de folhas de eucalipto obtidos através de Soxhlet com diferentes solventes orgânicos e por hidrodestilação

Aplicando-se o Teste de Tukey para a verificação de onde estão as diferenças significativas, observou-se que os solventes etanol e água, que obtiveram os maiores rendimentos nas extrações, diferiram significativamente do solvente hexano, que obteve o menor rendimento.

Na avaliação dos rendimentos globais através da extração Soxhlet, os mais altos rendimentos obtidos foram com os solventes C_2H_6O , CH_2Cl_2 , $C_4H_8O_2$ e H_2O o que indica que as folhas de eucalipto possuem grande quantidade de compostos com polaridade intermediária e alta (3,1 a 9,0), devido ao maior rendimento e, conseqüentemente, maior afinidade entre os mesmos. A Figura 18 mostra o rendimento global obtido em função da polaridade dos solventes empregados.

Quando é comparado o rendimento global obtido por hidrodestilação com o rendimento global obtido através de Soxhlet utilizando água como solvente, há uma grande diferença nos resultados. Isso se deve a utilização do solvente em seu ponto de ebulição com refluxo periódico na extração Soxhlet. Além disso, a matriz sólida fica aprisionada em um espaço menor podendo o solvente alcançar espaços da matriz com maior facilidade e envolta por uma proteção sólida garantindo, nesta condição, menor tensão superficial do solvente do que na hidrodestilação. O refluxo constante facilita maior apreensão de compostos voláteis, o que não ocorre na hidrodestilação.

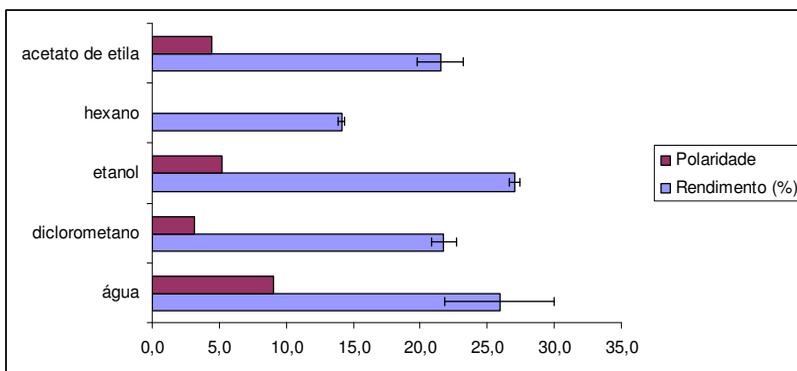


Figura 18 Gráfico de médias e desvios padrões de rendimento global para os solventes orgânicos utilizados nas extrações Soxhlet

Silva; Brito; Junior (2006) realizaram extrações com diferentes espécies de folhas de eucalipto utilizando hexano e água como solventes avaliando o desempenho do rendimento de acordo com a época do ano

em que as amostras fossem coletadas. Os maiores rendimentos foram obtidos para amostras das espécies de *E. camaldulensis* e *E. citriodora* coletadas no verão e que utilizaram água como solvente com 12 e 25% de rendimento, respectivamente. Para os extratos obtidos utilizando hexano como solvente, os valores de rendimento foram baixos, independente da época de coleta das amostras: os valores variaram de 0,6-2,5%.

Morrow; Fox (1980) avaliaram o rendimento de extrato de folhas de eucalipto afetadas por pragas em diversos estágios de crescimento utilizando Soxhlet como técnica de extração. Amostras de *E. viminalis*, *E. stellulata* e *E. pauciflora* obtiveram rendimentos, na sua melhor forma, de $6,42 \pm 1,06\%$; $6,05 \pm 0,20\%$ e $8,46 \pm 1,04\%$, respectivamente, utilizando etanol como solvente.

5.2.3 Extração supercrítica

A avaliação de rendimento global para o extrato de folhas de eucalipto obtido através de ESC foi realizada levando em conta o planejamento experimental e as condições experimentais propostas na metodologia, bem como o tempo de extração ótimo encontrado no teste prévio.

A solubilidade, a seletividade e o rendimento do processo são funções das condições de operação (pressão e temperatura) e, como consequência, da densidade do solvente. A Tabela 7 apresenta as médias, desvios padrões e resultados do teste de Tukey do rendimento global (X_0) da ESC em função das diferentes condições de pressão (P) e temperatura (T) empregadas com as respectivas massas específicas do CO_2 (ρ) obtidas a partir da equação de Angus; Armstrong; de Reuck, (1976), característicos para as condições de temperatura e pressão empregadas na extração do OE de folhas de eucalipto calculada conforme a seção 4.2.3.1.3.

O maior rendimento encontrado através da ESC foi de $27 \pm 4\%$ para a condição de 250 bar e 30°C e o menor foi de $9,9 \pm 0,6\%$ para a condição de 250 bar e 50°C . A Figura 19 demonstra o rendimento global da extração do extrato das folhas de eucalipto para cada condição testada no planejamento experimental. Na análise de variância, os fatores pressão x rendimento ($p = 0,0119$) e temperatura x rendimento ($p = 0,03193$) apresentaram diferença significativa nos rendimentos globais obtidos.

Tabela 7 Rendimentos globais de ESC nas condições experimentais testadas

ESC	P (bar)	T (°C)	ρ_{CO_2} (kg/m ³) ⁽¹⁾	X ₀ (%) ⁽²⁾
Condição experimental	150	30	847,8	14 ^b ± 1,0
	250	30	919,0	27 ^d ± 4,0
	200	40	841,5	16 ^{abc} ± 8,0
	150	50	584,5	12 ^b ± 1,0
	250	50	827,5	9,9 ^{bc} ± 0,6

⁽¹⁾ ANGUS; ARMSTRONG; DE REUCK, (1976); ⁽²⁾ Letras iguais não diferem significativamente ($p > 0,05$).

Quando o fator pressão x rendimento é analisado, os extratos obtidos na condição de 150 bar não apresentaram diferença significativa. Os extratos obtidos nas condições de 250 bar apresentaram diferença significativa, sendo que o maior rendimento em todas as condições experimentais testadas foi obtido utilizando 250 bar e 30°C. Quando o fator temperatura x rendimento é analisado, os extratos obtidos nas condições de 30°C apresentaram diferença significativa e os extratos obtidos na condição de 50°C não apresentaram diferença significativa. O extrato obtido na condição de 200 bar e 40°C apresentou diferença significativa apenas em relação ao extrato obtido na condição de 250 bar e 30°C.

Porta et al. (1999) encontraram melhores valores de rendimento para óleo essencial de eucalipto obtido através de ESC na condição de 90 bar e 50°C, com posterior fracionamento do óleo, de 28,5%.

De acordo com os dados obtidos por Rodrigues et al. (2003) para rendimento de óleo essencial de erva-doce, o aumento isotérmico da pressão resultou no significativo aumento do rendimento global de óleo essencial. Mantida a condição de temperatura de 30°C, obteve-se um aumento no rendimento de $3,13 \times 10^{-2}$ (kg soluto / kg CO₂) na pressão de 80 bar para $10,67 \times 10^{-2}$ (kg soluto / kg CO₂) na pressão de 180 bar.

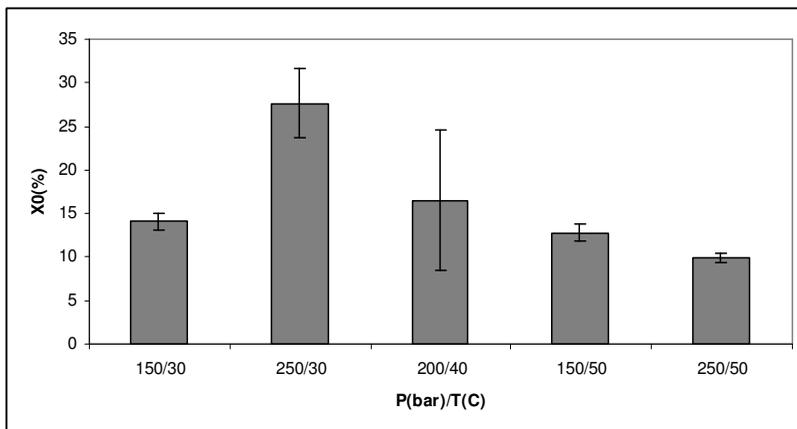


Figura 19 Gráfico de rendimentos globais de ESC nas condições experimentais testadas

De acordo com a Figura 19 para a condição de pressão de 150 bar, o valor para o rendimento diminui de $14 \pm 1\%$ para $12 \pm 1\%$ de acordo com a elevação da temperatura de 30°C para 50°C . O mesmo ocorre quando é avaliada a condição de 250 bar, onde o valor para rendimento diminui de $27 \pm 4\%$ para $9,9 \pm 0,6\%$. Isso acontece devido ao poder de solvatação do solvente supercrítico aumentar com a diminuição da temperatura, enquanto que a pressão de vapor do soluto aumenta com a temperatura aumentando a sua solubilização. De acordo com a Tabela 7, a diminuição do rendimento com o aumento da temperatura de 30°C para 50°C pode ser explicado pela diminuição da densidade do solvente de $847,8 \text{ kg/m}^3$ para $584,5 \text{ kg/m}^3$ na condição de 150 bar e de $919,0 \text{ kg/m}^3$ para $827,5 \text{ kg/m}^3$ na condição de 250 bar.

A Figura 20 analisa a influência que a pressão e a temperatura exercem sobre o rendimento global dos extratos. A superfície indica que os maiores rendimentos tendem a ser obtidos com pressões acima de 200 bar. Porém, quando o fator analisado é a temperatura, os maiores valores encontrados para rendimento estão em faixas de temperatura acima de 40°C . Assim, os valores encontrados demonstram que nem sempre as maiores pressões e menores temperaturas obtêm maiores rendimentos de extração.

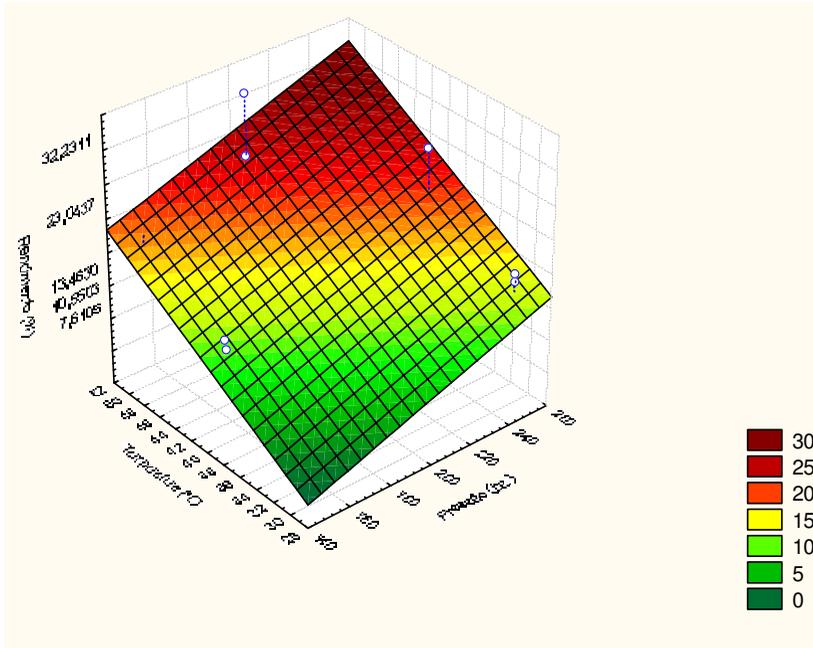


Figura 20 Superfície de resposta da influência da temperatura e da pressão no rendimento global da extração supercrítica do extrato de folhas de eucalipto

A linearidade do modelo que expressa a dependência do rendimento do processo com a temperatura (T) e a pressão (P) é representada pela equação 5.1.

$$X_0 (g) = - 40,0254 + 0,1098T + 0,8271P \quad \text{Eq 5.1}$$

As Figuras 21, 22, 23 e 24 mostram curvas de extração onde são observados os efeitos da pressão e temperatura sobre o rendimento da extração.

As Figuras 25 e 26 apresentam a influência que a densidade do CO₂ exerce mediante as pressões e temperaturas empregadas no processo sobre o rendimento global de extração.

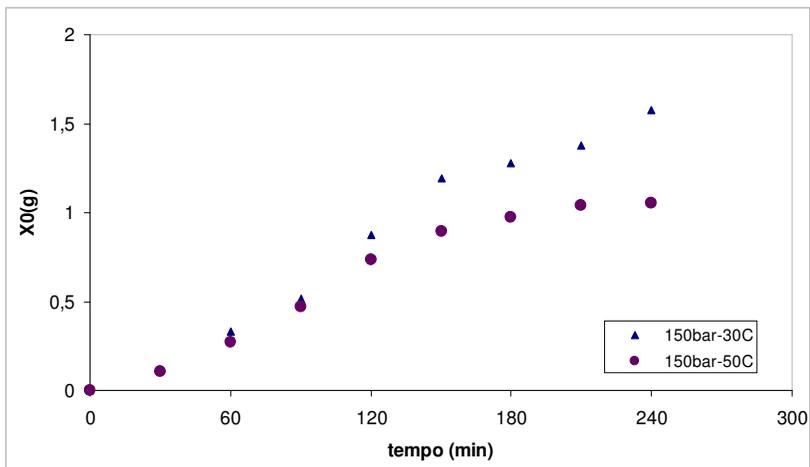


Figura 21 Curvas de extração obtidas a 150 bar nas temperaturas de 30°C e 50°C

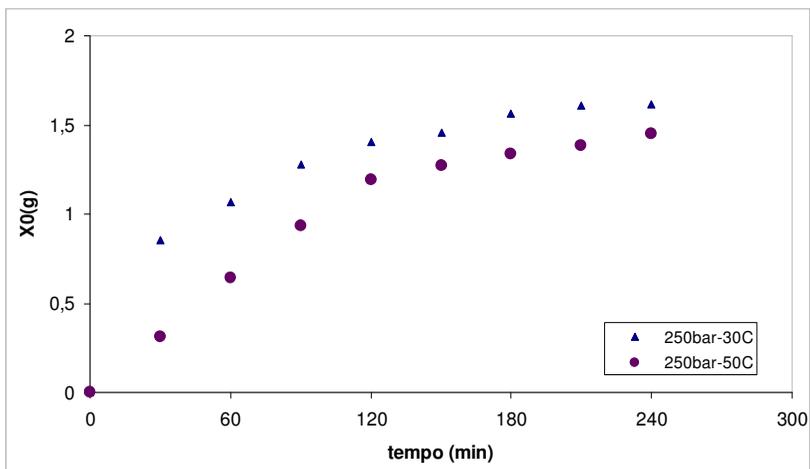


Figura 22 Curvas de extração obtidas a 250 bar nas temperaturas de 30°C e 50°C

De acordo com as Figuras 21 e 22 o poder de solvatação do solvente sofre influência da temperatura mediante dois mecanismos: densidade do solvente e pressão de vapor do soluto. Com o aumento isobárico da temperatura ocorre a redução da densidade do solvente, porém também o aumento da pressão de vapor do soluto. Na pressão de

250 bar a variação da densidade com a temperatura é mais moderada, e a pressão de vapor do soluto passa a ser o fator dominante (Brunner, 1994). Como esses efeitos são contrários a influência da temperatura na curva de extração é ditada pelo efeito dominante sobre o poder de solvatação do solvente.

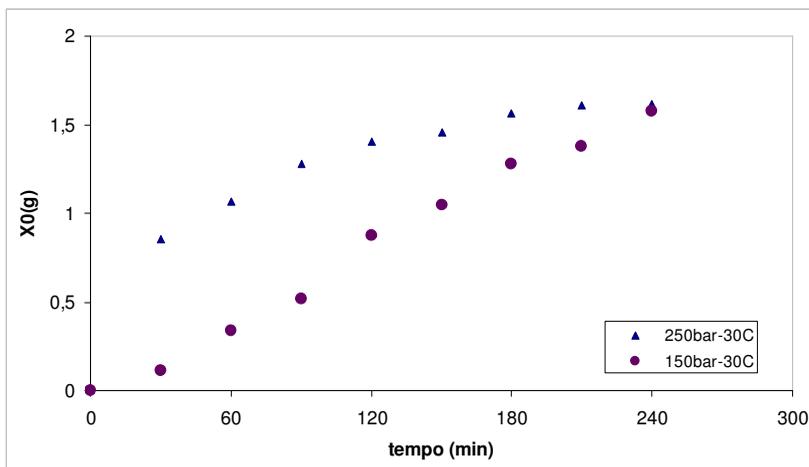


Figura 23 Curvas de extração obtidas a 30°C nas pressões de 150 bar e 250 bar

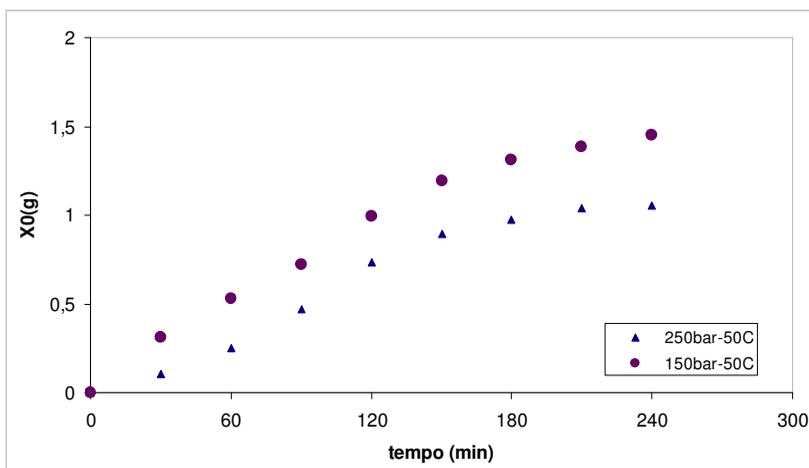


Figura 24 Curvas de extração obtidas a 50°C nas pressões de 150 bar e 250 bar

De acordo com a Figura 23, o aumento da pressão ocasionou aumento no rendimento da extração. Isso se dá devido ao aumento da massa específica do solvente supercrítico, aumentando o poder de solvatação deste nos compostos extraíveis do óleo. Porém, um comportamento contrário é mostrado na Figura 24. O aumento da pressão de 150 bar para 250 bar ocasiona uma diminuição, embora pequena, de rendimento.

5.3 Estudo das cinéticas de extração e viabilidade econômica do processo

5.3.1 Estudo das cinéticas de extração

Os modelos matemáticos empregados para a descrição das curvas de extração obtidas nas diferentes condições empregadas foram os Modelos de Sovová (1994), Martínez et al (2003) e da Segunda Lei de Fick adaptado por Crank (1975) adaptado por Reverchon (1997).

Para a modelagem do processo de extração é necessário o conhecimento das variáveis do processo. Na Tabela 8 são apresentadas as variáveis das condições operacionais empregadas nos experimentos realizados obtidas experimentalmente ou estimadas de acordo com a literatura, de acordo com a metodologia apresentada.

As Figuras 27, 28, 29, 30 e 31 apresentam os dados experimentais e modelados obtidos para a ESC de óleo essencial de folhas de eucalipto de acordo com as variáveis de processo apresentadas na Tabela 8.

Tabela 8 Variáveis das condições operacionais testadas empregadas no processo de ESC

T (°C)	P (bar)	$\rho_p^{(1)}$	$q_{CO_2}^{(2)}$	Hb ⁽³⁾	Db ⁽⁴⁾	Dp ⁽⁵⁾	$m_0^{(6)}$	$y^{*(8)}$	$X_0^{(9)}$	$\rho_{CO_2}^{(10)}$
30	150	0,25	8,33	8,65	2,01	0,003	11,97	0,0018	14	0,848
50	150	0,25	8,33	8,15	2,01	0,003	10,09	0,0018	12	0,584
40	200	0,25	8,33	4,9	2,01	0,003	5,07	0,0016	16	0,842
30	250	0,25	8,33	4,95	2,01	0,003	5,02	0,0028	27	0,919
50	250	0,25	8,33	5,05	2,01	0,003	5,71	0,0015	9,9	0,828

⁽¹⁾ ρ_p : densidade da matriz sólida a ser extraída (g/cm^3) determinada de acordo com a seção 4.2.3.1.2;

⁽²⁾ q_{CO_2} : vazão do solvente supercrítico (g/min) de acordo com a seção 4.2.3.3;

⁽³⁾ Hb: altura do leito de extração preenchido com a matriz sólida para cada experimento realizado (cm);

⁽⁴⁾ Db: diâmetro do leito de extração (cm);

⁽⁵⁾ Dp: diâmetro médio da partícula de matéria-prima (cm) de acordo com o Apêndice A;

⁽⁶⁾ m_0 : massa total de matéria-prima utilizada no leito de extração para cada experimento (g);

⁽⁸⁾ y^* : solubilidade da matriz sólida no solvente supercrítico de acordo com o Apêndice F;

⁽⁹⁾ X_0 : rendimento global de extração;

⁽¹⁰⁾ ρ_{CO_2} : densidade do solvente supercrítico (g/m^3).

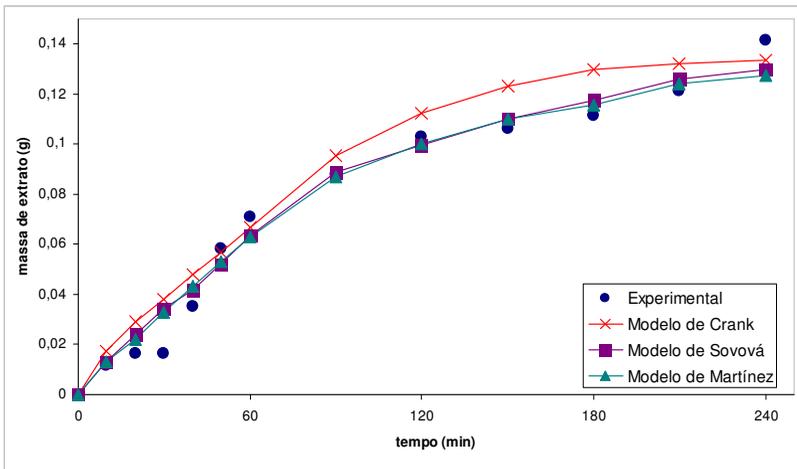


Figura 25 Curvas de ESC de extrato de folhas de eucalipto experimental e modeladas para a condição de pressão de 150 bar e de temperatura de 30°C

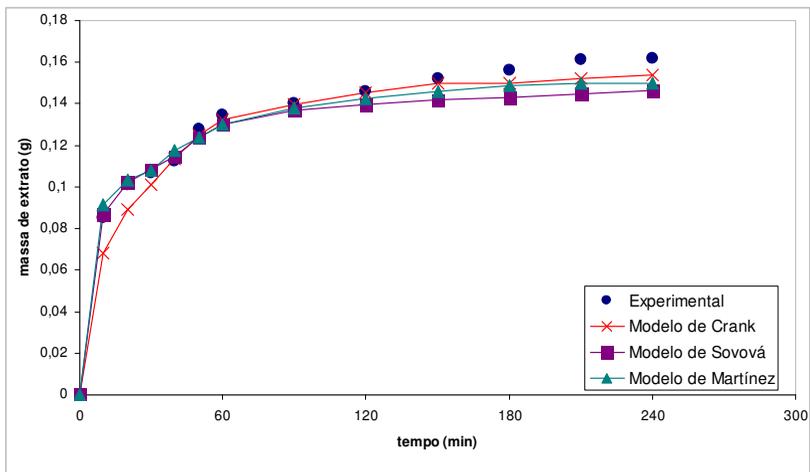


Figura 26 Curvas de ESC de extrato de folhas de eucalipto experimental e modeladas para a condição de pressão de 250 bar e de temperatura de 30°C

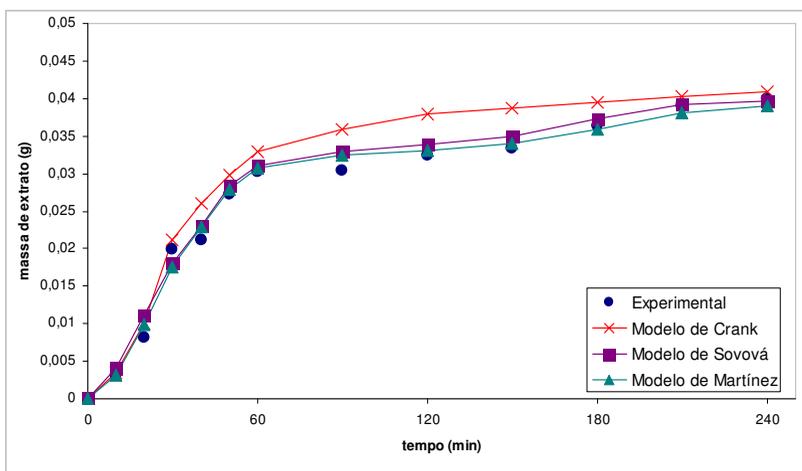


Figura 27 Curvas de ESC de extrato de folhas de eucalipto experimental e modeladas para a condição de pressão de 200 bar e de temperatura de 40°C

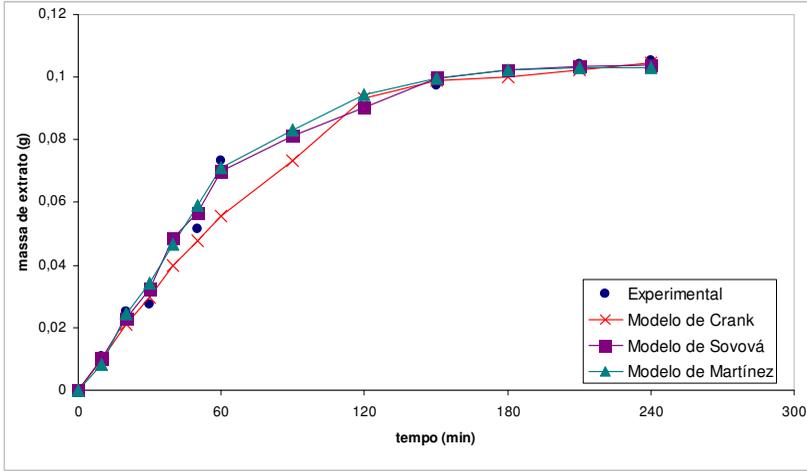


Figura 28 Curvas de ESC de extrato de folhas de eucalipto experimental e modeladas para a condição de pressão de 150 bar e de temperatura de 50°C

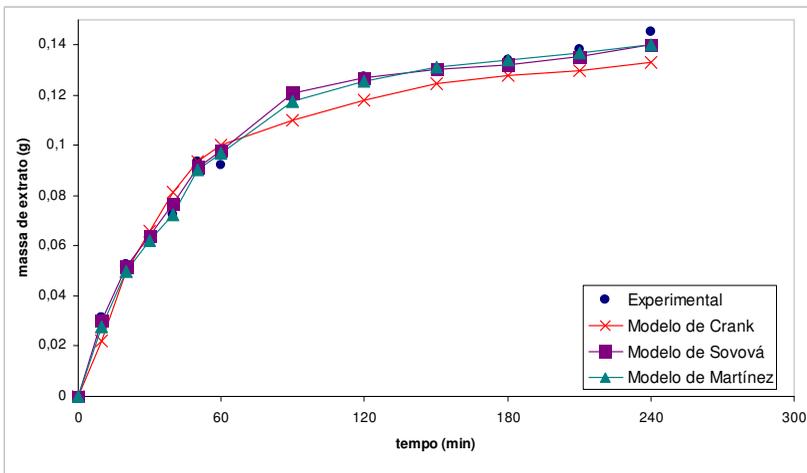


Figura 29 Curvas de ESC de extrato de folhas de eucalipto experimental e modeladas para a condição de pressão de 250 bar e de temperatura de 50°C

As Figuras 27, 28, 29, 30 e 31 apresentam as curvas de extração dos experimentos 7, 8, 9, 10 e 11 e as curvas resultantes dos modelos empregados: Sovová (1994), Martínez et al (2003) e da Segunda Lei de Fick adaptado por Crank (1975) adaptado por Reverchon (1997). As curvas são expostas em função da massa acumulada de óleo essencial de folhas de eucalipto *versus* o tempo de extração. As condições de operação foram apresentadas na Tabela 3 e os parâmetros cinéticos na Tabela 8.

A Tabela 9 apresenta os coeficientes, parâmetros ajustáveis e Erros Médios Quadráticos (EMQ) dos modelos aplicados nas curvas de ESC de óleo essencial de folhas de eucalipto.

Todas as condições testadas apresentaram curvas de extração com um comportamento característico. A etapa de taxa de extração constante (CER) pode ser identificada em todas as condições que corresponde, de um modo geral, do período inicial até 60 minutos, com exceção da condição de 150 bar e 30°C que apresentou um tempo maior. De acordo com Sovová (1994), esta etapa, o processo é controlado pela convecção na fase fluída (solvente + extrato), e a distância em relação ao equilíbrio é a força motriz para a transferência de massa.

Através da visualização das curvas modeladas obtidas e dos EMQ apresentados, pode-se dizer que o modelo que obteve melhor ajuste às curvas de ESC foi o Modelo de Martínez et al (2003), que obteve os menores valores para EMQ em todas as curvas de ESC testadas.

O parâmetro ajustável do modelo da Segunda Lei de Fick adaptado por Crank (1975) é baseado no coeficiente de difusão do soluto na matriz sólida. Porém, como o processo de transferência de massa não é apenas difusivo, o valor, embora representativo e com o mesmo significado físico, não é real.

No modelo de Martínez et al (2003) o parâmetro t_m corresponde ao momento no qual a taxa de extração alcança o seu maior valor. Porém, quando o valor para este parâmetro é negativo o mesmo passa a não ter mais significado físico. Assim, a taxa de extração passa a ter o seu valor máximo no momento inicial da extração. O modelo é baseado no balanço diferencial de massa dentro do leito de extração, sendo considerados os fenômenos de transferência de massa nas fases sólida e fluída.

Para se fazer o balanço de massa durante o processo de SFE, o sistema é considerado como um leito cilíndrico formado por partículas da matéria-prima dispostas de forma homogênea. Através do leito o solvente escoia axialmente, retirando da matéria-prima o extrato (MARTÍNEZ, 2005).

O conhecimento da maioria das variáveis determinadas na Tabela 8 foi necessário especificamente para a aplicação do modelo de Sovová (1994). A solubilidade, densidade do solvente, dados específicos da matéria-prima no leito da partícula e alguns dados específicos da curva de extração a ser modelada são dados necessários para a aplicação do modelo, calculado a partir da matéria-prima inerte.

Tabela 9 Parâmetros ajustáveis e erros médios quadráticos obtidos através de modelagem matemática das curvas de ESC de óleo essencial de folhas de eucalipto

<i>Modelagem</i>		<i>Condições experimentais [P (bar) / T (°C)]</i>				
Modelos	Parâmetros	150/30	250/30	200/40	150/50	250/50
2ª Lei Fick adap. Crank (1975)	D (m ² /min)	7,65x10 ⁻¹¹	4,65x10 ⁻¹⁰	4,98x10 ⁻¹¹	2,94x10 ⁻¹¹	3,12x10 ⁻¹¹
	EMQ	0,070	0,230	0,190	0,076	0,033
Martínez et al (2003)	b (min ⁻¹)	0,0981	0,1211	0,0743	0,0087	0,0093
	t _m (min)	- 432,02	- 1.118,9	- 387,14	- 113,10	- 123,89
	EMQ	0,019	0,087	0,055	0,006	0,008
Sovová (1994)	X _k	0,065	0,146	0,113	0,054	0,096
	k _{YA} (min ⁻¹)	0,064	3,551	0,476	0,064	0,160
	k _{XA} (min ⁻¹)	0,004	0,012	0,010	0,003	0,004
	EMQ	0,047	0,144	0,097	0,013	0,014

De acordo com os gráficos apresentados os modelos de Sovová (1994) e de Martínez et al (2003) apresentaram maior proximidade com os dados experimentais na etapa CER. O Modelo da Segunda Lei de Fick adaptado por Crank (1975) apresentou variações no ajuste dos dados experimentais, sendo mais próximo o seu ajuste nos pontos das curvas presentes na etapa difusional. Já o modelo de Martínez et al (2003) também apresentou maior proximidade com os dados experimentais em ambas as etapas. O modelo apresentou os menores valores de EMQ em todas as condições experimentais testadas, sendo o modelo mais indicado para ajuste dos dados em uma possível ampliação de escala do processo.

Os valores obtidos para o parâmetro ajustável do Modelo da Segunda Lei de Fick adaptado por Crank (1975) apresentaram desordem quanto à condição experimental empregada. O maior valor obtido foi na

condição de 250 bar e 30°C. O modelo baseia-se na transferência de massa por difusão, sendo os valores obtidos para esses parâmetros, apesar de possuírem o mesmo significado físico da difusão na ESC, incompletos, pois o processo de ESC não é exclusivamente difusivo.

Através da análise dos parâmetros obtidos pelo Modelo de Sovová (1994), o teor de óleo de difícil acesso (X_k) apresenta maiores valores nas condições de maiores pressões aplicadas, o que confirma que o fator pressão é determinante para a obtenção deste óleo a partir da etapa difusional. O maior valor foi obtido na condição de maior pressão e de menor temperatura. O coeficiente de transferência de massa na fase fluída (k_{YA}) apresentou o maior valor na mesma condição operacional, sendo o mesmo distante dos demais. Esta constante é afetada, principalmente, pela velocidade de escoamento do fluído. Para o parâmetro do coeficiente de transferência de massa na fase sólida (k_{XA}), a principal influência é a transferência de massa intraparticular, sendo o diâmetro da partícula sua principal referência. Os valores de k_{XA} foram inferiores aos valores de k_{YA} em todas as condições experimentais testadas.

Segundo Weinhold et al. (2008), o soluto localizado internamente nas partículas tem mais dificuldade de ser dissolvido e, desta forma, leva mais tempo para atravessar a interface entre o sólido e fluído que o soluto localizado na superfície das partículas. Sendo assim, os valores menores de k_{XA} obtidos indicam que a convecção é o fenômeno mais representativo do que a difusão no processo de ESC.

O bom ajuste do Modelo pode ser observado em todas as condições testadas provavelmente aos dois únicos parâmetros e por levar em conta o balanço diferencial de massa dentro do leito considerando os fenômenos de transferência de massa que ocorrem tanto na fase sólida quanto na fase fluída.

5.3.2 Viabilidade econômica do processo

A viabilidade econômica do processo foi estimada de acordo com o *software Tecanalysis* (ROSA; MEIRELES, 2005). As variáveis necessárias para a obtenção das melhores condições para a implementação do processo estão expressas na Tabela 10.

O custo de manufatura (CUM) é determinado pela soma do custo direto, do custo fixo e despesas gerais. Os custos diretos são dependentes diretamente da produção e são compostos pelos custos de matéria-prima, de utilidades, operadores, etc. Os três componentes do CUM da ESC são estimados em termos de cinco custos principais:

matéria-prima, utilidades, operadores, investimento inicial e tratamento de resíduos. Cada custo possui um peso na composição do CUM, conforme demonstra a Equação 5.2 (ROSA; MEIRELES, 2005).

$$CUM = 0,304FRI + 2,73COP + 1,23 \times (CUT + CTR + CMP) \quad \text{Eq 5.2}$$

Onde: CUM = custo de manufatura; FRI = fração de investimento; COP = custo com operadores; CUT = custo com utilidades; CTR = custo com tratamento de resíduos; CMP = custo de matéria-prima.

Tabela 10 Variáveis de processo para estimativa de viabilidade econômica para implantação

Nº	Variáveis operacionais	Valores
1	Investimento inicial: valores de duas unidades com volumes de 100 L e 400 L, respectivamente segundo (ROSA; MEIRELES, 2005) (US\$).	550.000,00 e 2.000.000,00
2	Tenpo total de operação anual: 24 h/dia em 330 dias/ano (h/ano).	7.920
3	Custo operador: valor indicado por (ROSA; MEIRELES, 2005) (US\$/h).	3,00
4	Custo com matéria-prima sólida: resíduo da produção de madeira de eucalipto.	0
5	Custo com transporte: considera-se que a extração de óleo seria um setor das indústrias processadoras de madeira.	0
6	Umidade inicial: conforme resultados obtidos na seção 5.1.3 (%).	50
7	Umidade final: conforme resultados obtidos na seção 5.1.3 (%).	4,8
8	Custos de moagem e secagem: valor indicado por (ROSA; MEIRELES, 2005) (US\$/t de matéria-prima).	30
9	Custo elétrico: valor indicado por (ROSA; MEIRELES, 2005) (US\$/Mcal).	0,0703
10	Custo de CO ₂ : valor indicado por (ROSA; MEIRELES, 2005) (US\$).	0,15
11	Perda de CO ₂ : valor indicado por (ROSA; MEIRELES, 2005) (%).	2
12	Custo de refrigeração de água: valor indicado por (PEREIRA et al. 2007. ROSA; MEIRELES, 2005) (US\$/Mcal).	0,0837

13	Custo de vapor saturado: valor indicado por (PEREIRA et al. 2007. ROSA; MEIRELES, 2005) (US\$/Mcal).	0,0133
14	Depreciação: valor indicado por (ROSA; MEIRELES, 2005) (%/ano).	10
15	Tempo de extração: de acordo com o tempo obtido no teste preliminar (Apêndice G) (min).	Entre 10 e 240
16	Temperatura e pressão de operação: de acordo com os resultados da seção 5.2.3 (bar – °C).	150 – 50 250 – 30
17	Vazão de CO ₂ : de acordo com a vazão utilizada nos experimentos (kg CO ₂ /h) adaptada aos novos volumes de extratores.	-
18	Massa específica do leite: conforme resultado expresso nesta seção e calculado no Apêndice B adaptado aos extratores de maior escala.	-
19	Pressão de separação: pressão onde considera-se que o extrato está na fase líquida (bar).	40
20	Método de ampliação de escala: razão entre a massa de extrato no tempo de extração pela quantidade de matéria-prima	Conforme condição
21	Custo de tratamento de resíduos: sem geração de resíduos.	0

Dessa forma foi calculada a estimativa de custos de implementação de unidades de ESC para obtenção de extrato de folhas de eucalipto através de duas condições:

- 250 bar e 30°C: condição de maior rendimento global de extração;
- 150 bar e 50°C: condição aplicada para fins de comparação.

Os volumes escolhidos para os dois extratores em série foram de 100 L e 400 L, também para fins de comparação.

A Tabela 11 apresenta os dados de custos estimados para implementação de duas unidades de extração de extrato de folhas de eucalipto em série para cada volume, nos volumes de 100L e 400 L, operando na condição de 150 bar e 30°C.

A Tabela 12 apresenta os dados de custos estimados para implementação de duas unidades de extração de extrato de folhas de eucalipto em série para cada volume, nos volumes de 100 L e 400 L, operando na condição de 250 bar e 30°C.

As Figuras 32, 33, 34 e 35 demonstram as proporções dos custos estimados para cada fator nas determinadas condições e uma posterior

comparação entre as duas condições na implementação das unidades de ESC.

A fração de investimento (FRI) é dependente do custo do equipamento, o custo com operadores (COP) depende do que o equipamento considerado requer, o custo de utilidades (CUT) depende somente do custo de cada utilidade necessária para o funcionamento das unidades, o custo com matéria-prima (CMP) é influenciado pelo tempo, pois o número de extrações é inversamente proporcional a este e o custo com tratamento de resíduos (CTR) não foi considerado já que o mesmo possui valor zero. Desta forma, o custo com manufatura (CUM) pode ser obtido através dos parâmetros apresentados. O custo específico (CS) é o custo responsável pela manufatura de 1 kg de óleo.

Tabela 11 Custos estimados para implementação de unidade de ESC para obtenção de OE de folhas de eucalipto na condição de 150 bar e 50°C

Extrator	Tempo (min)	FRI (US\$/ano)	CMP (US\$/ano)	COP (US\$/ano)	CUT (US\$/ano)	CUM (US\$/ano)	CS (US\$/kg _{óleo})
2x100L	30	167.037,00	79.595,71	120.200,67	97.832,70	464.666,11	27,86
	60	167.037,00	68.155,71	120.200,67	97.832,70	453.226,11	20,20
	90	167.037,00	64.342,38	120.200,67	97.832,70	449.412,78	27,22
	120	167.037,00	62.435,71	120.200,67	97.832,70	447.506,11	32,60
	150	167.037,00	61.291,71	120.200,67	97.832,70	446.362,11	37,39
	180	167.037,00	60.529,04	120.200,67	97.832,70	445.599,44	42,50
	210	167.037,00	59.984,28	120.200,67	97.832,70	445.054,68	48,79
	240	167.037,00	59.575,71	120.200,67	97.832,70	444.646,11	55,23
2x400L	30	607.407,40	148.235,74	120.200,67	97.832,70	973.676,49	14,50
	60	607.407,40	102.474,72	120.200,67	97.832,70	927.916,78	10,34
	90	607.407,40	87.222,38	120.200,67	97.832,70	912.663,14	13,82
	120	607.407,40	79.595,71	120.200,67	97.832,70	905.036,47	16,50
	150	607.407,40	75.019,71	120.200,67	97.832,70	900.460,47	18,86
	180	607.407,40	71.969,04	120.200,67	97.832,70	897.409,80	21,45
	210	607.407,40	69.790,00	120.200,67	97.832,70	895.230,65	24,53
	240	607.407,40	68.155,71	120.200,67	97.832,70	893.596,47	27,75

Para duas unidades de extração de 100 L em série, o investimento inicial em equipamentos e instalações seria de US\$ 550.000,00 e para duas unidades de extração de 400 L em série, o investimento inicial em equipamentos e instalações seria de US\$ 2.000.000,00, segundo dados de Rosa; Meireles, (2005).

De acordo com a Tabela 11, os menores valores para CS são encontrados no tempo de 60 minutos de extração, ou seja, no ponto onde a ESC concentra a maior fração mássica de OE com a menor demanda de custos operacionais na condição de 150 bar e 50°C, para os dois volumes de extratores escolhidos, sendo visualizado na Figura 36.

Para a Tabela 12, os melhores valores de CS são encontrados no tempo de 30 minutos de extração para a condição de 250 bar e 30°C para os dois volumes de extratores escolhidos, o que pode ser visualizado na Figura 37.

Tabela 12 Custos estimados para implementação de unidade de ESC para obtenção de extrato de folhas de eucalipto na condição de 250 bar e 30°C

Extrator	Tempo (min)	FRI (US\$/ano)	CMP (US\$/ano)	COP (US\$/ano)	CUT (US\$/ano)	CUM (US\$/ano)	CS (US\$/kg _{óleo})
2x100L	30	167.037,00	112.132,25	120.200,67	169.158,79	568.528,73	5,28
	60	167.037,00	102.745,58	120.200,67	169.158,79	559.142,06	8,24
	90	167.037,00	99.052,25	120.200,67	169.158,79	556.013,17	11,77
	120	167.037,00	98.052,25	120.200,67	169.158,79	554.448,72	15,05
	150	167.037,00	97.113,58	120.200,67	169.158,79	553.510,06	18,04
	180	167.037,00	96.487,80	120.200,67	169.158,79	552.884,28	21,03
	210	167.037,00	95.040,82	120.200,67	169.158,79	552.437,30	23,76
	240	167.037,00	95.705,58	120.200,67	169.158,79	552.102,06	27,04
2x400L	30	607.407,40	168.452,27	120.200,67	169.158,79	1.065.219,11	2,47
	60	607.407,40	130.905,59	120.200,67	169.158,79	1.027.672,43	3,78
	90	607.407,40	118.390,03	120.200,67	169.158,79	1.015.156,87	5,37
	120	607.407,40	112.132,25	120.200,67	169.158,79	1.008.899,05	6,85
	150	607.407,40	109.377,58	120.200,67	169.158,79	1.005.144,42	8,19
	180	607.407,40	105.874,47	120.200,67	169.158,79	1.002.641,31	9,53
	210	607.407,40	104.086,53	120.200,67	169.158,79	1.000.853,37	10,76
	240	607.407,40	102.745,58	120.200,67	169.158,79	999.512,42	12,24

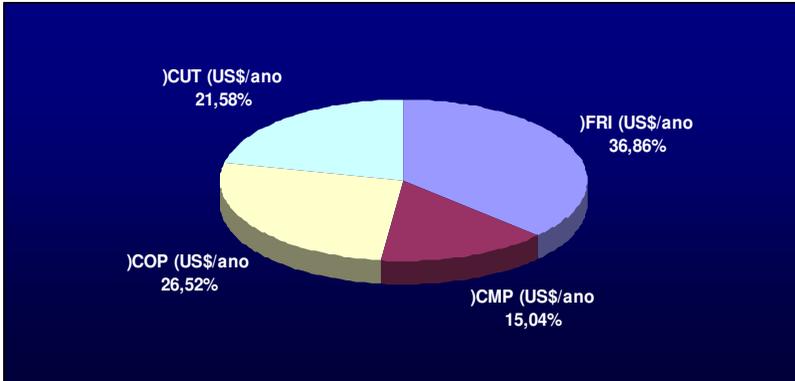


Figura 30 Diagrama da divisão de custos estimados para 2 extratores de 100 L de ESC para obtenção de extrato de folhas de eucalipto na condição de 150 bar e 50°C e 60 minutos de processo

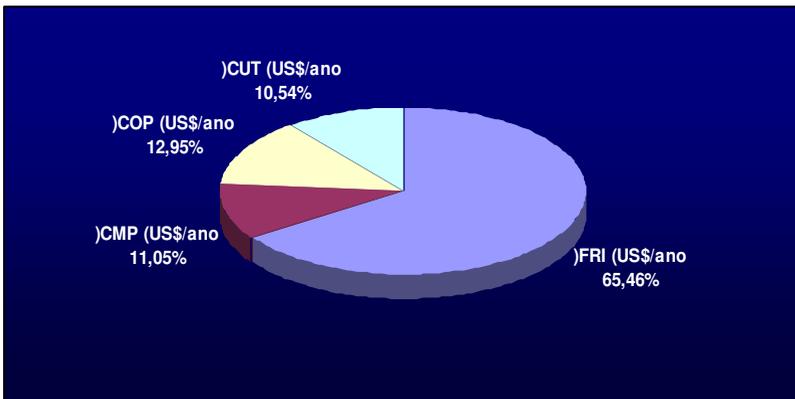


Figura 31 Diagrama da divisão de custos estimados para 2 extratores de 400 L de ESC para obtenção de extrato de folhas de eucalipto na condição de 150 bar e 50°C e 60 minutos de processo

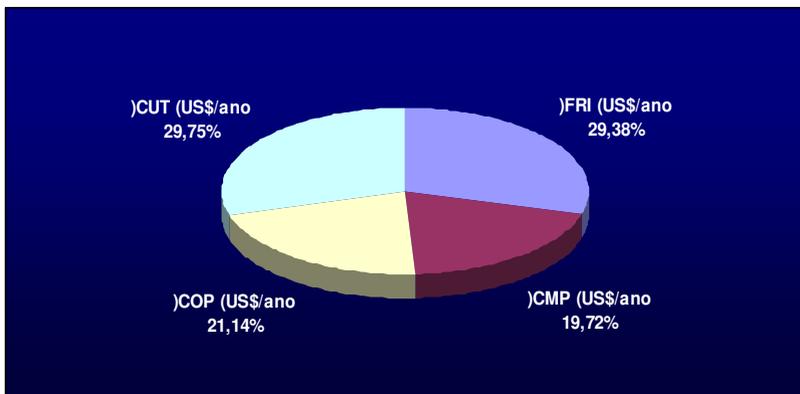


Figura 32 Diagrama da divisão de custos estimados para 2 extratores de 100 L de ESC para obtenção de extrato de folhas de eucalipto na condição de 250 bar e 30°C e 30 minutos de processo

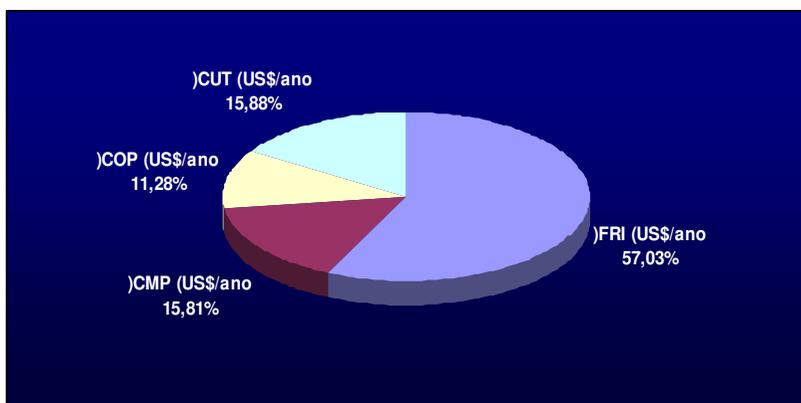


Figura 33 Diagrama da divisão de custos estimados para 2 extratores de 400 L de ESC para obtenção de extrato de folhas de eucalipto na condição de 250 bar e 30°C e 30 minutos de processo

De acordo com as Figuras 32 – 35, o fator FRI é o principal responsável pelos custos de implementação das unidades de ESC, com exceção das unidades de 100 L na condição de 250 bar e 30°C. Este fator tende a ser maior quando o volume dos extratores também é maior, sendo o fator majoritário das duas condições quando os volumes dos dois extratores é de 400 L. Os fatores CUT e COP são maiores quando os volumes dos extratores são de 100 L, tendo considerável queda na divisão quando os volumes apresentam 400 L.

Segundo Mezzomo (2008), o FRI representa a maior parte do custo do processo por se tratar de um equipamento de alto custo devido à complexidade do processo e do material constituinte. O alto investimento se dá principalmente pela necessidade de serem feitos de material resistente às altas pressões empregadas no processo e necessitarem de um bom aporte de energia para o bom funcionamento da bomba, com água de resfriamento e vapor saturado, implicando juntamente com o fator CUT e COP.

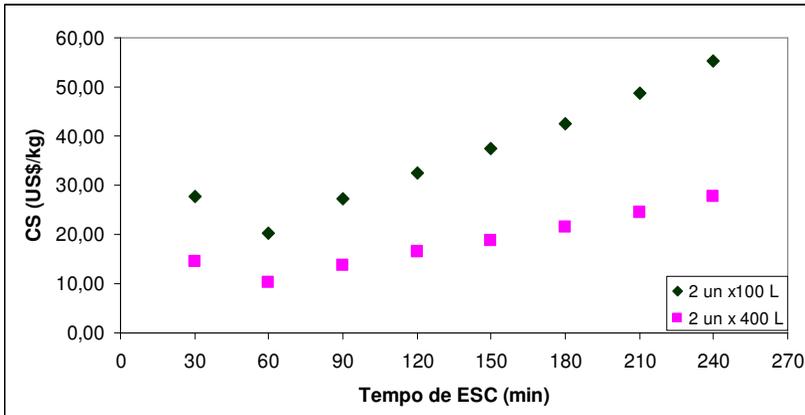


Figura 34 Custo específico do extrato de folhas de eucalipto em função da condição 150 bar e 50°C

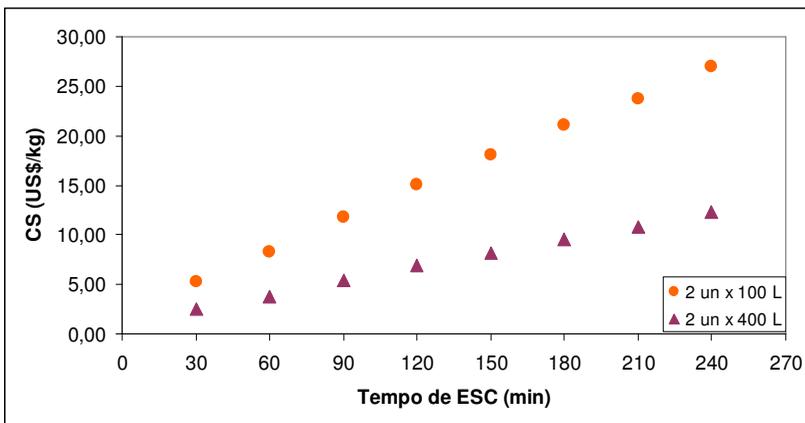


Figura 35 Custo específico do extrato de folhas de eucalipto em função da condição 250 bar e 30°C

De acordo com as Figuras 36 e 37, os extratores de 400 L apresentaram menores custos específicos nas duas condições avaliadas. Na condição de 150 bar e 50°C, o menor valor foi atingido entre o tempo de 50 e 60 minutos de ESC. Na condição de 250 bar e 30°C, o menor valor foi atingido até o tempo de 30 minutos de ESC.

O menor custo é atingido nos menores tempos devido ao comportamento característico da curva de extração que, a partir das 3 horas finais, apresenta pontos experimentais na etapa FER, que é difusional e praticamente linear.

Segundo Mattoso (2010), o preço de mercado do óleo essencial de eucalipto, onde os componentes majoritários sejam o cineol, citronelal e eucaliptol, é estimado em US\$ 7,41/L de óleo. O valor é confrontado por LINAX (2010), que informa que o preço de mercado para venda do óleo essencial de eucalipto, dependendo de sua composição, pode variar de US\$ 7,00 a US\$ 30,00.

Sendo assim é possível afirmar que o processo de ESC para obtenção de extrato de folhas de eucalipto é mais viável utilizando entre 30 e 60 minutos de ESC e 2 equipamentos de 400 L em série na condição de 250 bar e 30°C, obtendo um custo específico de manufatura de US\$ 3,78.

5.4 Caracterização dos extratos obtidos

5.4.1 Atividade antioxidante

A análise de DPPH promoveu a avaliação dos antioxidantes como possíveis sequestradores de radicais livres.

O valor de EC_{50} foi calculado na faixa de concentração de 5 a 250 $\mu\text{g/mL}$, a qual pertence à concentração de 50% de atividade antioxidante (AA), por regressão linear, já que a curva de concentração de extrato ($\mu\text{g/mL}$) versus AA (%) assemelha-se a uma linha reta nessa faixa, como pode ser visto no Apêndice N. Quanto maior o decréscimo da absorbância, mais potente é a atividade antiradical do composto.

A Tabela 13 apresenta os resultados de AA (%) e os valores de EC_{50} ($\mu\text{g/mL}$) dos extratos de folhas de eucalipto, obtidos através de hidrodestilação, Soxhlet e para as condições de ESC.

Tabela 13 Dados de atividade antioxidante (AA%) e EC₅₀ (µg/mL) obtidos no extrato de folhas de eucalipto

Condição	AA (%) ⁽¹⁾	EC ₅₀ (µg/mL)
Hidrodestilação		
-	0,3 ^d ± 0,1	1.182 ± 12
Soxhlet		
Acetato de etila	30,5 ^g ± 0,4	162 ± 3
Água	8,3 ^b ± 0,7	719 ± 10
Diclorometano	11 ^e ± 1	300 ± 24
Etanol	38,8 ^h ± 0,8	59,4 ± 0,7
Hexano	15,1 ^c ± 0,4	272 ± 8
ESC [P(bar / T(°C))]		
150/30	21,6 ^f ± 0,4	212 ± 10
250/30	18,8 ^a ± 0,1	208 ± 2
200/40	17 ^a ± 2	214 ± 23
150/50	7,3 ^b ± 0,3	713 ± 150
250/50	16,7 ^{ac} ± 0,1	216 ± 9

⁽¹⁾ Letras iguais não diferem significativamente (p > 0,05)

Segundo a ANOVA houve diferença significativa entre os valores de AA (%) para alguns dos solventes ou condições de extração empregadas (p = 0,000001). O maior valor de AA (%) obtido foi na técnica de extração Soxhlet utilizando o solvente etanol sendo o mesmo de 38,8 ± 0,8%. Este valor foi significativamente diferente de todos os outros valores obtidos para AA(%).

O Teste de Tukey apontou quais foram os solventes ou condições que obtiveram valores estatisticamente iguais, sendo que quando são comparados os valores de AA (%) obtidos pelos extratos de Soxhlet, todos apontam diferenças significativas entre si e quando comparados os valores de AA (%) obtidos pelos extratos de ESC, três condições são estatisticamente iguais: a condição de 250 bar e 30 °C que apresentou um valor de 18,8 ± 0,1%; a condição de 200 bar e 40°C que apresentou um valor de 17,5 ± 1,7% e a condição de 250 bar e 50°C que apresentou um valor de 16,7 ± 0,1%.

O menor valor obtido para AA (%) foi na técnica de extração de hidrodestilação, onde foi encontrado um valor de 0,34 ± 0,11%.

A Figura 37 demonstra os valores de AA (%) obtidos e seus respectivos valores de EC₅₀.

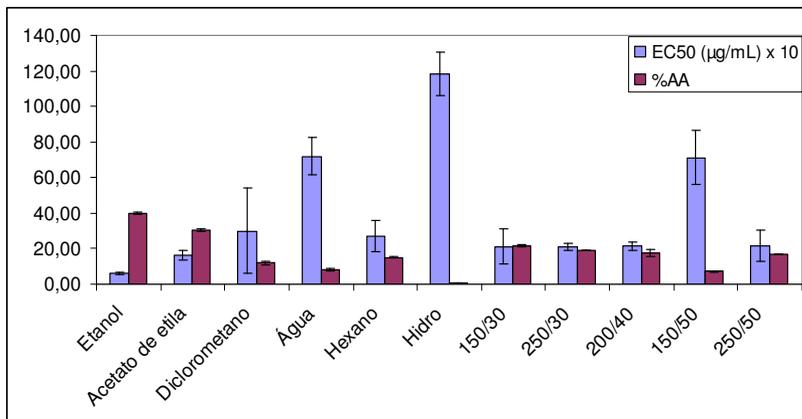


Figura 36 Valores obtidos para AA (%) e EC₅₀ dos extratos de folhas de eucalipto

Segundo a Figura 37, as atividades antioxidantes dos extratos obtidos por ESC com CO₂ puro foram maiores nas temperaturas de 30°C e 40°C. Porém, o maior valor para AA (%) foi obtido com o solvente etanol no processo de extração Soxhlet, onde a temperatura do processo é realizado com altas temperaturas. A pressão de operação não parece ter exercido influência nos resultados de AA (%), visto que os valores obtidos em maiores pressões foram menores do que os valores obtidos em pressões menores.

Na avaliação da AA (%) obtida nos extratos de Soxhlet, a polaridade do solvente também não foi um fator decisivo, pois o maior valor obtido foi com o solvente etanol, de polaridade média. Solventes com polaridades muito altas, como a água, e com polaridades muito baixas, como o hexano, não obtiveram bons resultados de AA (%).

Para os valores de EC₅₀ apresentados pelas extrações com Soxhlet observa-se que apenas o etanol apresentou valor abaixo de 100 (µg/mL) de extrato, ou seja, para inibir 50% a atividade dos radicais livres, a quantidade de extrato necessária é inferior a 100 (µg/mL). Comparando esse valor com os obtidos por extratos de ESC, conclui-se que os extratos obtidos por Soxhlet são antioxidantes mais potentes.

As extrações com etanol e acetato de etila apresentaram maiores valores de atividade antioxidante na extração Soxhlet. A presença de compostos fenólicos em espécies da família *Myrtaceae*, da qual faz parte o gênero *Eucalyptus*, é relatada em estudos como o de Chang,

(2000) e Gomes; Canhoto, (2003). Os extratos obtidos com diclorometano e CO₂ por ESC apresentaram valores significativos, porém menores do que com outros solventes. Já os extratos obtidos por água e por hidrodestilação não apresentaram bons resultados de atividade antioxidante. A alta temperatura utilizada no processo por um longo período de tempo, a alta polaridade deste solvente e possíveis hidrólises de ésteres e decomposição de outros compostos podem ter degradado os compostos de interesse.

Os valores obtidos para AA(%), com exceção a do extrato obtido por hidrodestilação, mostram que os extratos de folhas de eucalipto possuem potencial atividade antioxidante. Existe uma grande variação entre os diferentes compostos na sua efetividade como antioxidantes. Em vista da grande diversidade entre o número de ensaios (metodologias) antioxidantes disponíveis, os resultados de um único ensaio podem apenas surgir a propriedade antioxidante do extrato. Logo, vários ensaios são necessários para assegurar uma melhor comparação de resultados e provar assim a propriedade antioxidante de um extrato (KANATT; SHANDER; CHARMA, 2005).

5.4.2 Teor de compostos fenólicos

Nas análises com o reagente Folin-Ciocalteu as absorvâncias lidas foram relacionadas com a concentração existente na amostra através da curva de ácido gálico mostrada na Figura 38. A quantidade de fenóis totais é representada pela quantidade de gramas equivalentes de ácido gálico pela quantidade de gramas da amostra.

O tipo de extração empregada e sua respectiva condição experimental determinaram a ordem de AA encontrada no grupo de amostras analisadas. A diversidade e complexidade das misturas naturais de compostos fenólicos no extrato herbáceo tornam difícil a caracterização e comparação de suas atividades antioxidantes (Zheng; Wang, 2001). A Tabela 14 apresenta os valores de compostos fenólicos totais presentes nos extratos de folhas de eucalipto obtidos através das técnicas de extração empregadas.

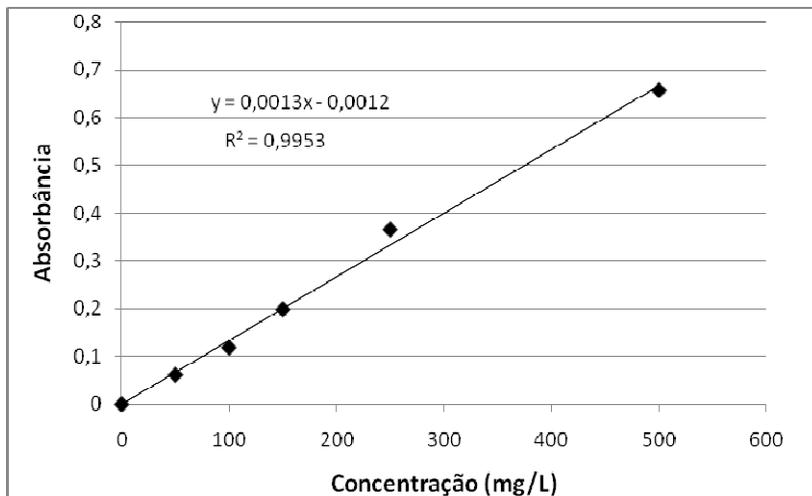


Figura 37 Curva padrão de ácido gálico

A Tabela 14 mostra que o extrato obtido através de Soxhlet utilizando etanol como solvente apresentou o maior valor de concentração de compostos fenólicos, sendo este de $103,0 \pm 5,5$ mg/g. O menor valor observado pelo extrato obtido por ESC na condição de 150 bar e 50°C , sendo este de $26,5 \pm 0,2$ mg/g. Os maiores valores de concentração de compostos fenólicos foram observados nos extratos obtidos por extração Soxhlet pelos solventes etanol, água e acetato de etila. Apesar de não terem apresentado grande potencial de atividade antioxidante, os extratos obtidos por hidrodestilação e por Soxhlet utilizando água como solvente apresentaram boa concentração de compostos fenólicos. Já os extratos obtidos por ESC nas diferentes condições empregadas apresentaram concentração de compostos fenólicos maiores nos extratos obtidos com maiores pressões.

Segundo a ANOVA houve diferença significativa entre os valores de concentração de compostos fenólicos em vários extratos obtidos ($p = 0,000001$). O Teste de Tukey apontou que os extratos obtidos por extração Soxhlet utilizando diclorometano e hexano e o extrato obtido por ESC na condição de 200 bar e 40°C apresentaram resultados estatisticamente iguais. Da mesma forma os extratos obtidos por hidrodestilação e por ESC na condição de 150 bar e 50°C . Sendo assim, percebe-se que os extratos possuem potencial concentração de compostos fenólicos independente da forma de obtenção dos mesmos.

Tabela 14 Teor de compostos fenólicos presentes nos extratos de folhas de eucalipto obtidos através das técnicas de extração empregadas

Extratos	Compostos fenólicos (mg/g) ⁽¹⁾
Hidrodestilação	31,8 ^b ± 0,9
Soxhlet – Água	99,9 ^e ± 1,4
Soxhlet – Acetato de etila	80,95 ^f ± 0,007
Soxhlet – Diclorometano	62,2 ^a ± 1,2
Soxhlet – Etanol	103,0 ^e ± 5,2
Soxhlet – Hexano	68,6 ^a ± 1,4
ESC – 150 bar e 30°C	50,8 ^{cd} ± 3,8
ESC – 250 bar e 30°C	47,8 ^e ± 4,1
ESC – 200 bar e 40°C	63,7 ^a ± 0,2
ESC – 150 bar e 50°C	26,5 ^b ± 0,2
ESC – 250 bar e 50°C	56,0 ^d ± 4,1

⁽¹⁾ Letras iguais não diferem significativamente ($p > 0,05$).

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

5.4.3 Teste de inibição de peroxidase em vegetais

O teste de inibição de peroxidase em vegetais foi determinado através da verificação da atividade de peroxidase em alfaces e posterior comparação com ácido ascórbico, gerando a porcentagem de inibição. A Tabela 15 apresenta os valores encontrados para inibição da ação da enzima peroxidase em alface através da aplicação dos extratos de folhas de eucalipto obtidos pelas técnicas de extração apresentadas.

Tabela 15 Atividade de peroxidase e porcentagem de inibição de peroxidase em alface através de aplicação do extrato de folhas de eucalipto obtido por diferentes técnicas de extração

Extrato	Atividade da Peroxidase	% de Inibição
Hidrodestilação	106 ± 16	0,00
Soxhlet Etanol	72 ± 12	27,5
Soxhlet Água	32 ± 14	67,9
Soxhlet Acetato de Etila	87 ± 13	12,5
Soxhlet Hexano	84 ± 14	15,8
Soxhlet Diclorometano	92 ± 14	7,8
ESC 150 bar/30°C	97 ± 17	3,3
ESC 250 bar/30°C	67 ± 13	32,6
ESC 200 bar/40°C	82 ± 19	17,6
ESC 150 bar/50°C	118 ± 13	0,00
ESC 250 bar/50°C	93 ± 9	7,0
Ácido Ascórbico	40 ± 14	60,0

A maior porcentagem de inibição de peroxidase em alface foi obtida pelo extrato obtido por Soxhlet utilizando água como solvente com um valor de inibição de 67,9%. O valor foi maior do que o extrato utilizado como comparação, o ácido ascórbico, que possui poder de inibição de 60,0%. Porém, o extrato obtido através de hidrodestilação não apresentou poder de inibição apesar de também utilizar água como solvente.

Outros extratos apresentaram bom índice de inibição da peroxidase como o extrato obtido por ESC nas condições de 250 bar e 30°C (32,6%) e o extrato obtido através de Soxhlet utilizando etanol como solvente (27,5%). Além do extrato obtido por hidrodestilação, o extrato obtido por ESC nas condições de 150 bar e 50°C não apresentou poder de inibição da peroxidase (0,00%). Os extratos obtidos por Soxhlet utilizando diclorometano como solvente, ESC nas condições de 150 bar e 30°C e 250 bar e 50°C apresentaram baixos índices de poder de inibição da peroxidase em alface (< 10%).

Filho; Vieira, (2002), relatam que a peroxidase é amplamente encontrada em matrizes vegetais e é formada através de interações moleculares com os compostos fenólicos. Sendo assim, sua capacidade

de interagir com outros compostos fenólicos a fim de formar novas reações, como a de inibição, é muito maior quando um componente possui considerável teor de compostos fenólicos em sua composição.

O ácido ascórbico é amplamente utilizado como inibidor de escurecimento enzimático em alimentos pela indústria de processados em geral como batatas, sucos e vegetais. Ao atingir valores próximos e até maiores de inibição da ação da enzima em alface, os extratos de eucalipto mostram ser potenciais inibidores da enzima peroxidase em alimentos.

6. CONCLUSÕES

A aplicação de tecnologia supercrítica para obtenção do extrato de folhas de eucalipto provenientes do processamento da madeira apresentou vantagens sobre outras técnicas convencionais de extração quanto a não geração de resíduo e maior rendimento global de extração na condição de 250 bar e 30°C. A espécie de eucalipto identificada apresentou potencial antioxidante com a presença de compostos fenólicos em seus extratos, sendo capaz, também, de inibir reações enzimáticas não desejáveis em alimentos, como a peroxidase. O solvente orgânico etanol apresentou bom rendimento global de extração o que o torna um potencial co-solvente no processo de ESC.

O Modelo Logístico de Martínez et al (2003) apresentou o melhor ajuste aos dados experimentais nas curvas de extração obtidas, tornando-se o mais indicado para estudos de ampliação de escala do processo.

A implementação de uma unidade de ESC para obtenção de extrato de eucalipto é um processo viável economicamente tendo o seu menor custo específico de produção de 1 kg de extrato entre 30 e 60 minutos de operação na condição de maior rendimento.

7. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

- Estudo da influência de parâmetros de processo como quantidade de massa a ser extraída e vazão do solvente a ser aplicada.
- Teste de condições experimentais de ESC com maiores pressões para verificar se o rendimento global de extração é maior.
- Verificação do rendimento do óleo essencial através de ESC através da aplicação do co-solvente etanol, com o objetivo de se obter maior quantidade de óleo.
- Identificação do perfil químico do óleo essencial obtido e dos componentes majoritários para comparação com óleos de outras espécies e verificação do seu valor agregado.
- Aplicação de técnicas de fracionamento do extrato de folhas de eucalipto com o objetivo de identificar compostos de interesse para a indústria de alimentos.
- Aplicação do extrato como ingrediente real em alimentos através de técnicas de separação de compostos aromáticos presentes no óleo.

REFERÊNCIAS

AMBIENTE BRASIL. Cultivos florestais. Disponível em:
<http://www.ambientebrasil.com.br/composer.php3?base=/florestal/index.html&conteudo=/florestal/eucalipto.html> Acesso em 14-Nov.2008.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Disponível em:
www.anvisa.gov.br Acesso em 10-Nov-2010.

AOAC. (ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS).
Official methods of analysis. 15.ed. Washington: AOAC, 1990.

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

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

BANDONIENE, D.; MURKOVIC, M. On line HPLC-DPPH screening method for evaluation of radical scavenging phenols extracted from apples (*Malus domestica* L). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, n. 50. p. 2482-2487, 2002.

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

BISCAIA, D. **Comparação entre tecnologia supercrítica e técnicas convencionais de extração para obtenção de extratos de própolis avaliados através de suas atividades biológicas**. 142 p. Dissertação de mestrado submetida ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos da Unversidade Federal de Santa Catarina. 142 p. Florianópolis, 2007.

BIZZO, H. R.; HOVELL, A. M. C.; REZENDE, C. M. Óleos essenciais no Brasil: aspectos gerais, desenvolvimento e perspectivas. **Química Nova**. v. 32, n. 3. São Paulo, 2009.

BOLAND, M.J.; HANKS, J.F.; REYNOLDS, P. H. S.; BLEVINS, D. G.; TOLBERT, N. E.; SCHUBERT, K. R. **Planta**. n. 155. p. 45, 1982.

BRAGA, H. C. **Os óleos essenciais do Brasil**, Estudo econômico. Instituto de óleos, 158 p. Rio de Janeiro, 1971.

BRASIL ESCOLA. Disponível em:

<http://www.brasilecola.com/brasil/o-reflorestamento-com-eucalipto-no-brasil.htm> Acesso em 29-Set-2010.

BRILHO, R. C. **A destilação de óleos essenciais**. Campinas: CETREC. 20 p. 1967.

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

BUSATTA, C. **Caracterização química e atividade antimicrobiana *in vitro* e em alimentos dos extratos de orégano e manjerona**. Dissertação de mestrado submetida ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos da URI – Campus de Erechim. 94 p. Erechim, 2006.

CALAME, J. P.; STEINER, R. Carbon dioxide in the flavour and perfumery industry. **Chemistry and Industry**. n. 12. p. 399, 1982.

CAMPOS, A. D.; SILVEIRA, E. M. L. Metodologia para a determinação da peroxidase e da polifenol oxidase em plantas. **Comunicado técnico do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**. Brasília, 2003.

GOMES, F.; CANHOTO, J. Micropropagation of *Eucalyptus nitens* Maiden (Shining gum). **In Vitro Cellular and Developmental Biology**. v. 39 (3), p. 316-321, 2003.

CANZI, E. F. RODRIGUES, M. B. PETRIKOSKI, A. P. TEIXEIRA, S. D. **Caracterização química de óleo essencial de *Eucalyptus grandis* obtido por hidrodestilação**. XIV Seminário de Iniciação Científica e Tecnológica da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – XIV SICITE UTFPR. Anais do congresso, 2009.

CASTRO, N. E. A.; CARVALHO, G. J.; CARDOSO M. G.; PIMENTEL, F. A.; CORREA, R. M.; GUIMARÃES, L. G. L. Avaliação de rendimento e dos constituintes químicos do óleo essencial de folhas de *E. citriodora* Hook. colhidas em diferentes épocas do ano em municípios de Minas Gerais. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**. v. 10, n. 1, p. 70-75, 2008.

CHANG, R. **Análise dos compostos fenólicos da madeira do *E. grandis* e do *E. urophylla* do triângulo mineiro**. Dissertação de mestrado submetida ao Programa de Pós-Graduação de Química da Universidade Federal de Uberlândia. 114 p. Uberlândia, 2000.

CHEST OF BOOKS. Disponível em www.chestofbooks.com Acesso em 10-Nov-2010.

COELHO, L. A. F.; OLIVEIRA, J. V.; PINTO, J. C. Modelagem e simulação do processo de extração supercrítica do óleo essencial de alecrim. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v. 17. n. 4, 1997.

CONCEIÇÃO. Céu Nossa Senhora da Conceição – Plantas Mediciniais. Disponível em: www.ceunossasenhoraacdaconceicao.com.br/artigos/plantas/eucalipto. Acesso em 16-Nov-2010.

CORRÊA, C.M.C.; MALINOVSKI, J.R.; ROLOFF, G. Bases para o planejamento de rede viária em reflorestamento no Sul do Brasil. **Floresta**, v. 36, n. 2, p. 277-286, 2006.

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

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

DJERIDANE, A.; YOUSFI, M; NADJEMI, B.; BOUTASSONA, D.; STOCKER, P.; VIDAL, N. Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. **Food Chemistry**. v. 97, p. 654-660, 2006.

- DORAN, J. C. Commercial sources, uses, formation, and biology. In: BOLAND, D. J.; BROPHY, J. J.; HOUSE, A. P. N. ***Eucalyptus* leaf oils, use, chemistry, distillation and marketing**. Melbourne: Inkata, p.11-28, 1991.
- DORMAN, H. J. D.; KOSAR, M.; KAHLOS, K.; HOLM, Y.; HILTUNEN, R. Antioxidant properties and composition of aqueous extracts from *Mentha* species: Hybrids, Varieties and Cultivars. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. Washington, v. 51, n. 16. p. 4563-4589, 2003;
- EMBRAPA: Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Disponível em:
<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Eucalipto/CultivodoEucalipto/index.htm> Acesso em 26-Nov-2008.
- FILIPPI, R. P. CO₂ as a solvent: application to fats, oils and other materials. **Chemical Industry**, v. 19(6): p. 390-394, 1982.
- FRANCO, J. NAKASHIMA, T. FRANCO, L. BOLLER, C. Composição química e atividade antimicrobiana *in vitro* do óleo essencial de *Eucalyptus cineea* F. Mull. ex Benth., *Myrtaceae*, extraído em diferentes intervalos de tempo. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v. 15(3). 191-194, jul/set, 2005.
- FRANICH, R. A. Essential oil composition of juvenile leaves from coppiced *Eucalyptus nitens*. **Phytochemistry**. n. 25. p. 245–246, 1986.
- FUKUMOTO, L. R.; MAZZA, G. Assessing antioxidant and prooxidant activities of phenolic compounds. **Journal of Agriculture Food Chemistry**, v. 48, n. 8, p. 3597-3604, 2000.
- GÓMEZ, M. E. D. B. **Modulação da composição de ácidos graxos poli-insaturados ômega 3 de ovos e tecidos de galinhas poedeiras através de dieta**. Tese de doutorado submetida ao Programa de Doutorado em Ciência dos Alimentos – Área de Bromatologia da Universidade de São Paulo, 122 p. São Paulo, 2003.
- GOMIDE, R. **Operações com sistemas sólidos granulares**. v. 1. Catalogação na Publicação Câmara Brasileira do Livro, 1983.

HILI, P.; EVANS, C.S.; VENESS, R.G. Antimicrobial action of essential oils: the effect of dimethylsulphoxide on the activity of cinnamon oil. **Letters in Applied Microbiology** n. 24. p.269-275, 1997.

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

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz: métodos químicos e físicos para análises de alimentos**. São Paulo, IMESP, 3^a ed. v. 1, p. 533, 1985.

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

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

LASSAK, E.V. The Australian *Eucalyptus* oil industry, past and present. **Chemistry in Australia**, v.55, p.396-398, 1988.

LINAX. Óleos essenciais naturais e tecnologias sustentáveis. Disponível em: <http://www.linax.com.br/index.php?page=empresa>. Acesso em 01-Dez-2010.

MACIEL, H. P. F.; GOUVÊA, C. M. C. P.; PASTORE, G. M. Extração e caracterização parcial de peroxidase de folhas de *Copaifera langsdorffii* Desf. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v. 27(2), p. 221-225, 2007.

MARTÍNEZ, J.; MONTEIRO, A.; 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. 1057-1063, 2003.

MARTÍNEZ, J.; ROSA, P. T. V.; MENUT, C.; LEYEDET, 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.

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.** Tese de doutorado submetida ao Programa de Doutorado em Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas, 190 p. Campinas, 2005.

MATOS, F. J. A.; **Farmácias vivas: sistema de utilização de plantas medicinais projetado para pequenas comunidades.** 4.ed. Universidade Federal do Ceará. Fortaleza, 2002.

MATOS, F. J. A. **Constituintes químicos ativos e propriedades biológicas de plantas medicinais brasileiras.** 1 ed. Universidade Federal do Ceará. Fortaleza, 2004.

MATTOSO, E. **O mercado interno de óleos essenciais: desafios e oportunidades.** Disponível em: <http://www.ivsboe.padetec.ufc.br/palestras/mattoso.pdf>. Acesso em 01-Dez-2010.

MENACKER, A.; KRAVETS, M.; KOEL, M.; ORAV, A. Identification and characterization of supercritical fluid extracts from herbs. **Comptes Rendus Chimie.** n. 7. p. 629-633, 2004.

MEZZOMO, N. **Óleo de amêndoa de pêssego: avaliação da técnica de extração, da qualidade dos extratos e parâmetros para ampliação de escala.** Dissertação de mestrado submetida ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos da Universidade Federal de Santa Catarina, 136 p. Florianópolis, 2008.

MORROW, P. A.; FOX, L. R. Effects of variation in *Eucalyptus* essential oil yield on insect growth and grazing damage. **Oecologia.** n. 45, p. 209-219, 1980.

MOYLER, D. Extraction of essential oil with carbon dioxide. **Flavour and Fragrance Journal.** p. 235-247, 1993.

MUKHOPADHYAY, M. **Natural extracts using supercritical carbon dioxide.** USA: CRC Press, 2000.

NACZK, M; SHAHIDI, F. Extraction and analysis of phenolics in food. **Journal of Chromatography A.** n.1054 (1/2). P. 95-111, 2004.

OLIVEIRA, F.; AKISUE, G.; AKISUE, M. K. **Farmacognosia**.
Universidade de São Paulo: São Paulo: Atheneu, 1998.

PESCHEL, W.; SÁNCHEZ-RABANEDA, F.; DIEKMANN, W.;
PLESCHER, A.; GARTZIA, I.; JIMÉNEZ, D.; LAMUELA-
RAVENTÓS, R.; BRUXADERAS, S.; CODINA, C. An industrial
approach in the search of natural antioxidants from vegetable and fruit
wastes. **Food Chemistry**. v. 97, p. 137-150, 2005.

PENFOLD, A. R.; WILLIS, J. L. **The *Eucalyptus* - botany,
cultivation, chemistry and utilization**. London: Leonard Hill, 550p,
1961.

PEREIRA, M. Formação de população base de *Eucalyptus citriodora*
Hook. **Brasil Florestal**, v.62, p.12-16, 1987.

PEREIRA, M. A. A.; GHERINI, C.; SHOLL, W. **Comparativo do
rendimento da extração do óleo essencial obtido de folhas de
Eucalyptus grandis destinada a produção de lâminas de madeira
com a espécie *Eucalyptus citriodora* destinados a produção de óleo
essencial**. Trabalho de Conclusão de Curso submetido ao Programa de
Pós-Graduação em Óleos Essenciais da Pontifícia Universidade Católica
do Rio Grande do Sul, 16 p. Porto Alegre, 2007.

PORTA, G. D.; PORCEDDA, S.; MARONGIU, B.; REVERCHON, E.
Isolation of Eucalyptus oil by supercritical fluid extraction. **Flavour
and Fragrance Journal**. v. 14, p. 214-218, 1999.

QUÍMICA ESSENCIAL. Livraria online. Disponível em:
<http://quimicaessencial.blogspot.com/2008/11/os-mtodos-de-extrao.html>
Acesso em 17-Ago-2010

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

REVERCHON, E.; ADAMI, R.; CAPUTO, G. Supercritical assisted
atomization: performance comparison between laboratory and pilot
scale. **Journal of Supercritical Fluids**. V. 37, p. 298-306, 2006.

RIBEIRO, E. T. **Emprego de técnicas de extração a alta e baixa pressão para obtenção de polifenóis antioxidantes do subproduto agroindustrial da maçã.** Dissertação de mestrado submetida ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos da Universidade Federal de Santa Catarina, 133 p. Florianópolis, 2007.

RIZVI, S. S. H. **Supercritical fluid processing of food and biomaterials.** Blackie Academic & Professional, 1994.

RODIGHERI, H.R.; **Viabilidade econômica de plantios florestais solteiros e de sistemas agroflorestais.** Colombo, PR: Embrapa. Centro Nacional de Pesquisas de Florestas, (Comunicado Técnico, 22). P. 1-4. 1998.

RODRIGUES, V. M. **Efeito da vazão do solvente na cinética de extração e na qualidade do óleo do Cravo-da-Índia (*Eugenia caryphyllus*) obtido com CO₂ liquefeito.** Dissertação de mestrado submetida ao Programa de Mestrado da Universidade Estadual de Campinas, 111 p. Campinas, 1996.

RODRIGUES, V. M.; MEIRELES, M. A. A.; MARQUES, M. O. M. **Determination of the solubility of clove essential oil in SC-CO₂: a standardization of the dynamic method.** In Proceedings of the 5th international symposium on supercritical fluids. Westin Atlanta, USA, 2000.

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

ROSA, P. T.; 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, 2005.

SCHNEIDER, G. M. Physicochemical aspects of fluids extractions. **Fluid phase Equilibrium.** v. 10. p. 141, 157, 1983.

SHAHIDI, F.; NACZK, M. **Food phenolics: sources, chemistry, effects and applications.** Lancaster: Technomic; Compfenol, 1995.

SHERWOOD, T. K. The drying of solids II. **Industrial and Engineering Chemistry**, v. 22, n. 10, p. 976-980, 1929.

SILVA, P. H. M.; BRITO, J. O. JUNIOR, F. G. S. Potential of eleven Eucalyptus species for the production of essential oils. **Scientia Agricola**. v. 63, n. 1, 0. 85-89, jan-fev, 2006.

SIMÕES, C. M. O. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5.ed. ver. Universidade Federal do Rio Grande do Sul/Universidade Federal de Santa Catarina: UFRGS/UFSC. PortoAlegre/Florianópolis, 2004.

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.

TURTON, R. **Chemical Engineering Design, Problem-solving Strategy**, Chem. Eng. Education, 46, N. 1, 44-49, 1998.

VIEIRA, I. G. **Estudos caracteres silviculturais e de produção de óleos essenciais de progenies de *Corymbia Citriodora* Hook.** Dissertação de mestrado submetida ao Programa de Mestrado da Escola de Ensino Superior Luiz de Queiróz, 77 p. Piracicaba, 2004.

VITTI, A. M. S.; BRITO, J. O. **Óleo essencial de eucalipto**. 1 ed. Escola Superior Luiz de Queiróz. Piracicaba, 2003.

WANG, H.; WANG, Z.; XIE, P. Genetic and environmental variations of eucalypt leaf oils. In: IUFRO Conference on Siviculture and improvement of Eucalyptus. Salvador, BA. **Anais**. v.1, p.213-215, 1997.

WASICKY, R. Uma modificação do aparelho de Clevenger para extração de óleos essenciais. **Revista Faculdade de Farmácia e Bioquímica**. v. 1, n. 1, p. 77-81. São Paulo, 1963.

WEINHOLD, T. S.; BRESCIANI, L. F. V.; TRIDAPALLI, C. W.; YUNES, R. A.; HENSE, H.; FERREIRA, S. R. S. Polygala cyparissias oleoresin: comparing CO₂ and classical organic solvent extractions. **Chemical Engineering and Processing**. v. 47, p. 109-117, 2008.

WIKISOURCE. Enciclopédia online. Disponível em: http://en.wikisource.org/wiki/1911_Encyclop%C3%A6dia_Britannica/iperonal. Acesso em 29-Nov-2010.

XAVIER, A. **Variabilidade genética de óleo essencial e de crescimento em progênies de meio-irmãos de *Eucalyptus citriodora* Hook.** Dissertação de mestrado submetida ao Programa de Mestrado em Genética da Universidade Federal de Viçosa. 72 p. Viçosa, 1993.

ZHENG, W.; WANG, S. Y. Antioxidant activity and phenolic compound in selected herbs. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 49, n. 11, p. 5165-5170, 2001.

ANEXOS

Anexo I: Laudo de identificação da espécie de eucalipto fornecido pela UFSM



DEPARTAMENTO DE BOTÂNICA

Código	Tipo	Seção	Referência	Plano
074843	Análise	07b-T8	Myrtaceae	AB-25

LAUDO 4.876-09I

Data de recebimento: 27.10.2009

Solicitante: Luis Fernando Wentz Brum/UFSC

Amostra: Galho/ramo/flor/pênculo/foliar/folha ip7/folha ip9

Identificação	Quantificação	Espécie	Sub espécie
Myrtaceae	Comparativa	Eucalyptus	Dives

Santa Maria, 14 de junho de 2010.

Thais do Canto
CRB 13.887

APÊNDICES

Apêndice A: Teste preliminar para verificação do tempo de ESC

- Condição operacional: 150 bar e 30°C

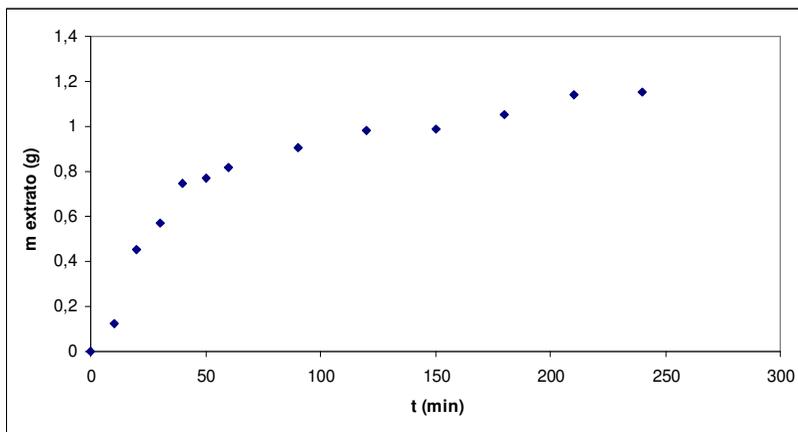


Figura 39 Curva de extração de OE de eucalipto obtida no teste preliminar para verificação do tempo de ESC

Através da análise da curva de extração obtida pode-se perceber que a etapa difusional inicia-se após 10 minutos, ocorrendo um leve acréscimo no rendimento no tempo entre 150 e 200 minutos. Entre os pontos dos tempos 200 e 250 minutos pode-se perceber uma linearidade característica da etapa difusional da curva de ESC.

Apêndice B: Quadros de ANOVA e Teste de Tukey

- ANOVA de hidrodestilação entre rendimento para os 5 tamanhos de partícula:

Quadro 1 ANOVA para tamanhos de partícula e rendimento de hidrodestilação

Univariate Tests of Significance for Rendimento (Spreadsheet2) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition					
	SS	Degr. Of	MS	F	p
Intercept	58,70072	1	58,70072	295,6787	0,000012
Partícula	0,33829	4	0,08457	0,4260	0,785642
Error	0,99264	5	0,19853		

- ANOVA de Soxhlet para rendimento

Quadro 2 ANOVA para rendimentos Soxhlet

Univariate Tests of Significance for Rendimento (Spreadsheet4) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition					
	SS	Degr. of	MS	F	p
Intercept	4869,348	1	4869,348	592,3612	0,000002
Solvente	206,605	4	51,651	6,2834	0,034600
Error	41,101	5	8,220		

- Teste de Tukey de Soxhlet para rendimento

Quadro 3 Teste de Tukey para rendimento Soxhlet

Tukey HSD test; variable Rendimento (Spreadsheet4) Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error: Between MS = 8,2202, df = 5,0000				
	Solvente	Rendimento	1	2
4	4	14,11000		****
5	5	21,50300	****	****
2	2	21,76000	****	****
1	1	25,92000	****	
3	3	27,04000	****	

- ANOVA para rendimento e pressão de ESC

Quadro 4 ANOVA para rendimento e pressão de ESC

Univariate Tests of Significance for Rendimento (%) (Spreadsheet1) Sigma- restricted parameterization Effective hypothesis decomposition					
	SS	Degr. of	MS	F	p
Intercept	3080,265	1	3080,265	90,86820	0,000029
Pressão (bar)	315,249	2	157,624	4,64994	0,031904
Error	237,287	7	33,898		

- ANOVA para rendimento e temperatura de ESC

Quadro 5 ANOVA para rendimento e temperatura de ESC

Univariate Tests of Significance for Rendimento (%) (Spreadsheet1) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition					
	SS	Degr. of	MS	F	p
Intercept	2373,154	1	2373,154	41,65839	0,000349
Temperatura (°C)	153,767	2	76,883	1,34961	0,031783
Error	398,769	7	56,967		

- ANOVA para rendimento e temperatura de ESC

Quadro 6 ANOVA para extratos e %AA

Univariate Tests of Significance for % AA (Spreadsheet21) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition					
	SS	Degr. Of	MS	F	p
Intercept	6356,679	1	6356,679	22415,21	0,000233
Extração	2320,065	10	232,007	818,11	0,003526
Error	3,119	11	0,284		

Tukey HSD test; variable % AA (Spreadsheet21) Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error: Between MS = ,28359, df = 11,000

	Extração	X0	1	2	3	4	5
	1	21,33500				*	
	2	27,25183		*			
	3	16,32000	*	*			
	4	12,94056					*
	5	9,11972					

- Teste de Tukey para extratos e %AA

Quadro 7 Teste de Tukey para extratos e %AA

Tukey HSD test; variable % AA (Spreadsheet21) Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error: Between MS = ,28359, df = 11,000

	Extração	% AA	1	2	3	4	5	6	7	8
	11	0,33500				*				
	2	7,25183		*						
	9	8,32000		*						
	8	11,94056					*			
	10	15,11972								
	1	16,73139	*		*					
	4	17,51444	*							
	5	18,83583	*							
	3	21,64805						*		
	7	30,45708							*	
	6	38,82667								*

- ANOVA para extratos e compostos fenólicos

Quadro 8 ANOVA para extratos e compostos fenólicos

Univariate Tests of Significance for Fenólicos (Spreadsheet14) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition

	SS	Degr. of	MS	F	p
Intercept	87393,62	1	87393,62	23603,83	0,000000
Solvente	12112,44	10	1211,24	327,14	0,000000
Error	40,73	11	3,70		

- Teste de Tukey para extratos e compostos fenólicos

Quadro 9 Teste de Tukey para extratos e compostos fenólicos

Tukey HSD test; variable Fenólicos (Spreadsheet14) Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error: Between MS = 3,7025, df = 11,000

	Solvente	Fenólicos	1	2	3	4	5	6
8	150/50 0,17	26,4767		****				
6	Hidrodest 0,9	31,8433		****				
10	250/30 4,1	47,7617			****			
7	150/30 3,8	50,8050			****	****		
9	250/50 4,1	55,9933				****		
11	200/40 0,17	63,6850	****					
4	Dicloro 1,25	64,2250	****					
5	Hexano 1,4	68,6050	****					
3	Acet 0,007	80,9500						****
2	Água 1,4	99,9133					****	
1	Etanol 5,2	103,0417					****	

Apêndice C: Dados da secagem da matéria-prima**Tabela 16** Dados da secagem da matéria-prima

Secagem		
t (h)	Massa 1 (g)	Massa 2 (g)
1	72,6	42,2
2	81,13	46,23
3	33,13	36,1
4	35,04	37
5	37,5	20,4
6	27,5	19,24
9	95,12	20,16
12	41,9	23,8
15	38,64	21,22
18	75,14	37,57
21	88,1	44,04
24	106,7	53,3
27	105,4	58,6
30	838,09	446,2

Apêndice D: Cálculo da solubilidade da matéria-prima no solvente supercrítico**Tabela 17** Cálculos de solubilidade da matéria-prima no solvente supercrítico

Condição [P (bar)/T°C]	Massa de extrato ⁽¹⁾ (g)	Massa de solvente (g)	Solubilidade (y^* = massa de extrato/massa de solvente)
150/30	0,9	499,8	0,0018
150/50	0,78	458,15	0,0017
200/40	0,74	465	0,0016
250/30	0,95	333,2	0,0028
250/50	0,66	416,5	0,0015

⁽¹⁾ Na etapa CER.

Apêndice E: Valores de massa de extrato obtida e tempo de obtenção para cada curva de cinética de extração

- Condição experimental: 150 bar e 30°C
- Peso amostra: 11,97 g

Quadro 10 Valores de massa de extrato obtida e tempo de obtenção para a condição de 150 bar e 30°C

t (min)	n (g)
10	0,1155
20	0,1633
30	0,3292
40	0,5176
50	0,7446
60	0,8756
90	1,0435
120	1,1938
150	1,2273
180	1,2796
210	1,3775
240	1,5780

- Condição experimental: 250 bar e 30°C
- Peso amostra: 5,02 g

Quadro 11 Valores de massa de extrato obtida e tempo de obtenção para a condição de 250 bar e 30°C

t (min)	n (g)
0	0
10	0,8513
20	1,0110
30	1,0664
40	1,1224
50	1,2803
60	1,3448
90	1,4038
120	1,4591
150	1,5195
180	1,5624
210	1,6121
240	1,6180

- Condição experimental: 200 bar e 40°C
- Peso amostra: 5,068 g

Quadro 12 Valores de massa de extrato obtida e tempo de obtenção para a condição de 200 bar e 40°C

t (min)	n (g)
10	0,0220
20	0,0820
30	0,1930
40	0,2000
50	0,2370
60	0,3000
90	0,3210
120	0,3260
150	0,3537
180	0,3637
210	0,3787
240	0,3857

- Condição experimental: 150 bar e 50°C
- Peso amostra: 10,09 g

Quadro 13 Valores de massa de extrato obtida e tempo de obtenção para a condição de 150 bar e 50°C

t (min)	n (g)
10	0,1090
20	0,2520
30	0,2740
40	0,4700
50	0,5160
60	0,7330
90	0,8090
120	0,8960
150	0,9750
180	1,0250
210	1,0430
240	1,0520

- Condição experimental: 250 bar e 50°C
- Peso amostra: 5,714 g

Quadro 14 Valores de massa de extrato obtida e tempo de obtenção para a condição de 250 bar e 50°C

t (min)	n (g)
10	0,3142
20	0,5282
30	0,6402
40	0,7242
50	0,9363
60	0,9923
90	1,1903
120	1,2733
150	1,3093
180	1,3393
210	1,3843
240	1,4513