

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ - UNIOESTE

CENTRO DE ENGENHARIAS E CIÊNCIAS EXATAS

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO “STRICTO SENSU” EM

ENGENHARIA QUÍMICA – NÍVEL DE MESTRADO

**ESTUDO DA EXTRAÇÃO DO ÓLEO DE PITANGA (*Eugenia uniflora* L.)
VERMELHA E ROXA EMPREGANDO OS SOLVENTES CO₂ E n - PROPANO
EM ALTAS PRESSÕES**

SIMONE BRAGA DA SILVA

Toledo – PR

2012

SIMONE BRAGA DA SILVA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química em cumprimento parcial aos requisitos para obtenção do título de Mestre em Engenharia Química, área de concentração em Desenvolvimento de Processos.

Orientador: Prof. Dr. Fernando Palú

Co-orientador: Prof. Dr. Edson Antônio da Silva

Toledo – PR

2012

Catálogo na Publicação elaborada pela Biblioteca Universitária UNIOESTE/Campus de Toledo.

Bibliotecária: Marilene de Fátima Donadel - CRB – 9/924

S586e Silva, Simone Braga da
Estudo da extração do óleo de pitanga (*Eugenia uniflora L.*) vermelha e roxa empregando os solventes CO₂ e n - propano em altas pressões / Simone Braga da Silva.-- Toledo, PR : [s. n.], 2012.
xviii, 94 f. : il. (algumas color.), figs., tabs.

Orientador: Dr. Fernando Palú
Coorientador: Dr. Edson Antônio da Silva
Dissertação (Mestre em Engenharia Química) -
Universidade Estadual do Oeste do Paraná. Campus de Toledo. Centro de Engenharias e Ciências Exatas.

1. Extração por solvente 2. Extração supercrítica 3. Extração por fluido supercrítico 4. Dióxido de carbono 5. n - Propano 6. Óleo de pitanga - Extração 7. Hidrodestilação 8. Essências e óleos essenciais I. Palú, Fernando, Orient. II. Silva Edson Antônio da, Orient. III. T

CDD 20. ed. 660.284248
661.806

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ
CENTRO DE ENGENHARIA E CIÊNCIAS EXATAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA

Esta é a versão final da dissertação de Mestrado apresentada por Simone Braga da Silva a Comissão Julgadora do Curso de Mestrado em Engenharia Química em 15 de fevereiro de 2012

COMISSÃO JULGADORA



Prof. Dr. Fernando Palú
Orientador



Prof. Dr. Elvio Antonio de Campos
Membro



Prof. Dr. Ricardo Fiori Zara

Membro

DEDICATÓRIA

À minha mãe Clarice

pelo incentivo, amor, carinho e, acima de tudo, pela dedicação e paciência nos momentos em que mais precisei.

À memória eterna do meu pai

Derço Braga da Silva

Saudade!

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela vida.

Aos meus pais, pela vida, pelo exemplo de perseverança a ser seguido, pelo incentivo e apoio.

Aos meus irmãos, Sergio e Marcelo, aos meus sobrinhos Mateus e Rodrigo pela compreensão nos momentos ausentes e de dificuldades.

Ao meu namorado, Alexandre (Bracinho), pelo amor e carinho e pela paciência e compreensão nos vários finais de semana dedicados ao mestrado.

Em especial ao Prof. Dr. Fernando Palú e ao Prof. Dr. Edson Antônio da Silva pela orientação e incentivo durante a realização deste trabalho.

Aos demais professores, pelo conhecimento transmitido, em especial ao Prof. Dr. Reinaldo A. Bariccatti.

A Universidade Estadual do Oeste do Paraná - Herbário UNOP, em especial a Profa. Dra. Livia Godinho Temponi pela identificação das plantas.

A Universidade Estadual de Maringá, em especial ao Prof. Dr. Lúcio Cardozo Filho, pelo suporte oferecido na execução da parte experimental deste trabalho.

Aos colegas do mestrado, em especial àqueles que se tornaram meus amigos (Elciane, Elisangela, Gabi, Fabi, Silvia, Tati e Vitor).

Aos meus amigos Citi, Karin, Sirlei, Rose, Martinha, Mônica e Rodrigo. Sou grata por todos os momentos de alegria, conselhos e incentivos.

A Cleusa Zimmer Nenevê, pelo profissionalismo e disposição em prestar auxílio todas as vezes em que foi solicitado.

A Juliana, ao Paulo e ao Deoclécio, pelo apoio técnico e amizade.

A todos que, de alguma forma, contribuíram e torceram por mim e pelo sucesso deste trabalho.

Cada pessoa deve trabalhar para o seu aperfeiçoamento e, ao mesmo tempo, participar da responsabilidade coletiva por toda a humanidade (Marie Curie).

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
2. OBJETIVOS	4
2.1 OBJETIVO GERAL	4
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	4
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	5
3.1 PITANGUEIRA	5
3.2 COMPOSIÇÃO QUÍMICA DA PITANGA (<i>Eugenia uniflora L.</i>).....	7
3.3 ÓLEOS ESSENCIAIS.....	8
3.4 PROCESSOS DE EXTRAÇÃO	9
3.5 PROCESSO DE EXTRAÇÃO UTILIZANDO FLUIDOS SUPERCRÍTICOS ...	10
3.5.1 Fundamentos do processo	10
3.5.2 Fluidos Supercríticos	11
3.5.2.1 Vantagens e desvantagens da extração supercrítica	15
3.5.2.2 Usos e aplicações da extração supercrítica	16
3.6 FRACIONAMENTOS DE ÓLEOS ESSENCIAIS.....	19
3.7 ADSORÇÃO	20
3.8 SOLUBILIDADE	21
3.9 MODELAGEM MATEMÁTICA DO PROCESSO DE EXTRAÇÃO SUPERCRÍTICA.....	22
3.9.1 Considerações sobre o modelo de SOVOVÁ.....	23
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	24
4.1 MATÉRIA – PRIMA VEGETAL/ PRODUTOS QUÍMICOS DIVERSOS	24
4.1.1 Moagem e granulometria do material	25
4.1.2 Determinação da umidade	25

4.2. MÉTODOS DE OBTENÇÃO DE EXTRATO DE FOLHAS DE PITANGA (<i>Eugenia uniflora</i> L.)	26
4.2.1 Extração com solvente orgânico – Extrato etéreo	26
4.2.2 Hidrodestilação – Clevenger	27
4.3 EQUIPAMENTO DE EXTRAÇÃO E FRACIONAMENTO SUPERCRÍTICO... ..	28
4.3.1. Extração supercrítica.....	29
4.3.2 Determinação da porosidade do leito.....	32
4.3.3. Determinação da solubilidade experimental do óleo de pitanga de pitanga (<i>Eugenia uniflora</i> L.).....	33
4.3.4 Modelagem da extração do óleo de folha de pitanga (<i>Eugenia uniflora</i> L.).	34
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	38
5.1 CARACTERIZAÇÕES.....	38
5.1.2 Granulometria.....	38
5.1.3 Porosidade	40
5.2 RENDIMENTO - HIDRODESTILAÇÃO	42
5.3 EXTRAÇÃO COM DIÓXIDO DE CARBONO SUPERCRÍTICA E N-PROPANO PRESSURIZADO	43
5.4 MODELAGEM MATEMÁTICA.....	51
5.4.1 Modelo de Sovová.....	51
5.5. ANÁLISE QUALITATIVA DOS EXTRATOS DAS FOLHAS DE PITANGA (<i>Eugenia uniflora</i> L.)	65
6. CONCLUSÕES	79
7. SUGESTÃO PARA TRABALHOS FUTUROS.....	80
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	81
9. APÊNDICE	92

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Esquema representativo de um processo de extração supercrítica, composto por: (A) cilindro sifonado do solvente, (B) bomba de alta pressão, (c) extrator, (D) válvula de expansão e (E) tubo coletor.	11
Figura 2 - Diagrama de Pressão Reduzida x Densidade Reduzida do Dióxido de Carbono (BOTT, 1982).....	12
Figura 3 - Frutos de coloração vermelha e roxa.....	24
Figura 4 - Aparelho Clevenger. A balão com a matéria vegetal, B e C os condensadores e a <i>flecha</i> aonde se coleta o óleo essencial.	27
Figura 5 - Esquema representativo do equipamento utilizado para extração e fracionamento do óleo essencial de pitanga (<i>Eugenia Uniflora L.</i>) vermelha e roxa.	28
Figura 6 - Coluna de fracionamento acoplada ao extrator.	31
Figura 7 - Vista superior da coluna de fracionamento.....	32
Figura 8 - Micrografias das folhas de pitanga (<i>Eugenia uniflora L.</i>) sem extração vermelha (a) e roxa (d), após extração com CO ₂ como solventevermelha (b) e roxa (e), n-propano pressurizado como solvente vermelha (c) e roxa (f).	41
Figura 9 - Curvas cinéticas da extração do óleo essencial das folhas de <i>E. uniflora L.</i> vermelha utilizando CO ₂ supercrítico em diferentes condições de temperatura e pressão.	44
Figura 10 - Curvas cinéticas da extração do óleo essencial das folhas de <i>E. uniflora L.</i> roxa utilizando CO ₂ supercrítico em diferentes condições de temperatura e pressão.	44
Figura 11 - Curvas cinéticas da extração do óleo essencial das folhas de <i>E. uniflora L.</i> vermelha utilizando n-propano pressurizado em diferentes condições de temperatura e pressão.	45
Figura 12 - Curvas cinéticas da extração do óleo essencial das folhas de <i>E. uniflora L.</i> roxa utilizando n-propano pressurizado em diferentes condições de temperatura e pressão	45
Figura 13 - Curvas cinéticas da extração do óleo essencial das folhas de <i>E. uniflora L.</i> vermelha utilizando CO ₂ supercrítico nas fases estacionárias: sílica, alumina e Amberlit®.....	49

Figura 14 - Curvas cinéticas da extração do óleo essencial das folhas de <i>E. uniflora L.</i> roxa utilizando CO ₂ supercrítico nas fases estacionárias: sílica, alumina e Amberlit®.	49
Figura 15 - Curvas cinéticas da extração do óleo essencial das folhas de <i>E. uniflora L.</i> vermelha utilizando n-propano pressurizado nas fases estacionárias: sílica, alumina e Amberlit®.	50
Figura 16 - Curvas cinéticas da extração do óleo essencial das folhas de <i>E. uniflora L.</i> roxa utilizando n-propano pressurizado nas fases estacionárias: sílica, alumina e Amberlit®.	50
Figura 17 - Representação do modelo matemático de Sovová e a curva cinética experimental de extração do óleo das folhas de pitanga (<i>Eugenia uniflora L.</i>) vermelha utilizando o CO ₂ supercrítico como solvente condição 50°C 150 Bar...	55
Figura 18 - Representação do modelo matemático de Sovová e a curva cinética experimental de extração do óleo das folhas de pitanga (<i>Eugenia uniflora L.</i>) vermelha utilizando o CO ₂ supercrítico como solvente condição 50°C 250 Bar...	55
Figura 19 - Representação do modelo matemático de Sovová e a curva cinética experimental de extração do óleo das folhas de pitanga (<i>Eugenia uniflora L.</i>) vermelha utilizando o CO ₂ supercrítico como solvente condição 60°C 150 Bar...	56
Figura 20 - Representação do modelo matemático de Sovová e a curva cinética experimental de extração do óleo das folhas de pitanga (<i>Eugenia uniflora L.</i>) vermelha utilizando o CO ₂ supercrítico como solvente condição 60°C 250 Bar...	56
Figura 21 - Representação do modelo matemático de Sovová e a curva cinética experimental de extração do óleo das folhas de pitanga (<i>Eugenia uniflora L.</i>) roxa utilizando o CO ₂ supercrítico como solvente condição 50°C 150 Bar.....	57
Figura 22 - Representação do modelo matemático de Sovová e a curva cinética experimental de extração do óleo das folhas de pitanga (<i>Eugenia uniflora L.</i>) roxa utilizando o CO ₂ supercrítico como solvente condição 50°C 250 Bar.....	57
Figura 23 - Representação do modelo matemático de Sovová e a curva cinética experimental de extração do óleo das folhas de pitanga (<i>Eugenia uniflora L.</i>) roxa utilizando o CO ₂ supercrítico como solvente condição 60°C 150 Bar.....	58
Figura 24 - Representação do modelo matemático de Sovová e a curva cinética experimental de extração do óleo das folhas de pitanga (<i>Eugenia uniflora L.</i>) roxa utilizando o CO ₂ supercrítico como solvente condição 60°C 250 Bar.....	58

Figura 25 - Representação do modelo matemático de Sovová e a curva cinética experimental de extração do óleo das folhas de pitanga (<i>Eugenia uniflora L.</i>) vermelha utilizando o n-propano pressurizado como solvente condição 30°C 40 Bar.....	59
Figura 26 - Representação do modelo matemático de Sovová e a curva cinética experimental de extração do óleo das folhas de pitanga (<i>Eugenia uniflora L.</i>) vermelha utilizando o n-propano pressurizado como solvente condição 30°C 80 Bar.....	59
Figura 27 - Representação do modelo matemático de Sovová e a curva cinética experimental de extração do óleo das folhas de pitanga (<i>Eugenia uniflora L.</i>) vermelha utilizando o n-propano pressurizado como solvente condição 45°C 60 Bar.....	60
Figura 28 - Representação do modelo matemático de Sovová e a curva cinética de extração do óleo das folhas de pitanga (<i>Eugenia uniflora L.</i>) vermelha utilizando o n-propano pressurizado como solvente condição 60°C 40 Bar.....	60
Figura 29 - Representação do modelo matemático de Sovová e a curva cinética experimental de extração do óleo das folhas de pitanga (<i>Eugenia uniflora L.</i>) vermelha utilizando o n-propano pressurizado como solvente condição 60°C 80 Bar.....	61
Figura 30 - Representação do modelo matemático de Sovová e a curva cinética experimental de extração do óleo das folhas de pitanga (<i>Eugenia uniflora L.</i>) roxa utilizando o n-propano pressurizado como solvente condição 30°C 40 Bar.....	61
Figura 31 - Representação do modelo matemático de Sovová e a curva cinética experimental de extração do óleo das folhas de pitanga (<i>Eugenia uniflora L.</i>) roxa utilizando o n-propano pressurizado como solvente condição 30°C 80 Bar.....	62
Figura 32 - Representação do modelo matemático de Sovová e a curva cinética experimental de extração do óleo das folhas de pitanga (<i>Eugenia uniflora L.</i>) roxa utilizando o n-propano pressurizado como solvente condição 45°C 60 Bar.....	62
Figura 33 - Representação do modelo matemático de Sovová e a curva cinética experimental de extração do óleo das folhas de pitanga (<i>Eugenia uniflora L.</i>) roxa utilizando o n-propano pressurizado como solvente condição 60°C 40 Bar.....	63
Figura 34 - Representação do modelo matemático de Sovová e a curva cinética experimental de extração do óleo das folhas de pitanga (<i>Eugenia uniflora L.</i>) roxa utilizando o n-propano pressurizado como solvente condição 60°C 80 Bar.....	63

Figura 35 - Cromatograma do óleo das folhas de pitanga (<i>Eugenia uniflora L.</i>) vermelha utilizando CO ₂ supercrítico como solvente condição 60°C 250 Bar.	66
Figura 36 - Cromatograma do óleo das folhas de pitanga (<i>Eugenia uniflora L.</i>) roxa utilizando CO ₂ supercrítico como solvente condição 60°C 250 Bar.	67
Figura 37 - Cromatograma do óleo das folhas de pitanga (<i>Eugenia uniflora L.</i>) vermelha utilizando n-propano pressurizado como solvente condição 60°C 40 Bar.	68
Figura 38 - Cromatograma do óleo das folhas de pitanga (<i>Eugenia uniflora L.</i>) roxa utilizando n-propano pressurizado como solvente condição 60°C 40 Bar....	69
Figura 39 - Cromatograma do óleo das folhas de pitanga (<i>Eugenia uniflora L.</i>) vermelha obtido por Hidrodestilação.	70
Figura 40 - Cromatograma do óleo das folhas de pitanga (<i>Eugenia uniflora L.</i>) roxa obtido por Hidrodestilação.	71
Figura 41 - Cromatograma do óleo das folhas de pitanga (<i>Eugenia uniflora L.</i>) roxa utilizando CO ₂ supercrítico como solvente condição 60°C 250 Bar + 0,1 mL padrão de alfa-bisabolol a 0,5 mg / mL.	72
Figura 42 - Cromatograma do óleo das folhas de pitanga (<i>Eugenia uniflora L.</i>) vermelha utilizando CO ₂ supercrítico como solvente condição 60°C 250 Bar + fase estacionária Sílica.	73
Figura 43 - Cromatograma do óleo das folhas de pitanga (<i>Eugenia uniflora L.</i>) vermelha utilizando CO ₂ supercrítico como solvente condição 60°C 250 Bar + fase estacionária Alumina.	74
Figura 44 - Cromatograma do óleo das folhas de pitanga (<i>Eugenia uniflora L.</i>) vermelha utilizando CO ₂ supercrítico como solvente condição 60°C 250 Bar + fase estacionária Amberlit®.	75
Figura 45 - Cromatograma da dessorção do óleo das folhas de pitanga (<i>Eugenia uniflora L.</i>) vermelha utilizando CO ₂ supercrítico como solvente condição 60°C 250 Bar + fase estacionária Amberlit®.	76
Figura 46 - Estrutura molecular do Bifenil.	77
Figura 47 - Estrutura molecular do Alfa-Bisabolol.	78
Figura 48 - Espectro de massa do composto bifenil do óleo das folhas de pitanga (<i>Eugenia uniflora L.</i>) vermelha utilizando CO ₂ supercrítico como solvente condição 60°C 250 Bar.	92

Figura 49 - Espectro de massa do composto alfa-bisabolol do óleo das folhas de pitanga (<i>Eugenia uniflora L.</i>) vermelha utilizando CO ₂ supercrítico como solvente condição 60°C 250 Bar.....	93
Figura 50 - Espectro de massa do composto alfa-bisabolol do óleo das folhas de pitanga (<i>Eugenia uniflora L.</i>) roxa utilizando CO ₂ supercrítico como solvente condição 60°C 250 Bar + 0,1 mL padrão de alfa-bisabolol a 0,5 mg / mL.....	94

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 Propriedades críticas de vários solventes empregados na extração supercrítica.....	13
Tabela 2 Propriedades físicas associadas a diferentes estados das substâncias (RIZVI <i>et al.</i> , 1986).....	14
Tabela 3 Condições de extração do óleo de folha de pitanga (<i>Eugenia uniflora L.</i>) vermelha e roxa para os solventes CO ₂ e n-propano.....	30
Tabela 4 Condições de extração do óleo de folha de <i>Eugenia uniflora</i> vermelha e roxa para os solventes CO ₂ e n-propano nas fases estacionárias distintas: sílica, alumina e Amberlit®.....	31
Tabela 5 Umidade das folhas de pitanga (<i>Eugenia uniflora L.</i>).....	38
Tabela 6 Granulometria das folhas de pitanga (<i>Eugenia uniflora L.</i>) - vermelha..	39
Tabela 7 Granulometria das folhas de pitanga (<i>Eugenia uniflora L.</i>) – roxa.....	39
Tabela 8 Parâmetros da extração supercrítica, utilizando CO ₂ e n-propano como solventes das folhas de <i>Eugenia uniflora L.</i> vermelha e roxa.	46
Tabela 9 Função objetivo e parâmetros ajustados do modelo de Sovová, para as curvas cinéticas utilizando CO ₂ supercrítico para <i>Eugenia uniflora L.</i> vermelha e roxa.	53
Tabela 10 Função objetivo e parâmetros ajustados do modelo de Sovová, para as curvas cinéticas utilizando n-propanopressurizado para <i>Eugenia uniflora L.</i> vermelha e roxa.....	54

LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIações

ADD = Erro médio absoluto

$b_{\text{óleo}}$ = Coeficiente angular da massa de óleo extraída em função do tempo

b_{solvente} = Coeficiente angular da massa de solvente em função do tempo

F_{OBJ} = Função objetivo

K_{sa} = Coeficiente de massa da fase sólida (min^{-1})

K_{ya} = Coeficiente de transferência de massa da fase solvente (min^{-1})

$m_{\text{óleo}}^{\text{Calc}}$ = Massa calculada de óleo extraído

$m_{\text{óleo}}^{\text{exp}}$ = Massa de óleo obtida experimentalmente

\dot{m}_F = Taxa de fluxo de massa do solvente

m_s = Massa sólida de uma base óleo-livre

MEV = Microscopia Eletrônica de Varredura

$M_{\text{Total de óleo}}$ = Massa total de óleo extraída

M_{amostra} = Massa de amostra usada na extração

$n - \text{exp}$ = Número de pontos dos dados experimentais na curva cinética

P_c = Pressão crítica

P_r = Pressão reduzida

q_0 = Concentração de óleo inicial na matriz sólida (g óleo / g sólido)

r = Fração de óleo de fácil acesso

R^2 = Coeficiente de determinação

S_b = Solubilidade do óleo no solvente (g óleo / g solvente)

S = Sol = Solubilidade

t = Tempo de extração

Temp = Temperatura

T_c = Temperatura crítica

T_{CER} = Momento de início da extração do óleo a partir do interior da partícula

T_{FER} = Momento final de extração de soluto de fácil acesso

T_r = Temperatura reduzida

V_l = Volume ocupado pelo leito

V_s = Volume de sólido dentro do extrator

Z = Parâmetro adimensional do modelo de Sovová

W = Parâmetro adimensional do modelo de Sovová

ε = Porosidade do leito

ρ_{bed} = Densidade do leito (g sólido / cm³)

ρ_F = Densidade do solvente

SILVA, Simone Braga. Estudo da extração do óleo de pitanga (*Eugenia uniflora L.*) vermelha e roxa empregando os solventes CO₂ e n - propano em altas pressões. 2012. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química).

RESUMO

Das folhas de pitanga (*Eugenia uniflora L.*) é possível extrair um óleo que tem sido bastante utilizado industrialmente, principalmente nos segmentos cosméticos e farmacêuticos. As extrações deste óleo utilizando os métodos convencionais geralmente causam a degradação térmica de seus componentes, e uma alternativa interessante tem sido a utilização da tecnologia de extração supercrítica com solventes orgânicos. Para avaliar melhor as vantagens da extração em pressões elevadas do óleo das folhas de pitanga de frutos vermelha e roxa, o presente trabalho teve como objetivo estudar este tipo de extração supercrítica utilizando como solventes o dióxido de carbono supercrítico e o n-propano pressurizado. Após secagem e moagem das folhas de pitanga vermelha e roxa, as mesmas foram submetidas à extração do óleo com os solventes CO₂ supercrítico sob diferentes condições de temperatura (50 e 60°C) e de pressão (150 e 250 bar) e também n-propano em diferentes condições de temperatura (30, 45 e 60°C) e de pressão (40, 60 e 80 bar). O acoplamento de uma coluna de fracionamento na extração supercrítica foi usado para separar os componentes do extrato. Foram avaliadas 3 fases estacionárias distintas: sílica, alumina e Amberlit®. O óleo extraído foi submetido à cromatografia gasosa acoplado a espectrometria de massa (CG-EM) para análise qualitativa, apresentado o alfa-bisabolol como composto de maior interesse pela sua aplicação industrial. A cinética da extração de ambos os solventes foram obtidas de forma experimental. Os dados experimentais ajustaram-se adequadamente ao modelo matemático de Sovová.

Palavras-chave: extração supercrítica, fracionamento, óleo essencial, alfa-bisabolol.

SILVA, Simone Braga. Study on red and purple Surinam cherry (*Eugenia uniflora* L.) oil extraction by utilizing CO₂ and n-propane solvents at high pressures. 2012. Essay (Master's degree in Chemistry).

ABSTRACT

From Surinam cherry's leaves (*Eugenia uniflora* L.) it is possible to extract oil that has been utilized industrially, especially by cosmetics and pharmaceuticals sectors. The extraction of this oil by using conventional methods often causes the thermal degradation of its components, and an interesting alternative has been the use of supercritical extraction technology with organic solvents. In order to better evaluate the advantages of oil extracting from red and purple Surinam cherry's leaves in high pressure, the present paper aims to study this supercritical extraction by using the supercritical carbon dioxide and pressured n-propane as solvents. After drying and milling of red and purple Surinam cherry's leaves, they were underwent to oil extraction with CO₂ supercritical fluids under different temperatures (50 and 60°C) and the pressure (150 and 250 bar) and also n-propane in different temperature (30, 45 and 60°C) and pressure conditions (40, 60 e 80 bar). The coupling of a fractionation column in supercritical fluid extraction was used to separate components of the extract. Three distinct stationeries phases were evaluated: silica, alumina and Amberlit®. The extracted oil underwent to a gas chromatography coupled to the mass spectrometry (CG-EM) for a quantitative analysis, showing the alpha-bisabolol as composed of greater interest in its industrial application. The extraction kinetics of both solvents were obtained in an experimentally way. The experimental data were adjusted appropriately to the mathematical Sovavá model.

Key words: supercritical extraction, fractionation, essential oil, alpha-bisabolol.

1. INTRODUÇÃO

A fruticultura ocupa lugar de destaque na esfera mundial, tanto pelo valor alimentício como pela importância de seus derivados. Existe uma tendência mundial ao consumo de frutas tropicais, que pode ser atribuída ao valor nutricional, às características organolépticas, bem como à necessidade de melhoria na qualidade de vida das pessoas associado aos aspectos da saúde e bem-estar (OLIVEIRA, 2009).

Em 2008, a base agrícola da cadeia produtiva das frutas abrangeu 2,3 milhões de hectares e gerou 5,6 milhões de empregos diretos e indiretos, correspondendo a 27 % do total de mão-de-obra agrícola ocupada no país e está fundamentada em pequenas e médias propriedades (IBRAF, 2011). Devido a grande diversidade de frutas e regiões produtoras, essa atividade tem se destacado como uma das mais importantes da economia nacional, sendo responsável pela geração de milhares de empregos no campo e divisas para o País (DIAS, 2010).

Todas as espécies cultivadas foram um dia silvestres, nativas de alguma parte do globo e de valor econômico insignificante. Aos poucos foram domesticadas e introduzidas nos sistemas produtivos. As plantas nativas requerem pouco trato e praticamente dispensam o uso de insumos químicos. Possuem uma grande fonte de vitaminas, antioxidantes e outras características importantíssimas para a manutenção da saúde humana e animal, contribuindo para a resistência dos organismos a doenças. Podem ser aproveitadas tanto em seu estado natural, quanto no preparo de sucos, sorvetes, compotas, geléias e doces (RUSCHEL *et al.* 2010).

A produção brasileira de frutas está distribuída por todas as regiões, com predominância das espécies de clima subtropical e temperado nas Regiões Sul e Sudeste, enquanto as de clima tropical estão mais presentes nas Regiões Norte e Nordeste. É sabido que a maior riqueza em espécies frutíferas nativas brasileiras se encontra na Amazônia e nos Cerrado, embora a região Sul também possua uma grande riqueza destas espécies que, se perdem em número para as regiões

citadas anteriormente, certamente não ficam atrás em sabor e potencialidade de uso.

Entretanto tem-se pouco conhecimento sobre a parte majoritária das espécies, especialmente algumas da família “Myrtaceae”, a exemplo da pitangueira, com alto potencial para exploração econômica. Essas espécies possuem frutos de qualidades organolépticas e nutricionais tais, que se fossem pesquisadas, poderiam ser transformados em boas fontes de alimento funcionais, diversificando o paladar, gerando novos produtos e agregando valor a estas fruteiras.

A família “Myrtaceae” compreende cerca de 130 gêneros e 4000 espécies distribuídas predominantemente em regiões tropicais e subtropicais (SOUZA & LORENZI, 2008), incluindo espécies frutíferas e medicinais (AGRA *et al.*, 2007).

A pitanga (*Eugenia uniflora* L.) é um fruto empregado industrialmente na obtenção de polpas e sucos no entanto, ao considerar seu potencial como fonte de antioxidantes e as propriedades farmacológicas que seu extrato possa desempenhar, pouco se conhece a respeito da suas possíveis aplicações tecnológicas (LOPES, 2007).

As folhas da pitanga possuem compostos com propriedades benéficas. Os frutos possuem carotenoides e fenólicos, entre outros compostos, os quais proporcionam benefícios à saúde. A presença de antocianinas aliada aos teores de flavonoides e carotenoides totais fazem deste fruto uma fonte promissora de compostos antioxidantes (LIMA *et al.* 2002).

Na extração de produtos naturais, vem se revelando uma opção interessante a técnica da extração supercrítica, devido a várias características distintas, tais como a facilidade de recuperação do soluto e reciclagem do solvente com a simples manipulação de temperatura e/ou pressão, a possibilidade de direcionar a separação pela escolha, a priori, das condições termodinâmicas de temperatura e/ou a pressão, e com isso a sintonia do poder de solvência do fluido usado na extração para uma determinada extração e/ou separação, e o controle da seletividade do processo pela escolha apropriada do solvente e da combinação solvente/co-solvente utilizados.

Na extração supercrítica temos a possibilidade da realização da extração e do fracionamento sem os riscos de deixar resíduos indesejáveis e/ou degradar termicamente os produtos obtidos.

A extração e o fracionamento de produtos com fluidos supercríticos podem ser realizados em dois modos de operação: extração seletiva e/ou separação seletiva. A primeira envolve a sintonia da capacidade de solvatação do fluido utilizado na extração por meio da manipulação das condições termodinâmicas de temperatura e pressão e/ou da modificação da natureza química do solvente utilizado com a adição de um co-solvente. No segundo modo de operação, uma separação seletiva é obtida por meio da despressurização, aquecimento ou resfriamento gradual do extrato, permitindo com isso um fracionamento controlado dos produtos extraíveis. A separação seletiva pode ser obtida também pelo acoplamento do processo de extração a outro processo de separação como, por exemplo, adsorção.

Considerando o exposto acima, o objetivo deste trabalho é apresentar um estudo sobre o processo de extração supercrítica acoplada ao fracionamento do extrato, empregando como solventes o CO₂ supercrítico e o n-propano subcrítico das folhas de pitanga (*Eugenia uniflora L.*) de diferentes colorações de frutos (roxa e vermelha) coletadas no Estado do Paraná. Na segunda etapa da extração supercrítica acoplada ao fracionamento foram avaliadas 3 fases estacionárias distintas: sílica, alumina e Amberlit®. Os extratos foram submetidos à cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa (CG-EM) para análise qualitativa de seus constituintes. As cinéticas da extração de ambos os solventes foram obtidas de forma experimental. O modelo de Sovová foi utilizado para modelagem matemática da cinética de extração.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

O objetivo geral deste trabalho é o desenvolvimento de uma tecnologia eficiente de extração do óleo das folhas de pitanga (*Eugenia uniflora L.*) do mesmo gênero, porém de espécies distintas, de frutos vermelha e roxa, em alta pressão.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Avaliar o efeito dos métodos de extração (Soxhlet, Clevenger e supercrítica) na composição dos extratos;

Avaliar a eficiência do dióxido de carbono (CO₂) e n-propano na extração do óleo essencial da folha de pitanga (*Eugenia uniflora L.*) de frutos vermelha e roxa;

Determinação experimental e modelagem matemática da cinética de extração do óleo essencial da folha de pitanga (*Eugenia uniflora L.*) de frutos vermelha e roxa para ambos os solventes;

Avaliar o efeito do acoplamento de uma coluna de fracionamento na extração com dióxido de carbono (CO₂) supercrítico e n-propano pressurizado com 3 fases estacionárias distintas: sílica, alumina e Amberlit® na composição dos extratos.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 PITANGUEIRA

A pitanga (*Eugenia uniflora* L.) pertencente à família botânica “Myrtaceae”, é uma fruteira nativa do Brasil e encontra-se distribuída praticamente por todo território nacional, espalhando-se desde o Nordeste até o Rio Grande do Sul, ultrapassando fronteiras para chegar a algumas regiões do Uruguai e da Argentina. Encontra-se em vários centros de diversidade e domesticação brasileira, que contêm diferentes ecossistemas tropicais, subtropicais e temperados. Contudo essa espécie mostra sua mais extensa variabilidade nos centros de diversidade classificados como Centro-Nordeste/Caatinga, Sul/Sudeste, Brasil Central/Cerrado e Mata atlântica, que pertencem as regiões costeiras da Paraíba ao Rio Grande do Sul. Diante da sua adaptabilidade às mais distintas condições de clima e solo, a pitangueira foi disseminada e se encontra cultivada nas mais variadas regiões do globo (BEZERRA *et al.* 2004). Seu cultivo já se encontra difundido por diversos países, podendo ser encontrada no sul dos Estados Unidos, nas ilhas do Caribe e em alguns países asiáticos (BEZERRA *et al.* 2000).

A denominação de pitangueira, pitanga ou pitanga-vermelha é derivada do vocábulo tupi “pí’tãg”, que tem como significado a cor vermelho, devido à cor dos seus frutos, que podem se apresentar nas cores vermelha (alaranjada, claro e escuro), amarelo-alaranjada, roxa e raramente quase preta (COSTA *et al.* 2009).

No Brasil a pitangueira apresenta um bom desenvolvimento, podendo alcançar o porte de uma arvoreta de até oito metros de altura. As folhas são opostas, verde-escuras, brilhante, glabras, perfumadas, ovais, onduladas, inteiras, com pecíolo curto e fino. As folhas novas são cor de vinho. As flores brancas, suavemente perfumadas, melíferas abundantemente providas de pólen, hermafroditas, dispostas na axila das folhas. Possuem quatro pétalas e muitos estames amarelos. A pitanga é uma baga, com cerca de 30 mm de

diâmetro, formosa de um vermelho intenso quando bem madura, a polpa é vermelha, sucosa, macia, doce ou agridoce, perfumada, saborosa. A fruta prende-se a arvoreta por meio de um pedúnculo com dois a três cm de comprimento. Há pitangas vermelhas, rubras, brancas, roxas, quase pretas (AGROV, 2011).

O fruto da pitanga é muito apreciado devido ao sabor agradável e refrescante, com grande interesse dos produtores em aumento da produção devido ao consumo do fruto *in natura* e processado, principalmente na forma de polpa congelada, sendo muito utilizadas em sucos, sorvetes, geléias e ainda fermentados (BEZERRA *et al.*, 2000). Dessa forma, existem grandes perspectivas da comercialização dos frutos de pitanga, atendendo a um nicho de mercado ávido por novidades. Além da possibilidade de exploração para consumo dos frutos *in natura* e da agroindústria, também vem avivando o interesse da indústria farmacêutica, que buscam substâncias antioxidantes, como antocianinas e óleos essenciais, que podem ser extraídos das folhas e de outras partes da planta (FRANZON, 2008).

O óleo essencial das folhas da pitanga tem sido usado pela indústria cosmética brasileira devido as suas propriedades adstringentes, associado ao seu aroma agradável. Suas principais aplicações são em xampus, condicionadores de cabelo, sabonetes e perfumes (AMORIM *et al.* 2009). Suas folhas são usadas em infusões na medicina popular para tratar inflamações, dores reumáticas, febres e problemas estomacais (AMORIM *et al.* 2009). Estudos mostram que o odor das folhas tem propriedades repelentes contra insetos (WEYERSTAHL *et al.* 1988) e também atividade antifúngica (COSTA *et al.* 2010). A infusão de folhas frescas e frutas verdes são usadas no combate a malária e o extrato aquoso das folhas secas são usados estimulantes menstrual (SCHMEDA-HIRSCHMANN, *et al.* 1986).

Extratos solúveis em água da folha de pitanga têm apresentado inibição nos níveis de glicose e triglicerídeos no plasma dos camundongos, descrevendo uma atividade antidiabética (MATSUMURA *et al.* 2000), possui também atividade antimicrobiana (HOLETZ *et al.* 2002) e atividade antifúngica (SOUZA *et al.* 2002). Extratos da fruta de pitanga (*Eugenia uniflora* L.)

apresentam maior capacidade antioxidante em comparação a outras frutas cultivadas no Brasil, como o cupuaçu, a jaboticaba e a manga (EINBOND *et al.* 2004).

Portanto as folhas e os frutos de pitanga possuem muitos constituintes importantes, sendo assim, o consumo do fruto pode proporcionar efeitos benéficos à saúde, assim como a utilização das folhas (OLIVEIRA & LOPES, 2006). Diante ao fato de apresentar variações nos teores dos compostos, dependendo do local de origem das amostras, dependentes de fatores climáticos ou edáficos (MELO *et al.* 2008) necessitam-se de estudos sobre a composição das folhas provenientes do Estado do Paraná.

3.2 COMPOSIÇÃO QUÍMICA DA PITANGA (*Eugenia uniflora L.*)

RÜCKER *et al.* (1977) analisaram os constituintes do óleo essencial de frutos de pitanga (*Eugenia uniflora L.*) por destilação a vapor e identificaram vários componentes, principalmente sesquiterpenos, como furanodieno 24% , germacreno 17% , γ -elemeno, selina-4(14),7(11)-dieno.

WEYERSTAHL *et al.* (1988) analisaram a composição do óleo essencial de folhas pitanga (*Eugenia uniflora L.*) proveniente da Nigéria, obtido com rendimento de 1% de óleo essencial após 5 horas de destilação a vapor, do qual cariofileno (5,7%), furanodieno (24%), germacreno B (5,8%), selina-1,3,7(11)-trien-8-ona (17%) e oxidoselina-1,3,7(11)-trien-8-ona (14%) são os componentes majoritários, os quais têm demonstrado possuir atividade antimicrobiana e são indicados como os responsáveis do odor característico do óleo de pitanga (*Eugenia uniflora L.*).

SCHMEDA-HIRSCHMANN (1995), menciona a presença dos flavonoides quercetina e miricitrina (miricetina-3-O-ramnósido), no extrato hidro alcoólico das folhas de pitanga (*Eugenia uniflora L.*), coletadas no leste do Paraguai.

MORAIS *et al.* (1996) isolaram e identificaram os componentes do óleo essencial de folhas de pitanga (*Eugenia uniflora L.*) colhidas na região Nordeste do Brasil, obtido por hidrodestilação, com rendimento de 0,74%, do qual os componentes majoritários são selina-1,3,5(11)-trien-8-ona e oxidoselina-1,3,7(11)-trien-8-ona, com teores de 48,52 % e 17,33 % respectivamente.

Independente da origem ou parte da planta da pitanga (*Eugenia uniflora L.*) utilizada na extração, os sesquiterpenos mostram ser a principal classe de compostos. Os sesquiterpenos têm sido usados em produtos farmacêuticos como anti-inflamatórios, antiespasmódico, anti-alérgicas e vermífugo. Além disso, apresentam propriedades antimicrobiana, antioxidante, antiplasmodial e anticâncer.

3.3 ÓLEOS ESSENCIAIS

Óleos essenciais são líquidos, oleosos em temperatura ambiente, e, em alguns casos podem ser semi-sólidos, geralmente de odor agradável e acentuado. São extraídos de várias partes da planta. Os óleos essenciais constituem misturas complexas de compostos orgânicos, geralmente hidrocarbonetos acíclicos, cíclicos, derivados oxigenados e alguns contendo nitrogênio ou enxofre na molécula (GERMER, 1989).

Os constituintes de óleos essenciais de plantas são divididos em duas classes químicas distintas, terpenóides e fenilpropanóides. Apesar dos terpenos representarem a maioria dos compostos e apresentam com mais frequência e abundância, sempre que os fenilpropanóides estão presentes fornecem sabor e odor marcantes e significativos ao óleo essencial.

Biogeneticamente, terpenóides e fenilpropanóides são originados de precursores metabólicos primários diferentes e são gerados por meio de rotas biossintéticas específicas. Os terpenóides são sintetizados a partir de cinco unidades de carbono de pirofostato de isopentenil, e seu isômero, pirofosfato de dimetilalil. Os fenilpropanóides constituem uma classe de compostos

fenólicos provenientes da via do xiquimato que basicamente apresentam 3 carbonos ligados a um anel benzóico. Um dos fenilpropanóides mais comuns é o eugenol (SANGWAN *et al.* 2001).

Os óleos essenciais são empregados para vários fins: na indústria farmacêutica devido a suas propriedades digestivas, analgésicos, antiinflamatórios e anti-sépticos, na indústria de cosméticos se destacam devido aos aromas e na indústria de alimentos são utilizados como flavorizantes e aromatizantes. A maior parte dos óleos essenciais apresenta grande quantidade de substâncias termicamente instáveis que são mantidas inalteradas mesmo após o processo de extração com gás pressurizado (RODRÍGUEZ *et al.* 1996).

3.4 PROCESSOS DE EXTRAÇÃO

A extração é uma operação físico-química de transferência de massa, onde os sólidos solúveis e voláteis podem ser extraídos pela interação entre as moléculas do solvente e os sólidos (CLARK, 1985). Os principais processos tradicionais de extração são: a destilação com arraste a vapor e a extração com solvente.

A destilação por arraste a vapor dilata as células que contêm o óleo, arrastando glóbulos de óleo até um dispositivo de resfriamento, onde são condensados e separados por diferença de densidade.

O processo de extração utilizando solvente consiste em colocar um solvente orgânico em contato com a matriz vegetal. Após certo tempo, suficiente para que ocorra a transferência dos constituintes solúveis presentes na planta, efetua-se a separação das fases sólido e líquida. O óleo é obtido pela evaporação do solvente presente na fase líquida.

Os processos tradicionais de extração apresentam alguns inconvenientes e limitações. Nestes processos, os constituintes dos óleos essenciais podem sofrer degradação térmica ou hidrólise. Estes fatores

influenciaram no surgimento, desenvolvimento e aplicações de novas técnicas de extração, incluindo a extração supercrítica (STEFFANI, 2003).

3.5 PROCESSO DE EXTRAÇÃO UTILIZANDO FLUIDOS SUPERCRÍTICOS

3.5.1 Fundamentos do processo

No processo de extração supercrítica em matrizes sólidas, o fluido supercrítico escoar através do leito fixo (partículas sólidas) e solubiliza os compostos presentes da matriz sendo distribuído uniformemente no interior do leito fixo. Durante o processo de extração, a matriz sólida absorve o solvente supercrítico, dilatando a estrutura da célula, causando uma diminuição na resistência à transferência de massa. Os compostos extraíveis são dissolvidos pelo solvente transferidos por difusão para a superfície externa da matriz, e transportados pelo fluido. Os compostos assim extraídos são removidos do extrator pelo escoamento do solvente (BRUNNER, 1994).

Conforme apresentado na Figura 1, na extração supercrítica o solvente geralmente é fornecido ao sistema já no estado líquido com o uso de cilindros sifonados (A) de solvente liquefeito mantido sob pressão. No caso da pressão de operação ser maior que a do cilindro, usa-se uma bomba (B). A matriz do soluto é “lavada” pelo solvente no extrator (C) e a mistura solvente-soluto é submetida a uma descompressão por válvula redutora de pressão (D). A mistura passa a ser gás-soluto, sendo o último recolhido em um separador (E). O gás que emana do separador pode ser recirculado, e para isto deve ser condensado. No caso do gás não ser reaproveitado, este pode ser expandido em válvula redutora de pressão (GERMER, 1989).

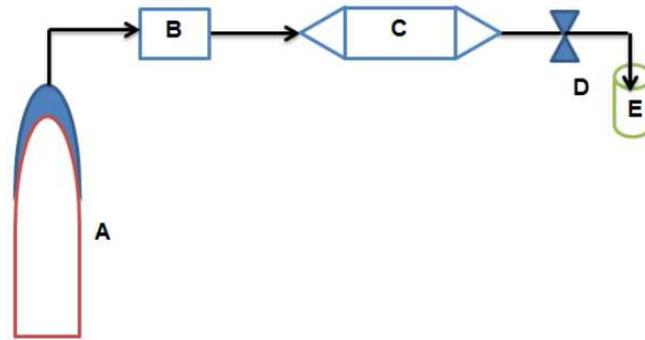


Figura 1 - Esquema representativo de um processo de extração supercrítica, composto por: (A) cilindro sifonado do solvente, (B) bomba de alta pressão, (c) extrator, (D) válvula de expansão e (E) tubo coletor.

3.5.2 Fluidos Supercríticos

O primeiro registro de aplicação da prática de fluidos supercríticos ocorreu em 1943, para o desasfaltamento de petróleo (WILLIAMS, 1981).

Cientistas alemães têm pesquisado a extração de produtos naturais usando fluidos supercríticos desde os anos 60 do século passado. A primeira unidade industrial de extração supercrítica foi implantada na Alemanha, em 1978, para produzir café descafeinado (SNYDER *et al.* 1984).

Na Figura 2, observa-se que um fluido a temperatura e pressão menores que T_r (temperatura reduzida) = 1,0 e P_r (pressão reduzida) = 1,0 respectivamente, se encontra tanto no estado líquido (L) quanto na gasoso (G) ou como uma mistura dos mesmos (L+G). Enquanto, a pressões e temperaturas superiores à $P_r = 1,0$ e $T_r = 1,0$ respectivamente, o fluido existe em uma única fase denominada de supercrítica.

Sendo:

$$T_r = \text{temperatura reduzida} = T / T_c$$

$$P_r = \text{pressão reduzida} = P / P_c$$

A temperatura T_c é denominada de temperatura crítica do gás e P_c de pressão crítica, sendo essa condição limite de existência das duas fases (líquida e vapor) para um composto puro.

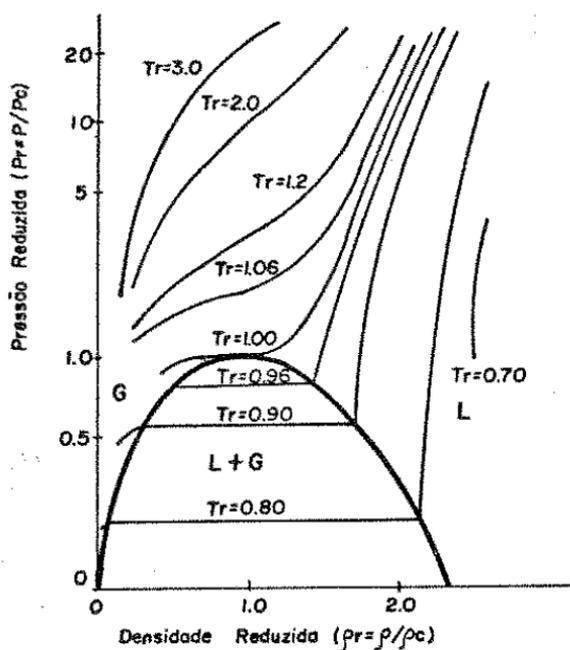


Figura 2 - Diagrama de Pressão Reduzida x Densidade Reduzida do Dióxido de Carbono (BOTT, 1982).

A temperatura crítica de um gás é a temperatura acima da qual o gás não pode ser liquefeito por compressão isotérmica. Do mesmo modo, a pressão crítica de um gás é a pressão acima da qual o gás não pode ser liquefeito por resfriamento isobárico (Figura 2). Suas propriedades de transferência de massa são intermediárias entre as de um gás e as de um líquido, ou seja, sua difusividade mássica é próxima à de um gás e sua densidade é semelhante à de um líquido (VEDAMARAN *et al*, 2004). Essa combinação de características permite que os fluidos supercríticos tenham boas condições de serem utilizados em processos de extração de solutos a partir de matrizes sólidas.

De um modo geral, pode-se dizer que o poder de solvência de um fluido supercrítico aumenta com a densidade, a uma dada temperatura. No caso de uma densidade constante, este poder de solvência aumenta com a temperatura.

Cada substância tem propriedades críticas particulares. A Tabela 1 apresenta algumas condições críticas de diversos gases e líquidos aplicados na extração supercrítica (MCHUGH & KRUKONIS, 1994).

Tabela 1 Propriedades críticas de vários solventes empregados na extração supercrítica.

Solvente	Temperatura Crítica / [°C]	Pressão Crítica / [bar]
Dióxido de carbono	31,10	73,76
Etano	32,30	48,84
Etileno	9,30	50,36
Propano	96,70	42,45
Propileno	91,90	46,20
Ciclohexano	280,30	40,73
Benzeno	289,00	48,94
Tolueno	318,60	41,14
Clorotrifluormetano	28,90	39,21
Triclorofluormetano	198,10	44,07
Amônia	132,50	112,77
Água	374,20	220,48

A combinação das propriedades das fases líquida e vapor, característica do estado supercrítico, ocorrem de uma forma extremamente vantajosa para a utilização dos fluidos supercríticos como solventes. Por outro lado, a viscosidade, a difusividade e a tensão superficial apresentam valores próximos aos do estado gasoso, o que torna as propriedades de transporte bastante favoráveis ao processo de extração (grande molhabilidade e poder de penetração nas matrizes porosas dos sólidos). Todas estas propriedades

singulares fazem dos fluidos supercríticos um meio bastante interessante também para reações químicas (MCHUGH & KRUKONIS, 1994).

Na Tabela 2 apresentam que as densidades dos fluidos supercríticos têm valores próximos ao estado líquido e valores maiores que as densidades no estado gasoso. A difusividade do fluido supercrítico está entre os valores dos estados gasoso e líquido. A viscosidade do fluido supercrítico está muito próxima do estado gasoso.

Tabela 2 Propriedades físicas associadas a diferentes estados das substâncias (RIZVI *et al.*, 1986).

Estado	Densidade / [g cm⁻³]	Difusividade / [cm² s⁻¹]	Viscosidade [g.cm⁻¹ s⁻¹]
Gás	$(0,6 \text{ a } 2) \times 10^{-3}$	0,1 a 0,4	$(1 \text{ a } 3) \times 10^{-4}$
Líquido	0,6 a 1,6	$(0,2 \text{ a } 2) \times 10^{-5}$	$(0,2 \text{ a } 3) \times 10^{-2}$
Supercrítico	0,2 a 0,5	$0,7 \times 10^{-3}$	$(1 \text{ a } 2) \times 10^{-4}$

Acima da temperatura crítica da substância ocorre um rápido e significativo aumento na densidade, portanto, esta sensibilidade da densidade com a pressão e temperatura é que delimita as condições de extração.

A extração supercrítica tem diversas vantagens em comparação às técnicas de extração tradicionais: é um processo flexível devido a possibilidade de recuperação e uso contínuo do solvente, baixo custo energético e a seletividade do solvente permite a eliminação de poluentes de solventes orgânicos e eliminação da etapa de pós-processamento do extrato com o intuito de eliminar o solvente, que apresenta um custo muito elevado (REVERCHON & MARCO, 2006).

3.5.2.1 Vantagens e desvantagens da extração supercrítica

Segundo (Paviani, 2004) as principais vantagens da extração supercrítica comparada com extrações tradicionais são:

- A extração supercrítica é vantajosa em relação à destilação para os compostos termicamente instáveis uma vez que pode ser realizada a baixas temperaturas;

- Na extração supercrítica, existem muitas opções para alcançar e controlar a seletividade desejada através da manipulação da pressão e da temperatura, escolha do solvente e uso de co-solvente;

- O solvente residual no extrato é facilmente separado sem a necessidade do emprego de operações posteriores, pois estes são gases a temperatura e pressão ambiente;

- Devido a suas propriedades de transporte favoráveis, os gases comprimidos permitem uma aproximação mais rápida do equilíbrio e penetram no substrato mais facilmente do que solventes líquidos;

- Pela redução gradativa da densidade do solvente durante a separação, o extrato pode ser fracionado em numerosos componentes, mesmo quando eles possuírem volatilidades similares;

- O dióxido de carbono pode ser usado em indústria de alimentos e farmacêuticas sem contaminar o produto. A extração líquida deixa resíduos de solventes orgânicos, geralmente tóxicos, no produto mesmo após intensivas destilações ou estágios de processamento à vácuo;

- Componentes adicionais (co-solventes) podem ser usados em pequenas quantidades para manipular o equilíbrio de fases;

- Geralmente estão envolvidos menores custos de energia.

As desvantagens de sua utilização são: (BOTT, 1982; CASSEL, 1994).

- Dificuldades de aceitação de processos que envolvem alta pressão em indústrias não acostumadas a operação nestas condições;

- Em recentes processos tecnológicos é comum utilizarem de leis e patentes como forma de proteção contra competição, tornando desta forma o processo industrial sigiloso, cada processo precisa ser desenvolvido o que aumenta o custo de produção.

- Altos custos de investimento inicial, risco de capital e altos custos de manutenção, provenientes da segurança exigida pelos equipamentos.

3.5.2.2 Usos e aplicações da extração supercrítica

O processo de extração supercrítica pode ser aplicado nas indústrias farmacêuticas, de alimentos, cosméticas, de perfumaria e nas indústrias de processamento químico, com as seguintes finalidades (STUART, 1995):

- obtenção de extratos que mantêm os constituintes da matéria-prima original, tanto do aspecto químico quanto do ponto de vista sensorial;

- isolamento, remoção, e/ou concentração de princípios ativos naturais, tais como: antioxidantes, corantes, constituintes organolepticamente idênticos, constituintes fitoterápicos e produtos indesejáveis, como a nicotina, a cafeína e certos componentes tóxicos;

- extração de matérias-primas e fármacos e fontes botânicas;

- processamento de produtos sanitários e suplementos alimentícios;

- produção de uma variedade de oleorresinas de condimentos de alta qualidade;

- purificação de polímeros;

- extração e refino de óleos comestíveis;

- extração de óleos cítricos;

- extração e fracionamento de óleos de sementes e ácidos graxos;
- extração de aromas e constituintes cosméticos;
- extração de inseticidas naturais de plantas;
- extração dos corantes da páprica, cúrcuma, urucum, jenipapo, tagetes e pimentas vermelhas;
- extração da lecitina pura da lecitina bruta;
- separação do colesterol da gema de ovo, de gorduras animais e de carnes;
- extração rápida de produtos naturais, como café, lúpulo, cafeína, lipídios;
- separação de aromáticos de produtos do petróleo;
- extração de derivados da lignina;
- extração de hidrocarbonetos líquidos do carvão de pedra e da hulha;
- extração de óleos essenciais de plantas aromáticas, etc.

3.5.2.3 Fluido supercrítico dióxido de carbono (CO₂) e n-propano

A escolha do solvente a ser empregado na extração supercrítica depende dos compostos que se deseja solubilizar. O dióxido de carbono (CO₂), por ser apolar extrai preferencialmente os compostos apolares (CAMPOS *et al.*, 2005). Na prática, mais de 90% das extrações analíticas com fluidos supercríticos são realizadas com dióxido de carbono (CO₂) por vários fatores.

Entre esses pode-se, destacar o fato de o CO₂ apresentar pressão crítica e temperatura crítica relativamente baixas (73,8 bar e 31,1°C), ser inerte, atóxico, não inflamável, de custo relativamente baixo, facilmente disponível em alta pureza, inodoro e pode ser prontamente removido do produto final, sem

deixar resíduos. Devido à sua volatilidade, ele se dissipa totalmente no final da extração, após a descompressão, sendo um componente do ar atmosférico. Desde modo, a extração de compostos naturais com CO₂ resolve eficazmente as questões associadas às altas temperaturas e ao uso de solventes orgânicos empregados em extrações convencionais.

Na literatura existem alguns estudos (AMORIM *et al.*, 2009; PEIXOTO 2008) que avaliaram a extração com CO₂ supercrítico das folhas de pitanga e obtiveram elevados rendimentos. Estudos da extração dos carotenóides do fruto da pitanga utilizando CO₂ supercrítico foram realizados por FILHO e colaboradores, 2008. Estes autores conseguiram, variando as condições operacionais de temperatura e pressão, extrações seletivas de diferentes carotenóides

Todas estas características fazem o CO₂ parecer um solvente ideal, porém sua principal desvantagem é a apolaridade, o que torna a utilização desse fluido puro não apropriada para extração de compostos polares e matrizes com alto poder de retenção, fazendo-se necessário a utilização de co-solventes (em pequenas quantidades) para aumentar o poder de solvatação.

O uso de co-solventes é uma alternativa para aumentar a gama de compostos extraídos. Os co-solventes são compostos orgânicos com polaridade intermediária entre o dióxido de carbono e o composto que deseja - se solubilizar (CAMPOS *et al.*, 2005).

Outro fluido que tem despertado o interesse na utilização como solvente em processo de extração é o n-propano. Alguns estudos têm mostrado que o n-propano tem um poder de solvatação muito superior ao do CO₂, como do óleo da semente de canola (PEDERSSETTI, 2008) e o óleo da semente de girassol (NIMET, 2009). Para a planta deste estudo em particular, *Eugenia uniflora* L., não foi encontrado nenhuma referência na literatura envolvendo a extração com n-propano pressurizado.

3.6 FRACIONAMENTOS DE ÓLEOS ESSENCIAIS

A extração e o fracionamento dos extratos obtidos na extração supercrítica são realizados em dois estágios: a extração seletiva e a separação seletiva. A manipulação das variáveis temperatura e pressão bem como a adição de co-solvente permitem uma extração seletiva. No segundo estágio a despressurização, o aquecimento ou resfriamento do extrato permitem um fracionamento dos solutos (MOHAMED, 1997; BRUNNER, 2005).

Os métodos convencionais geralmente empregados para o fracionamento são a destilação a vácuo, separação por membrana, extração com solvente, adsorção e destilação a vapor. Em geral os processos convencionais apresentam baixos rendimentos.

Nos últimos anos, a tecnologia supercrítica vem sendo aplicada para o fracionamento de óleos essenciais. Tal processo apresenta-se bastante promissor, uma vez que correntes livres de solventes são obtidas, as temperaturas de operação são geralmente amenas e rendimentos satisfatórios podem ser alcançados (STUART, 1999).

A extração e o fracionamento de produtos naturais é um das aplicações mais estudadas no campo da extração supercrítica. Nos últimos 10 anos, estudos da extração de óleos essenciais a partir de várias fontes: sementes, frutas, folhas e flores, rizomas, etc, com ou sem a adição de co-solvente têm sido publicados (REVERCHON & MARCO, 2006). Extrações supercríticas de antioxidantes, fármacos, corantes e pesticidas também têm sido estudadas.

Para melhorar o rendimento e baixar o custo de operação do processo de extração com fluido supercrítico, alguns pesquisadores sugerem acoplar uma etapa de adsorção ao processo. Desse modo permite maior seletividade e rendimento.

Com a finalidade de obter uma alta seletividade na adsorção dos lipídios Woo e Lindsay, 1980, utilizaram sílica gel; Deet e colaboradores, 1983, usaram alumina para adsorver os ácidos graxos livres em derivados do leite. Shishikura e colaboradores, 1986, utilizaram sílica gel para remover o

colesterol do óleo extraído, conseguindo reduzir o teor de colesterol a 25 % de seu valor inicial e aumentando-se três vezes a quantidade de adsorvente, o teor de colesterol foi reduzido para 1/17 do valor inicial. No entanto, o rendimento na recuperação do óleo extraído foi apenas de 50 %.

Não foram encontrados relatos de pesquisas que tenham investigado o uso de adsorventes na extração do óleo da folha pitanga (*Eugenia uniflora* L.) Portanto, para a análise da viabilidade deste processo são essenciais estudos experimentais para a obtenção da cinética de extração do óleo em alta pressão empregando diferentes solventes com o intuito de obter um óleo com alto padrão de qualidade.

3.7 ADSORÇÃO

Adsorção pode ser definida como a adesão de moléculas de um fluido denominado adsorbato, a uma superfície sólida, chamada de adsorvente. A adesão ocorre através da fisissorção (onde não há formação da ligação química) ou da quimissorção (onde há formação da ligação química), isto pode ocorrer de acordo com as forças que unem as espécies envolvidas nessa camada. Diferentes tipos de interações são responsáveis pelas ligações que mantêm juntos o adsorvente e o adsorbato (ARAKAKI, 2000).

Na fisissorção, o adsorbato é adsorvido sem haver mudanças em sua natureza química, ou seja, não ocorre a formação e nem o rompimento de ligações químicas. Esse tipo de adsorção ocorre quando um átomo ou uma molécula é ligado à superfície de um sólido adsorvente por forças de van der Waals e ligações de hidrogênio. No caso da quimissorção ou adsorção química o adsorbato sofre mudanças químicas, pois há formação de ligação iônica ou covalente. Neste caso, o adsorvente e o adsorbato devem ser vistos juntos como uma nova entidade única. Este tipo de adsorção ocorre quando um átomo ou molécula é ligado à superfície de um sólido adsorvente através de recobrimento, envolvendo a transferência ou emparelhamento de elétrons com formação de fortes ligações químicas (BALLINI *et al.*, 2005).

O processo de separação por a adsorção é baseado no fato que alguns componentes são atraído mais do que outros na superfície de um dado adsorvente. Deste modo nas vizinhanças da superfície do adsorvente ocorre uma mudança nas propriedades da fase fluida, sendo esta região tratada como uma fase termodinamicamente diferente, cuja localização da fronteira é incerta. Em contrapartida, o processo inverso no qual a quantidade do adsorvato diminui é denominada dessorção.

Como a adsorção é um fenômeno de interface (superfície), uma das principais características de um adsorvente é possuir uma elevada área superficial, sendo estes na sua maioria materiais porosos. Outras características desejáveis dos adsorventes são: alta capacidade de adsorção, seletividade, ser barato e possuir uma vida útil longa. Os adsorventes podem ser amorfos, sem possuir uma estrutura cristalina ordenada, possuindo poros de diâmetro variável e não uniformes. Como exemplos têm o carvão ativo, sílica-gel, resina de troca iônica e alumina. As resinas de troca iônica são pequenas esferas poliméricas carregadas com hidrogênio (resinas catiônicas) ou hidroxilas (resinas aniônicas) O processo de remoção por troca iônica é simples: as resinas catiônicas trocam seus hidrogênios (H^+) por cátions, como sódio, cálcio, magnésio e as resinas aniônicas trocam suas hidroxilas (OH^-) por ânions, como fluoretos, cloretos, sulfatos, bicarbonatos (RUTHVEN, 1984).

No presente trabalho, três adsorventes foram empregados, sílica, alumina e Amberlit® (resina catiônica), alumina tem a mesma característica da sílica (íons OH^- na superfície) um adsorvente hidrofílico, ou seja, tem bastante afinidade com solutos polares, porém, tem área superficial aproximadamente três vezes menor que a da sílica.

3.8 SOLUBILIDADE

O processo de extração supercrítica é dependente da temperatura, pressão, tamanho de partícula, velocidade superficial do fluido, densidade e natureza do solvente (RECASENS *et al.*, 1999). A solubilidade é propriedade

muito importante no processo de extração, pois ela determina a quantidade máxima de soluto que pode ser solubilizada em determinadas condições (AMORIM, 2002).

Desse modo, quanto maior for a solubilidade do soluto maior será a quantidade de produto extraído. Como se trata de uma propriedade termodinâmica a solubilidade depende da pressão, temperatura, natureza e composição do solvente.

3.9 MODELAGEM MATEMÁTICA DO PROCESSO DE EXTRAÇÃO SUPERCRÍTICA

Uma alternativa para melhor compreensão e descrição do processo de extração supercrítica consiste na construção de modelos matemáticos, os quais podem ser obtidos a partir dos mecanismos de transferência de massa e da termodinâmica de equilíbrio de fases para altas pressões. A literatura apresenta em sua maioria modelos de extração supercríticos para misturas binárias, considerando o dióxido de carbono como solvente, o extrato um pseudo componente e a matriz sólida que contém o extrato como sendo formada por partículas esféricas não porosas. Porém, na realidade, as partículas em geral não são porosas e possuem formas e tipos variados.

O mecanismo da transferência de massa da extração a altas pressões de misturas complexas, como óleos essenciais, não é compreendido ainda inteiramente (BRUNNER, 1994; SOVOVÁ *et al.*, 1994).

Na sequência são apresentadas algumas considerações para descrever os modelos no processo de extração supercrítica, onde considera-se a fase fluida como uma mistura binária, isto é, a fase fluida é constituída pelo solvente e o soluto, o qual é considerado como um pseudo componente. Neste estudo, foi testado o modelo matemático de Sovová para descrever a cinética de extração.

3.9.1 Considerações sobre o modelo de SOVOVÁ

Neste modelo considera-se que a difusão é o mecanismo que controla a transferência de massa e não são levadas em conta as variações de concentração do extrato na fase, ou seja, o solvente assume-se como idêntico ao solvente supercrítico. Desse modo, faz-se necessário construir somente o modelo de extração para a matriz sólida.

Considera-se ainda que a maior parte solúvel do extrato encontra-se na primeira parte da curva de extração. Nesta etapa a forma gráfica da curva de extração é representada por uma reta e a resistência a transferência de massa pela difusão é considerada negligenciável, portanto, a única resistência está na fase fluida. Desse modo, para descrever a variação de concentração das partículas da matriz sólida, pode-se considerar o meio como isotrópico, isto é, a concentração da partícula altera-se somente com o tempo (PEDERSSETTI, 2008).

Um dos primeiros trabalhos de modelagem matemática do processo de extração supercrítica foi o de Bulley e colaboradores, 1984, que propuseram um modelo baseado em balanços de diferenciais e nas leis de conservação de massa.

4. MATERIAL E MÉTODOS.

4.1 MATÉRIA – PRIMA VEGETAL/ PRODUTOS QUÍMICOS DIVERSOS

Foram utilizadas folhas de pitanga (*Eugenia uniflora L.*) do mesmo gênero, porém, de espécies distintas, de dois tipos de frutos: uma de coloração vermelho-alaranjada e outra de coloração quase preta, que a partir daqui iremos identificar como vermelha e roxa, respectivamente. Na Figura 3 encontra-se uma imagem desses frutos.



Figura 3 - Frutos de coloração vermelha e roxa.

As folhas foram coletadas em uma propriedade rural, no município de Toledo - PR entre os meses de frutificação, de outubro de 2010 a novembro de 2010, identificadas pelo herbário da Universidade Estadual do Oeste do Paraná – UNIOESTE, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde – HERBÁRIO UNOP, sob o número de registro UNOP 6527.

Para as extrações foram utilizadas folhas secas à sombra, coletadas em pontos aleatórios das plantas, sempre no mesmo horário (14h30min). As amostras foram coletadas nos meses de primavera, época de calor intenso e chuvoso. As folhas selecionadas foram acondicionadas em sacos plásticos de polipropileno e armazenadas em freezer doméstico (Cônsul, Modelo 220, Paraná, Brasil), em temperatura inferior a -5°C, para uso nos experimentos.

Foram utilizados dióxido de carbono, pureza 99%, White Martins (Maringá, PR, Brasil) e Propano, pureza 99,5%, Lindle Gás, (Cambé, PR, Brasil). Todos os solventes e demais produtos químicos utilizados nas análises foram de grau analítico.

4.1.1 Moagem e granulometria do material

As folhas secas foram trituradas em moinho de facas (Marconi, modelo MA 340), homogeneizadas e classificadas quanto à granulometria em peneiras da série Tyler (9 a 48 mesh).

Todas as partículas de tamanho entre 9 a 48 mesh foram utilizadas nos ensaios. Isto se justifica porque neste trabalho não foi pretendido a uniformidade das partículas no leito do extrator, mas sim o conhecimento do diâmetro geométrico médio das mesmas.

4.1.2 Determinação da umidade

Para determinação da umidade as análises foram realizadas em triplicata.

Pesaram-se aproximadamente 5 g de folhas de pitanga (*Eugenia uniflora* L.), em balança analítica (Marte, modelo Am220) com precisão de 0,0002 g, sobre placas de petri limpas e secas, sendo em seguida transferidas para estufa (Nova Ética, modelo 400/4ND). A temperatura da estufa foi ajustada em 105°C por 24 h, conforme metodologia oficial (BRASIL, 1992). Depois de retiradas da estufa as amostras foram transferidas para dessecador contendo sílica gel e deixadas até atingir a temperatura ambiente e em seguida pesadas. O percentual de umidade foi determinado através da diferença entre a massa da amostra antes e depois da secagem.

4.1.3 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

As análises das amostras da folha de pitanga (*Eugenia uniflora L.*) vermelha e roxa, secas e moídas, antes e após a extração com os solventes CO₂ supercrítico e n-propano pressurizado nas condições (temperatura e pressão) de maior rendimento de extração, foram realizadas em um microscópio eletrônico de varredura (MEV), marca Shimadzu, modelo SS-550, com a finalidade da caracterização morfológica das folhas antes e depois do processo de extração supercrítico. Essa técnica permite visualizar o material superficialmente, com aproximadamente 10 µm de espessura. As análises foram realizadas com 0,5 mg do material previamente seco. Para obter a imagem da superfície foi necessário depositar um filme de ouro sobre o suporte, no metalizador marca Shimadzu, modelo IC-50. As análises foram realizadas no complexo de centrais de apoio à pesquisa - COMCAP da Universidade Estadual de Maringá – UEM

4.2. MÉTODOS DE OBTENÇÃO DE EXTRATO DE FOLHAS DE PITANGA (*Eugenia uniflora L.*)

4.2.1 Extração com solvente orgânico – Extrato etéreo

A análise do extrato foi realizada segundo o método oficial A.O.A.C. (1997), que busca determinar substâncias solúveis em éter de petróleo.

Na extração com solvente orgânico utilizou-se aparelho de Soxhlet de 500 mL e folhas de pitanga (*Eugenia uniflora L.*) vermelha e roxa. Adicionaram-se cerca de 5,0 g das folhas de pitanga trituradas e éter de petróleo (Nuclear, p.A) até que todo o material triturado estivesse submerso no solvente. O sistema foi mantido em refluxo durante 16 horas. Evaporou-se o solvente remanescente em estufa, até peso constante ($\pm 0,01$ g), os resultados foram expressos em relação à massa da amostra inicial.

4.2.2 Hidrodestilação – Clevenger

O óleo volátil foi obtido por hidrodestilação, seguindo o método oficial A.O.A.C. (1995). Foram pesados 50 g de folhas de pitanga (*Eugenia uniflora* L.) vermelha e roxa, colocados em um balão de 1000 mL. Em seguida, foram adicionados 500 mL de água destilada. Procedeu-se a destilação com o aparato de Clevenger mostrado na Figura 4. Após duas horas do início da destilação, observou-se que não havia alterações no volume de extrato na parte superior do tubo coletor graduado. O óleo volátil foi seco com sulfato de sódio anidro (Synth) armazenado em frasco de vidro âmbar (5 mL) e acondicionado em freezer doméstico para posterior análise da composição química.

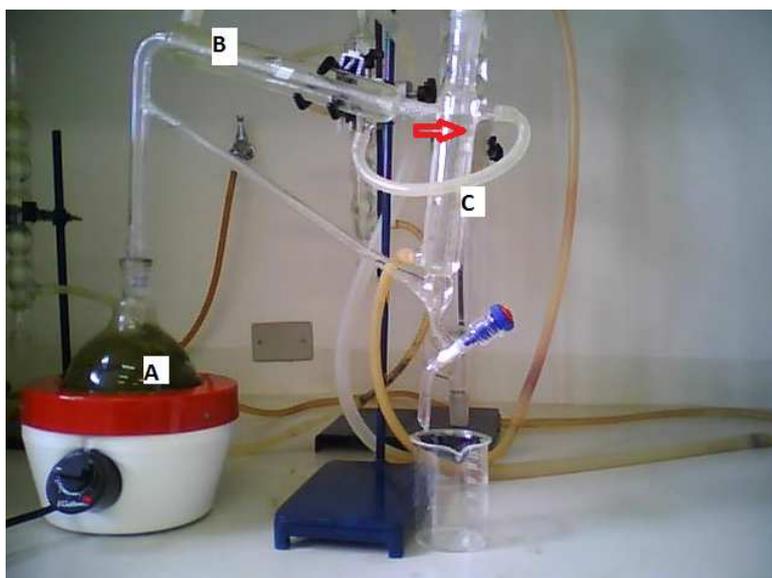


Figura 4 - Aparelho Clevenger. A balão com a matéria vegetal, B e C os condensadores e a *flecha* aonde se coleta o óleo essencial.

A hidrodestilação do óleo das folhas de pitanga (*Eugenia uniflora* L.), vermelha e roxa foram efetuadas no laboratório do Departamento de Farmácia e Farmacologia da Universidade Estadual de Maringá – UEM.

4.3 EQUIPAMENTO DE EXTRAÇÃO E FRACIONAMENTO SUPERCRÍTICO

Os experimentos foram realizados em uma unidade experimental de bancada, conforme esquematizado na Figura 5. A unidade experimental consiste, basicamente, de um cilindro de CO₂ ou n-propano (A), dois banhos termostáticos (B, C), uma bomba de alta pressão (F), um extrator (D), coluna de fracionamento (E), um tubo coletor de vidro (I), válvula micrométrica (H) e um transdutor absoluto de pressão (G).

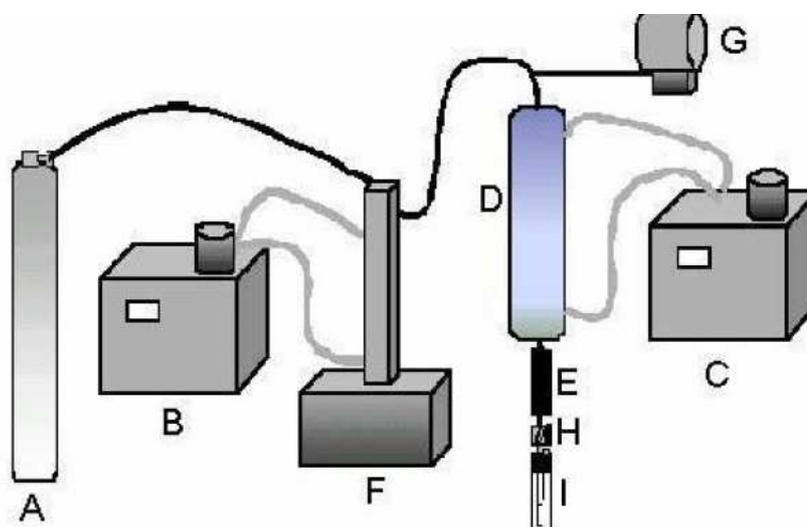


Figura 5 - Esquema representativo do equipamento utilizado para extração e fracionamento do óleo essencial de pitanga (*Eugenia Uniflora L.*) vermelha e roxa.

Foram introduzidas aproximadamente 20 g de folhas secas e moídas de pitanga (*Eugenia uniflora L.*) vermelha ou roxa no extrator (D) de 2,85 cm de diâmetro e 26,1 cm de altura, com volume de 166,5 cm³. Antes de ser introduzido na bomba de alta pressão o solvente (CO₂ ou n-propano) foi resfriado a 5°C por um banho termostático. Após o resfriamento e já na fase líquida o solvente foi bombeado permitindo a passagem do solvente ao extrator. Posteriormente o sistema foi pressurizado até atingir as condições estipuladas para o experimento. Na sequência abriu-se a válvula micrométrica com um fluxo constante de 3 cm³min⁻¹ para o CO₂ e 5 cm³min⁻¹ para o n-

propano, sendo o mesmo controlado através de uma válvula de expansão (Autoclave Engineers) mantida a 105°C para o CO₂ e 80°C para o n-propano, usando-se de um termorregulador (Tholz, modelo CTM-04E).

As condições de temperatura e pressão no extrator foram mantidas constantes, cujos valores para cada ensaio pode ser visualizado na Tabela 3.

O óleo extraído foi coletado em intervalos de tempo pré-definidos, sendo 10, 20, 30, 40, 50, 60, 80, 100, 120, 150 e 180 min para o CO₂ e 5, 10, 15, 20, 25, 30, 40, 50 e 60 min para o n-propano em um frasco de vidro âmbar, de massa conhecida. A cada intervalo de tempo determinava-se a massa de óleo extraída. Para ambos os fluidos, finalizou-se o processo quando a massa pontual (massa de óleo extraída/tempo) passou a ser constante.

4.3.1. Extração supercrítica

O presente trabalho buscou avaliar o efeito das variáveis de extrações (temperatura, pressão e solventes diferentes) e também o emprego de fases estacionárias para um fracionamento do óleo essencial sobre um rendimento e um perfil químico do óleo essencial da folha de pitanga (*Eugenia uniflora* L.) vermelha e roxa.

As condições operacionais (temperatura e pressão) utilizadas partiram de um planejamento de experimentos, visto que altas temperaturas não são recomendadas, pois podem degradar os princípios ativos, presentes na planta. O estudo foi dividido em duas etapas.

Numa primeira etapa, sem acoplamento da fase estacionária, para formação do leito, a amostra foi acomodada uniformemente na saída do extrator, o restante da célula de extração foi preenchida com esferas de vidro (leito inerte). O solvente liberado pela entrada do extrator passou inicialmente pelo leito inerte e posteriormente pela matriz vegetal, conforme procedimento descrito no item 4.3. As variáveis de extração estão apresentadas na Tabela 3.

Tabela 3 Condições de extração do óleo de folha de pitanga (*Eugenia uniflora L.*) vermelha e roxa para os solventes CO₂ e n-propano.

Ensaio	CO ₂		n-propano	
	Temp / °C	Pressão / Bar	Temp / °C	Pressão / Bar
1	50	150	30	40
2	50	250	30	80
3	60	150	45	60
4	60	250	60	40
5	-	-	60	80

Na segunda etapa do estudo, foram utilizadas as condições (temperatura e pressão) de maior rendimento de extração da primeira etapa. Na Figura 6 é apresentada a coluna de fracionamento acoplada ao extrator supercrítico e na Figura 7 tem-se uma vista superior da coluna de fracionamento, que foi preenchida manualmente pelas fases estacionárias distintas: sílica 200-500 µm (35-70 mesh, Silicycle), alumina, pellets, 3 mm (Sigma-Aldrich) e Amberlit® IR-120 (Synth). As massas utilizadas na extração de ambos os solventes e espécies de pitanga (*Eugenia uniflora L.*) vermelha e roxa, foram respectivamente 1,6, 3,0 e 4,0 g. Não houve mistura das fases estacionárias, e as condições (temperatura e pressão) de extração estão apresentadas na Tabela 4.

Tabela 4 Condições de extração do óleo de folha de *Eugenia uniflora* vermelha e roxa para os solventes CO₂ e n-propano nas fases estacionárias distintas: sílica, alumina e Amberlit®.

<i>Eugenia</i> <i>uniflora</i> L.	CO ₂		n-propano	
	Temp / °C	Pressão / Bar	Temp / °C	Pressão / Bar
Vermelha	60	250	60	40
Roxa	60	250	30	40

Para o dióxido de carbono, a temperatura e pressão foram mantidas fixas em 60°C e 250 bar, para ambas as espécies de pitanga (*Eugenia uniflora* L.), vermelha e roxa. No solvente n-propano a temperatura e pressão, foram 60°C e 40 bar, para pitanga (*Eugenia uniflora* L.) vermelha e 30°C e 40 bar para pitanga (*Eugenia uniflora* L.) roxa.

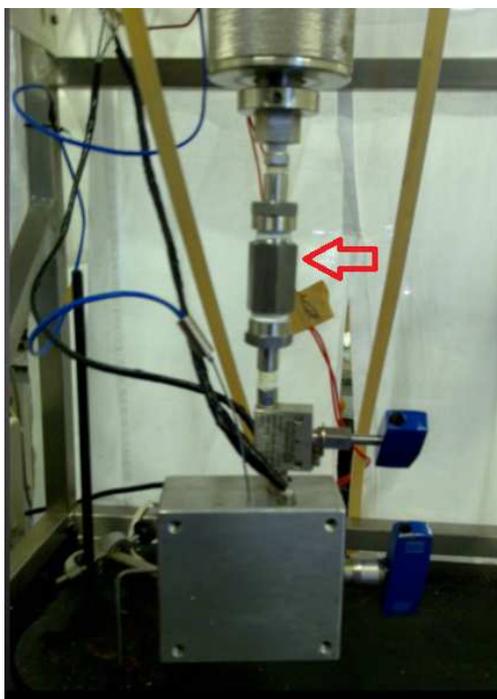


Figura 6 - Coluna de fracionamento acoplada ao extrator.



Figura 7 - Vista superior da coluna de fracionamento.

Após a extração acoplada a fase estacionária, o adsorvente (sílica ou alumina ou Amberlit®) era retirado da coluna de fracionamento acondicionado em um vidro âmbar e armazenado em freezer, para uso na dessorção.

A dessorção foi realizada colocando-se a fase estacionária dentro de bureta com o material suportado com algodão. A solução era dessorvida utilizando uma mistura de 50% de acetona (Nucler, p.A.) e 50% de metanol (Nucler, p.A.) a solução era submetida à secagem do solvente com nitrogênio até peso constante.

4.3.2 Determinação da porosidade do leito

Para determinação da porosidade do leito calculou-se inicialmente o volume ocupado pelo leito dentro do extrator cilíndrico, o qual correspondeu a $166,5 \text{ cm}^3$ em função da altura (26,1 cm) e diâmetro (2,85 cm) do mesmo. Em seguida, efetuou-se o enchimento do mesmo com o fluido dióxido de carbono, do qual gastou-se $65,11 \text{ cm}^3$ para o total enchimento do extrator. Após, com o extrator vazio, inseriu-se 20 g de folhas secas e moídas de pitanga (*Eugenia uniflora L.*) roxa, o restante da célula de extração foi preenchida com esferas de

vidro e completou-se o volume do mesmo com o solvente, sendo gasto 33,73 cm³ de dióxido de carbono para o enchimento, o que correspondeu, portanto a um volume de sólido de 31,38 cm³. Na sequência calculou-se a porosidade do leito (ε) pela Equação 1:

$$\varepsilon = \frac{V_l - V_s}{V_l} \quad (1)$$

Sendo que V_l corresponde ao volume ocupado pelo leito e V_s é o volume de sólido dentro do extrator.

4.3.3. Determinação da solubilidade experimental do óleo de pitanga (*Eugenia uniflora* L.)

A solubilidade dos óleos extraídos foi determinada pelo método dinâmico, que utiliza uma das fases do sistema sujeita a um deslocamento em relação à outra. Inicialmente o soluto foi pressurizado no leito onde aguardavam-se aproximadamente 30 minutos para que o sistema atingisse o equilíbrio. Desde modo, na parte inicial da curva de extração o fluido (CO₂ ou n-propano) se encontra saturado, ou seja, a concentração na saída é igual a concentração de equilíbrio. Portanto, a concentração de equilíbrio foi calculada pela Equação (2);

$$S = \frac{b_{\text{óleo}}}{b_{\text{solvente}}} \quad (2)$$

Sendo b o coeficiente angular da massa de óleo, $b_{\text{óleo}}$ e b_{solvente} são obtidos a partir de uma regressão linear da massa de óleo extraída e massa de solvente em função do tempo, considerando apenas a parte linear da curva de extração.

4.3.4 Modelagem da extração do óleo de folha de pitanga (*Eugenia uniflora* L.)

O modelo proposto por Sovová (1994) considera as seguintes hipóteses: (i) um processo isotérmico e isobárico; (ii) que as transferências de massa devido a dispersão axial e radial são negligenciáveis; (iii) parte das paredes das folhas foram rompidas pelo processo de moagem (iv); parte do óleo fica diretamente exposta ao contato com o solvente na extração, e (v) dois mecanismos e transferência de massa. Na primeira fase, o soluto é facilmente acessível ao solvente até ser esgotado. Na segunda etapa, a fase sólida controla a transferência de massa por um mecanismo de difusão soluto, no qual o óleo extraído se encontra no interior das partículas da fase sólida.

Neste modelo, o perfil da concentração do soluto na fase fluida é dividida em três etapas:

- a) primeira etapa considera que o soluto de fácil acesso disponível na superfície das partículas sólidas vai se esgotando ao longo do leito. Esta etapa é chamada de taxa constante de extração (CER), onde $t_{CER}(s)$ é o final da etapa de taxa de extração constante;
- b) na segunda etapa o soluto de fácil acesso vai se esgotando ao longo do leito e começa a acontecer extração de soluto de difícil acesso. Esta etapa é chamada de FER, onde $t_{FER}(s)$ é o final da etapa de extração decrescente;
- c) na terceira etapa são retirados os solutos de difícil acesso presentes no interior das partículas sólidas – esta etapa é denominada etapa difusional, sendo controlada pela resistência interna a transferência de massa.

O modelo matemático de Sovová apresenta solução analítica, e a expressão obtida para representar a massa de óleo extraída é dividida em três partes, representada pelas Equações (3), (4) e (5) (SOVOVÁ, 1994; FERREIRA & MEIRELES, 2002).

$$m_{óleo} = m_i S_B t [1 - \exp(-Z)], \text{ para } 0 \leq t \leq t_{CER} \quad (3)$$

$$m_{\acute{o}leo} = m_i \rho_b S_b t [t - t_{CER} \exp(Zm(t) - Z)], \text{ para } t_{CER} \leq t \leq t_{FER} \quad (4)$$

$$m_{\acute{o}leo} = m_s \left\{ q_0 - \frac{S_b}{W} \ln \left[\frac{1 + \left(\exp\left(\frac{Wq_0}{S_b}\right) - 1 \right)}{x \exp\left(\frac{Wm_i}{m_s}\right) (t_{CER} - t) r} \right] \right\} t \geq t_{FER} \quad (5)$$

Sendo \dot{m}_f a taxa de fluxo de massa do solvente, S_b a solubilidade do óleo no solvente (g óleo / g solvente), t o tempo de extração, q_0 a concentração de óleo inicial na matriz sólida (g óleo / g sólido), m_s a massa sólida de uma base óleo-livre, ρ_{bed} a densidade do leito (g sólido / cm³), ρ_F a densidade do solvente, $K_y a$ o coeficiente de transferência de massa da fase solvente (min⁻¹), $K_s a$ o coeficiente de massa da fase sólida (min⁻¹), r a fração de óleo de fácil acesso, t_{CER} o momento de início da extração do óleo a partir do interior da partícula representada pela Equação (6) e t_{FER} o momento final de extração de soluto de fácil acesso representada pela Equação (7). As Equações (8), (9) e (10) são usadas para os parâmetros adimensionais do modelo de Sovová (Z, W e r) que foram determinados usando o método Downhill Simplex (Nelder & Mead, 1965) minimizando a função objetiva representada pela Equação (11).

$$t_{CER} = \frac{(1-r)m_s q_0}{S_b Z m_F} \quad (6)$$

$$t_{FER} = t_{CER} + \frac{m_s}{W m_F} \ln \left[r + (1-r) \exp\left(\frac{Wq_0}{S_b}\right) \right] \quad (7)$$

$$Zm(t) = \frac{ZS_b}{Wq_0} \ln \left\{ \frac{1}{1-r} \left[\exp\left[\left(\frac{Wm_i}{m_s}\right) (t - t_{CER})\right] - r \right] \right\} \quad (8)$$

$$Z = \frac{k_Y \alpha m_s \rho_F}{m_F^2 \rho_{\text{óleo}}} \quad (9)$$

$$W = \frac{m_s k_s \alpha}{m_F (1-s)} \quad (10)$$

$$F = \sum_{j=1}^{n-\text{exp}} \left(m_{\text{óleo}_j}^{\text{Calc}} - m_{\text{óleo}_j}^{\text{exp}} \right) \quad (11)$$

Sendo $m_{\text{óleo}_j}^{\text{Calc}}$ a massa calculada de óleo extraído, $m_{\text{óleo}_j}^{\text{exp}}$ a massa de óleo obtida experimentalmente, e $n - \text{exp}$ o número de pontos dos dados experimentais na curva cinética.

4.3.5 Cálculo do coeficiente de determinação (R^2)

O coeficiente de determinação (R^2) é uma medida da proporção da variabilidade em uma variável que é explicada pela variabilidade da outra (SARMENTO, 2006) e foi calculado de acordo com a Equação (12):

$$R^2 = 1 - \frac{\sum_{i=1}^n (y_i^{\text{EXP}} - y_i^{\text{MOD}})^2}{\sum_{i=1}^n (y_i^{\text{EXP}} - \bar{y})^2} \quad (12)$$

4.3.6 Cálculo do erro médio absoluto

O erro médio absoluto (ADD) é calculado como sendo a diferença entre o valor experimental e o valor predito pelo modelo conforme Equação (13):

$$ADD = \frac{1}{N} \sum_{j=1}^n \frac{|m_j^{\text{EXP}} - m_j^{\text{MOD}}| \times 100}{m_j^{\text{EXP}}} \quad (13)$$

4.3.7 Análises cromatográficas

Os extratos obtidos na extração supercrítica e hidrodestilação foram submetidos a cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa (CG-EM) para análise qualitativa de seus constituintes. Estas análises foram realizadas no complexo de centrais de apoio à pesquisa - COMCAP da Universidade Estadual de Maringá – UEM.

4.3.8 Condições de análise CG-EM

As análises foram realizadas em um cromatógrafo de fase gasosa acoplado a um espectrômetro de massas com detector quadrupolo, marca Thermo-Electron, modelo Focus DSQ II, com amostrador automático modelo Triplus. Usou-se coluna capilar DB-5 (5% fenil e 95% polidimetilsiloxano) com dimensões (30 m x 0,32 mm, 0,5 mm). A fase móvel utilizada foi o gás hélio com 99,99% de pureza, (White Martins), com vazão de $1,0 \text{ cm}^3\text{min}^{-1}$. Quatro miligramas de cada amostra foram diluídas em 1 mL de acetato de etila (Carlo Erba, p.A), contendo 50 mgL^{-1} de padrão interno bifenil, o padrão interno foi usado para acompanhar o tempo de retenção dos compostos e confirmar a robustez do método. O volume injetado foi de $1 \mu\text{L}$. A injeção foi realizada em modo *splitless*, sendo que a temperatura do injetor foi de 220°C e a temperatura do detector foi de 240°C . A dinâmica de aquecimento do forno foi de 3°Cmin^{-1} de 60°C até a temperatura de 240°C , sendo mantida n esta temperatura por 7 minutos. A temperatura no detector e na interface foi mantida em 240°C . A identificação de cada composto foi pela comparação dos espectros de massas, de uma biblioteca “NIST MS *search*”, versão 2.0, contida no *software* “Xcalibur” que acompanha o equipamento. A confirmação do composto alfa bisabolol consistiu em adicionar uma quantidade conhecida (0,1 mL) do padrão de alfa bisabolol ($\geq 95\%$, Sigma Aldrich, lote BCBC5372) na concentração $0,892 \text{ mgmL}^{-1}$ a confirmação foi por tempo de retenção e adição de padrão na amostra.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 CARACTERIZAÇÕES

A caracterização da matéria-prima é uma questão muito importante para conhecer fatores que podem influenciar e auxiliar no desenvolvimento do projeto de pesquisa. A determinação da umidade, granulometria e da porosidade do leito são fundamentais na interpretação do comportamento do fluido supercrítico na extração da matriz vegetal.

5.1.1 Umidade

Os valores de umidade das folhas de pitanga (*Eugenia uniflora* L.) vermelha e roxa, obtidos em análises realizadas em triplicata, apresentam um valor médio de 1,68% (vermelha) e 1,34% (roxa). Os dados das análises individuais são apresentados na Tabela 5

Tabela 5 Umidade das folhas de pitanga (*Eugenia uniflora* L.).

Ensaio	Umidade / (%)	
	Vermelha	Roxa
1	1,60	1,16
2	1,67	1,46
3	1,76	1,40
Média	1,68 ± 0,06	1,34 ± 0,12

5.1.2 Granulometria

Os resultados das análises de granulometria das folhas de pitanga (*Eugenia uniflora* L.) vermelha e roxa, depois de trituradas são mostrados nas

Tabelas 6 e 7. O ensaio foi feito com uma massa inicial de 500 g da amostra de folhas trituradas. O diâmetro médio das partículas de ambas as espécies foi de 0,45 mm, sendo que aproximadamente 90% da massa total das partículas encontrou-se com diâmetro médio entre 0,60 e 0,30 mm (28 e 48 mesh, respectivamente).

Tabela 6 Granulometria das folhas de pitanga (*Eugenia uniflora L.*) - vermelha

Mesh	Abertura nominal / (mm)	Massa retida / (g)	Amostra retida / (%)
9	2,00	6,00	1,20
12	1,41	5,00	1,00
16	1,00	41,00	8,20
28	0,60	117,00	23,40
35	0,42	84,00	16,80
48	0,30	247,00	49,40
Diâmetro médio / (mm)		0,45	

Tabela 7 Granulometria das folhas de pitanga (*Eugenia uniflora L.*) – roxa

Mesh	Abertura nominal / (mm)	Massa retida / (g)	Amostra retida / (%)
9	2,00	8,00	1,60
12	1,41	4,00	0,80
16	1,00	54,00	10,80
28	0,60	102,00	20,40
35	0,42	96,00	19,20
48	0,30	236,00	47,20
Diâmetro médio / (mm)		0,45	

5.1.3 Porosidade

A porosidade do leito foi determinada conforme o procedimento descrito na seção 4.3.1 e o valor obtido foi de 0,81 ou 81 % permeável ao fluido.

5.1.4 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

Na Figura 8 (a-f) mostra-se as micrografias das folhas de pitanga (*Eugenia uniflora* L.) vermelha e roxa nos solventes CO₂ e n-propano, respectivamente. Pode-se observar que as folhas antes da extração (Figura 8 (a,d)) apresentaram uma superfície com poucas cavidades e após a extração com CO₂ supercrítico (Figura 8 (b,e)) estas folhas apresentaram uma estrutura com um número maior de cavidades. O mesmo perfil pode ser observado para a extração com o solvente n-propano pressurizado, porém, as cavidades são menos intensas esse comportamento deve estar relacionado com a pressão usada na extração com n-propano, 40 Bar, muito menor que a pressão usada na extração com CO₂ supercrítico, 250 Bar.

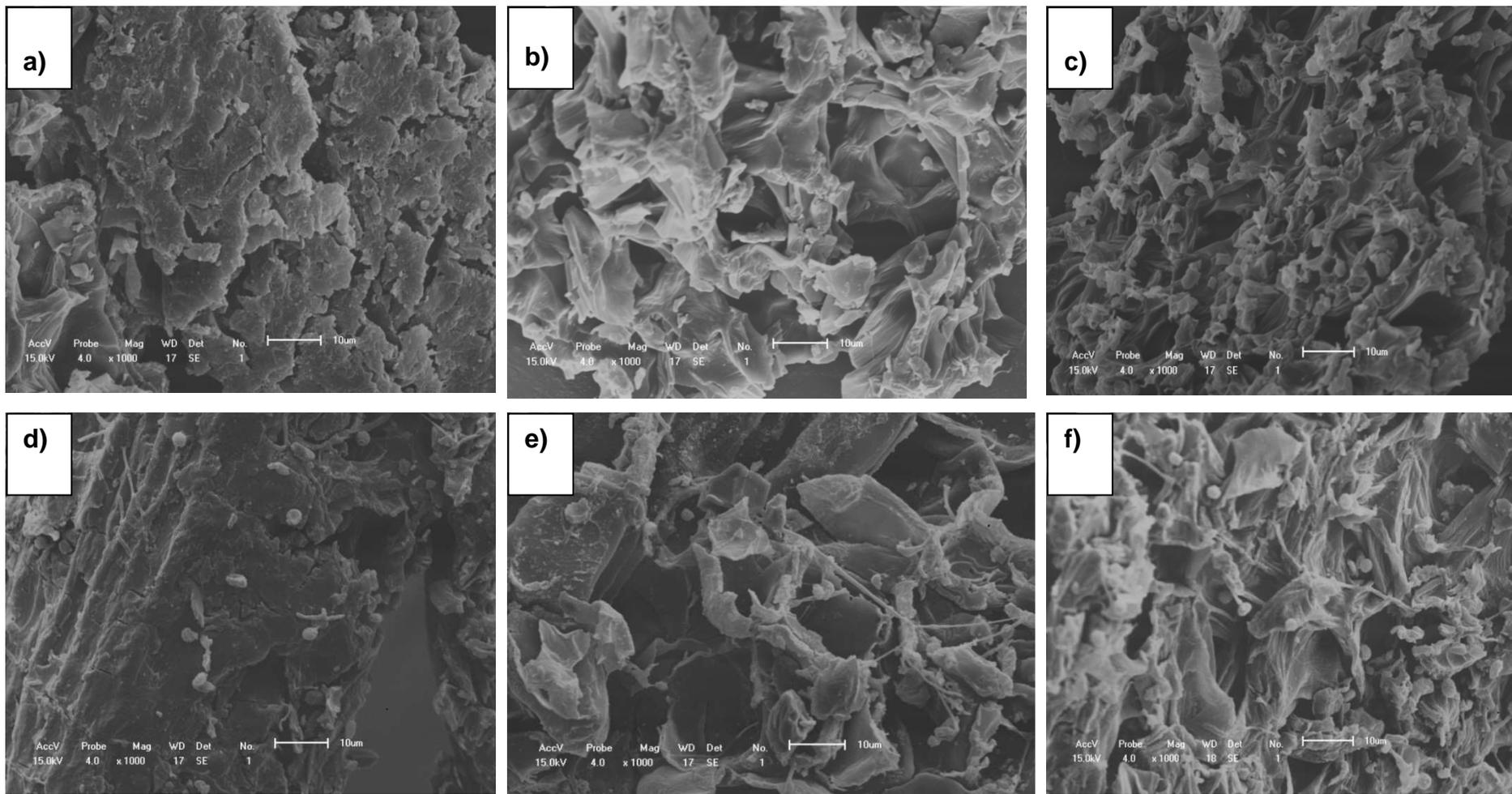


Figura 8 - Micrografias das folhas de pitanga (*Eugenia uniflora* L.) sem extração vermelha (a) e roxa (d), após extração com CO₂ como solvente vermelha (b) e roxa (e), n-propano pressurizado como solvente vermelha (c) e roxa (f).

5.2 RENDIMENTO - HIDRODESTILAÇÃO

O rendimento do extrato via hidrodestilação obtido pelo valor médio de três experimentos foi de 0,22 % e 0,18 % para folhas de pitanga (*Eugenia uniflora L.*) vermelha e roxa respectivamente, como mostrado na Tabela 9.

Tabela 9 Rendimento do extrato via hidrodestilação das folhas de pitanga (*Eugenia uniflora L.*)

Ensaio	Massa / (g)		Rendimento do Extrato Hidrodestilação / (%)	
	Vermelha	Roxa	Vermelha	Roxa
1	40,71	40,65	0,21	0,18
2	40,28	40,19	0,22	0,20
3	40,82	40,46	0,23	0,16
		Média	0,22 ± 0,01	0,18 ± 0,02

O rendimento da extração com éter de petróleo é costumeiramente mais alto que os obtidos nos demais métodos, porém, é um método extremo que usa de altas temperaturas e tempo de extração de horas, além de não ter seletividade. Os valores de rendimento aqui encontrados, 5,44 % e 5,70 % para folhas de pitanga (*Eugenia uniflora L.*) vermelha e roxa respectivamente, são próximos dos 5,92% reportados por (PEIXOTO, 2008) das folhas de pitanga (*Eugenia uniflora L.*) que estamos identificando como vermelha.

O rendimento da extração de óleo essencial obtido por hidrodestilação das folhas de pitanga (*Eugenia uniflora L.*) reportados na literatura, são de 1% (WEYERSTAHL *et al.*, 1988), de 1,8% (MAIA *et al.*, 1997), de 0,74% (MORAIS *et al.*, 1996) e de 0,54% (PEIXOTO, 2008). Os resultados encontrados nesse trabalho apresentaram uma média de rendimento de 0,22% e 0,18% para folhas de pitanga (*Eugenia uniflora L.*) vermelha e roxa, respectivamente.

5.3 EXTRAÇÃO COM DIÓXIDO DE CARBONO SUPERCRÍTICA E N-PROPANO PRESSURIZADO

Nesse trabalho foram avaliados os efeitos da pressão e da temperatura na extração do óleo das folhas de pitanga (*Eugenia uniflora L.*) vermelha e roxa, pelos solventes CO₂ e n-propano.

Para o cálculo do rendimento de massa nas extrações supercrítica foi usado a Equação (15):

$$\text{Rendimento} = \frac{M_{\text{Total de óleo}}}{M_{\text{amostra}}} \times 100 \quad (15)$$

Em que M_{Total de óleo} é a massa total de óleo extraída e M_{amostra} é a massa de amostra usada na extração.

A curva global frequentemente é usada para descrever o comportamento de extração. Através do método dinâmico (soluto é continuamente removido pelo fluido), as curvas de extração mostradas nas Figuras 9, 10, 11 e 12 são obtidas pela relação entre a quantidade de massa de óleo extraída *versus* o tempo de extração, mantida a um fluxo constante dos solventes CO₂ ou n-propano.

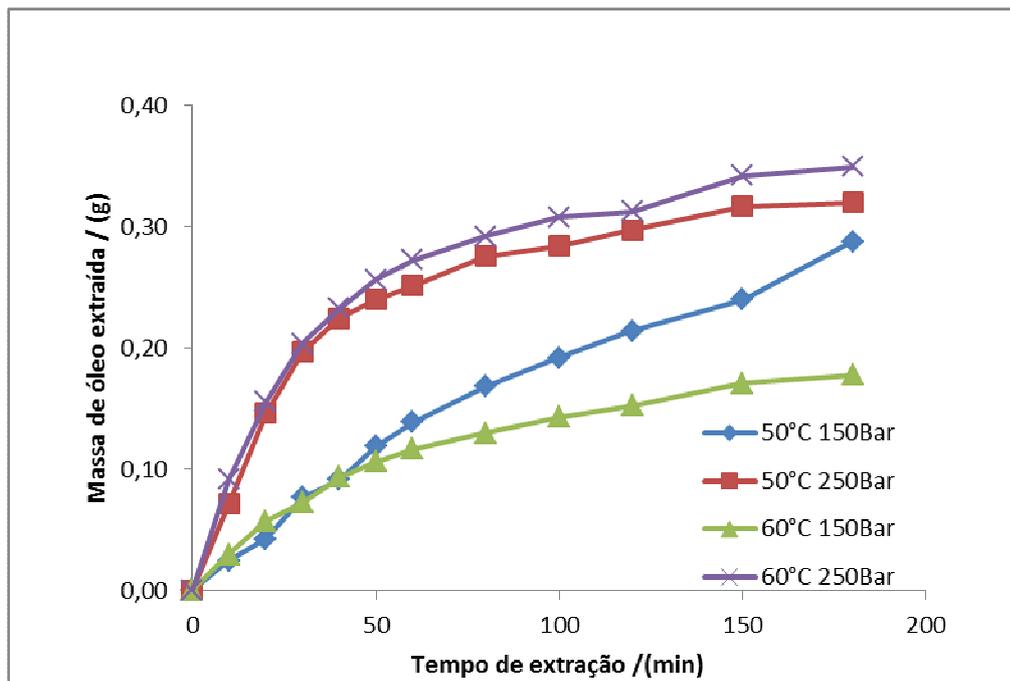


Figura 9 - Curvas cinéticas da extração do óleo essencial das folhas de *E. uniflora L.* vermelha utilizando CO₂ supercrítico em diferentes condições de temperatura e pressão.

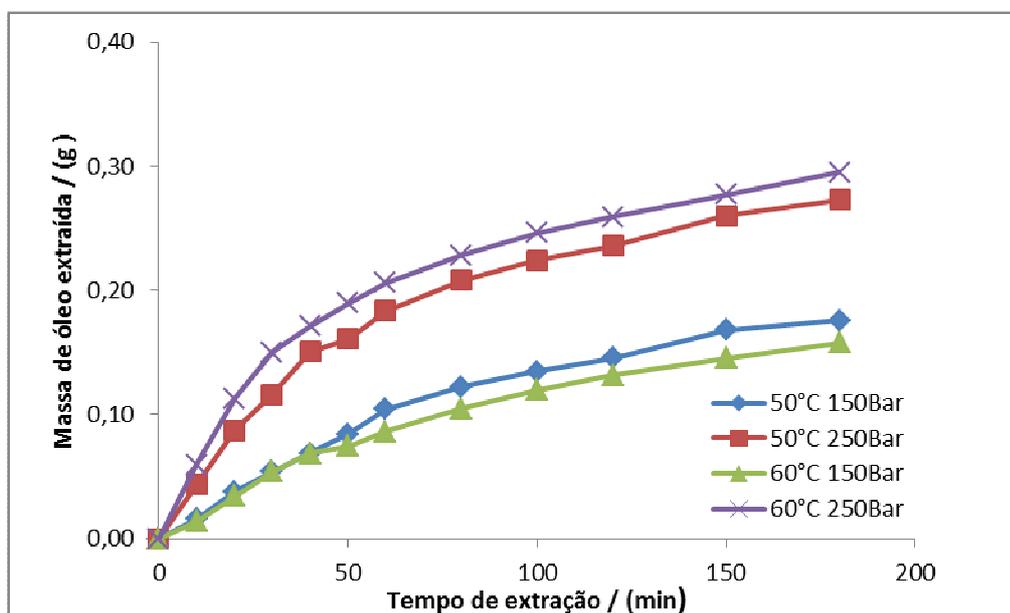


Figura 10 - Curvas cinéticas da extração do óleo essencial das folhas de *E. uniflora L.* roxa utilizando CO₂ supercrítico em diferentes condições de temperatura e pressão.

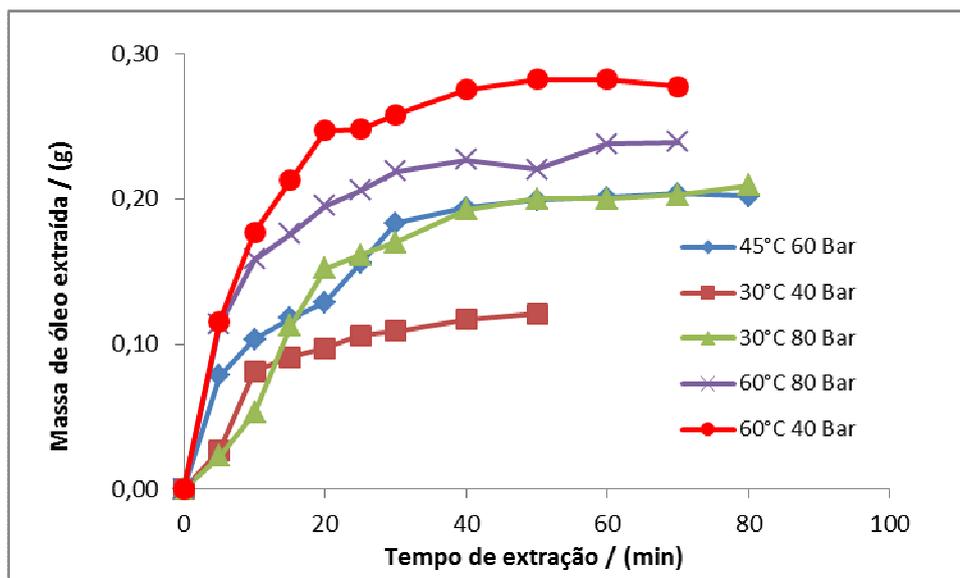


Figura 11 - Curvas cinéticas da extração do óleo essencial das folhas de *E. uniflora L. vermelha* utilizando n-propano pressurizado em diferentes condições de temperatura e pressão.

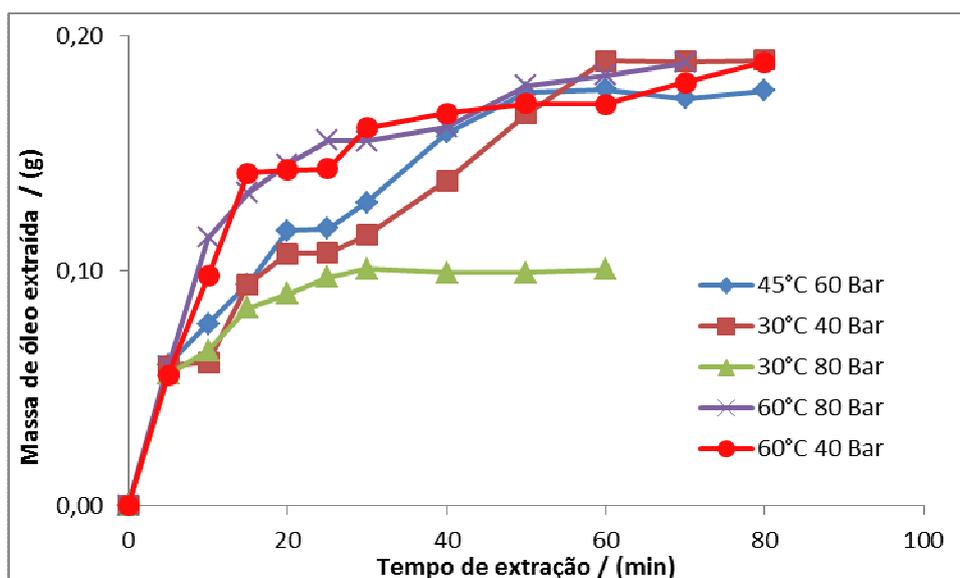


Figura 12 - Curvas cinéticas da extração do óleo essencial das folhas de *E. uniflora L. roxa* utilizando n-propano pressurizado em diferentes condições de temperatura e pressão

Nas Figuras 9 e 10, observa-se pela cinética de extração, que nas condições mais extremas de temperatura e pressão (60°C e 250 bar) obteve-se um maior rendimento de extrato.

As Figuras 11 e 12 apresentam as cinéticas das extrações usando-se n-propano pressurizado. Analisando os tempos de extração em todas as condições experimentais, observa-se que o tempo de extração foi menor com n-propano pressurizado comparado o tempo de extração utilizando CO₂. Isso deve-se ao fato da polaridade do n-propano ser maior que a do solvente CO₂ melhorando assim o poder de solvatação e diminuindo o tempo de extração (MOYLER, 1993). Os tempos de extração do óleo das folhas de pitanga (*Eugenia uniflora L.*) foram definidos a partir da condição em que a massa de óleo extraída não apresentasse uma variação significativa. Para o CO₂ as extrações foram realizadas todas em 180 minutos e para o n-propano as extrações foram realizadas entre 50 a 80 minutos.

Na Tabela 8 são apresentados os valores de densidade dos solventes CO₂ e n-propano, nas diferentes condições de temperatura e pressão realizadas nos experimentos, assim como os respectivos rendimentos de extração.

Tabela 8 Parâmetros da extração supercrítica, utilizando CO₂ e n-propano como solventes das folhas de *Eugenia uniflora L.* vermelha e roxa.

Ensaio	Tem (°C)	Pressão (Bar)	Tempo (min)	Densidade (g/cm ³)	Rendimento / %	
					Vermelha	Roxa
Solvente CO₂						
1	50	150	180	0,70	1,64	0,87
2	50	250		0,84	1,59	1,36
3	60	150		0,61	0,89	0,79
4	60	250		0,79	1,74	1,48
Solvente n-propano						
5	30	40	50	0,49	0,61	0,93
6	30	80	60	0,51	1,04	0,50
7	45	60	80	0,48	1,01	0,88
8	60	40	70	0,44	1,39	0,93
9	60	80	70	0,46	1,17	0,94

Na Tabela 8 observa-se que para o solvente CO₂ a temperatura fixa em 50°C e variando a pressão de 150 bar para 250 bar, apresenta um aumento da densidade do solvente, porém, no rendimento da extração da *Eugenia uniflora* L. vermelha ocorreu um decréscimo, uma característica dessa planta, como reportado por Peixoto, 2008.

Para os ensaios de extração na Tabela 8, que empregaram o solvente CO₂, pode-se observar que variando a densidade do solvente pode não se obter os maiores rendimentos de extração. No ensaio 2, que apresenta a maior densidade do solvente CO₂, (0,84 g cm⁻³) seu rendimento foi menor que o ensaio 4, onde o solvente apresenta densidade de 0,79 g cm⁻³. Neste caso, verificou-se que a densidade influenciou na extração, mas a variação da pressão está influenciando mais que a densidade nas extrações.

Com o solvente n-propano as condições que apresentaram maior rendimento nas extrações foram os ensaios 5, 8 e 9, com densidade 0,49 g cm⁻³, 0,44 g cm⁻³ e 0,46 g cm⁻³ respectivamente. Observa-se também que para n-propano a variação da pressão pode estar influenciando mais que a densidade nas extrações.

Estes resultados concordam com os valores obtidos por Nimet, 2009, que utilizou o solvente n-propano para extração de óleo de girassol, que ao utilizar a densidade do n-propano no valor mais alto de 0,51 g cm⁻³, obteve rendimento de extração menor que ao utilizar a densidade de 0,47 g cm⁻³.

Para a etapa de acoplamento da fase estacionária foram usadas as condições experimentais de maior rendimento de extração. Com o solvente CO₂ foram empregados as condições do ensaio 4 para ambas espécies da pitanga (*Eugenia uniflora* L.) vermelha e roxa. Com o solvente n-propano foram usadas as condições dos ensaios 5 e 8, para pitanga (*Eugenia uniflora* L.) roxa e vermelha, respectivamente. Para a (*Eugenia uniflora* L.) roxa o resultado de rendimento dos ensaios 5, 8 e 9 foram muito próximos, sendo assim, foram utilizadas as condições do ensaio 5, visto que são condições mais amenas de extração, para minimizar a degradação térmica de compostos.

5.3.1. Fracionamento do extrato de pitanga (*Eugenia uniflora* L.) na extração com dióxido de carbono (CO₂) supercrítico e n-propano pressurizado

O processo de fracionamento do óleo de pitanga (*Eugenia uniflora* L.) vermelha e roxa foi conduzido acoplando uma coluna de fracionamento após o extrator, como foi mostrado na Figura 6, seção 4.3.1. As condições experimentais de maior rendimento de extração, sem o acoplamento da coluna de extração foram escolhidas para realizar os experimentos para fracionamento do óleo de pitanga, cujas condições são apresentadas na Tabela 4, seção 4.3.1.

O acoplamento de uma coluna de fracionamento na extração teve como objetivo conseguir um extrato mais seletivo. As curvas de extração mostradas nas Figuras 13 a 16 foram obtidas pela relação entre a quantidade de massa de óleo extraída *versus* o tempo de extração, mantida a um fluxo constante dos solventes CO₂ ou n-propano com o acoplamento de colunas com as fases estacionárias: sílica, alumina e Amberlit®.

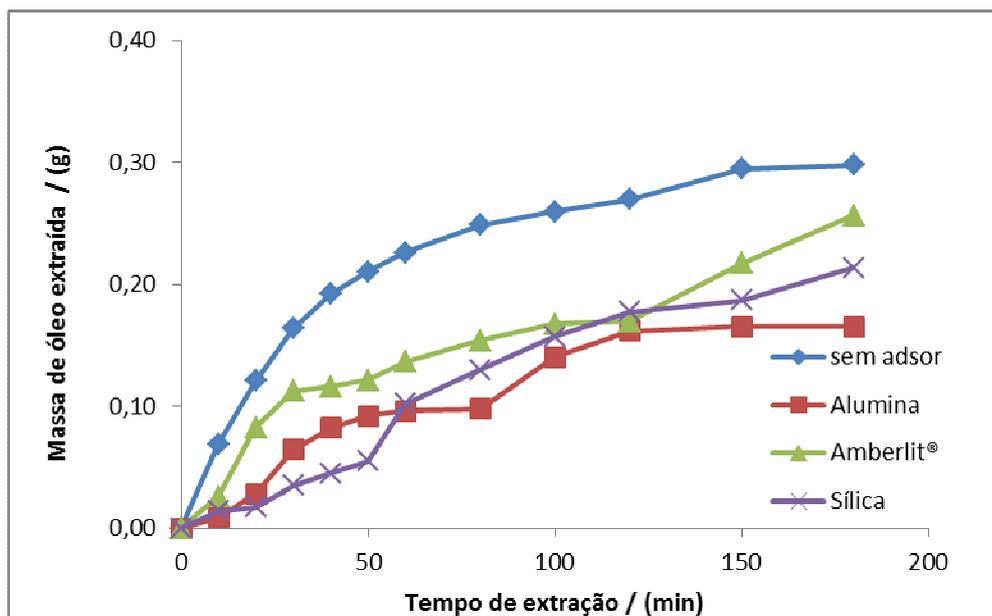


Figura 13 - Curvas cinéticas da extração do óleo essencial das folhas de *E. uniflora* L. vermelha utilizando CO₂ supercrítico nas fases estacionárias: sílica, alumina e Amberlit®.

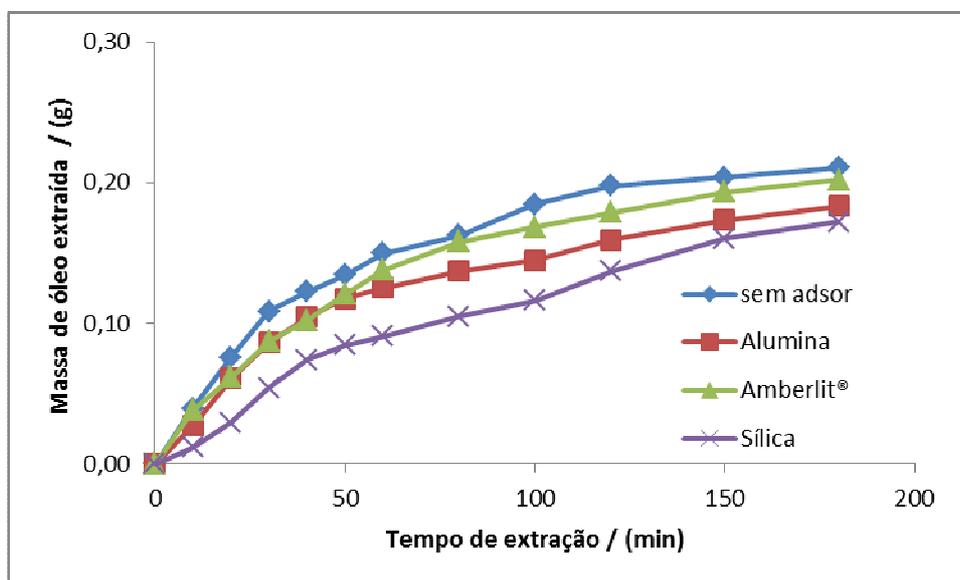


Figura 14 - Curvas cinéticas da extração do óleo essencial das folhas de *E. uniflora* L. roxa utilizando CO₂ supercrítico nas fases estacionárias: sílica, alumina e Amberlit®.

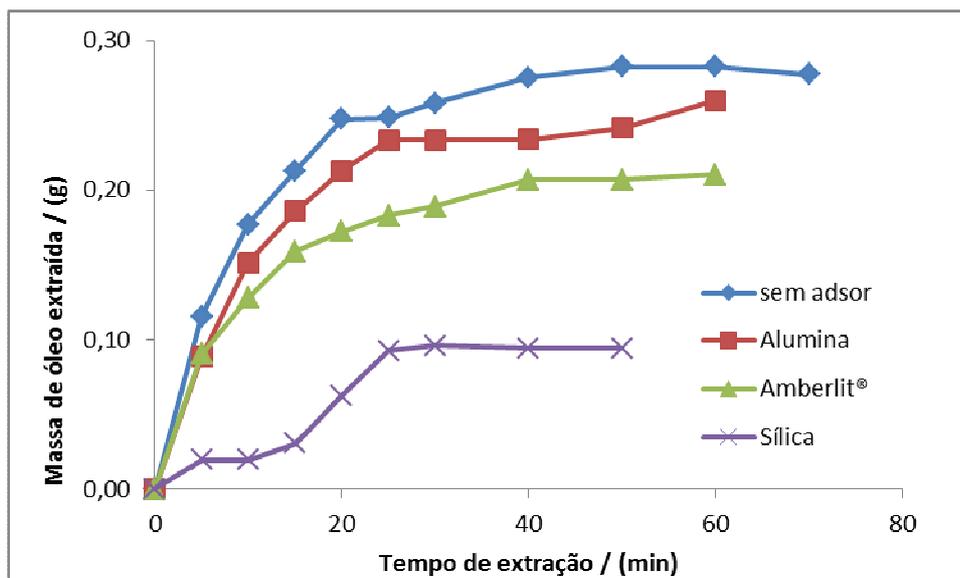


Figura 15 - Curvas cinéticas da extração do óleo essencial das folhas de *E. uniflora L.* vermelha utilizando n-propano pressurizado nas fases estacionárias: sílica, alumina e Amberlit®.

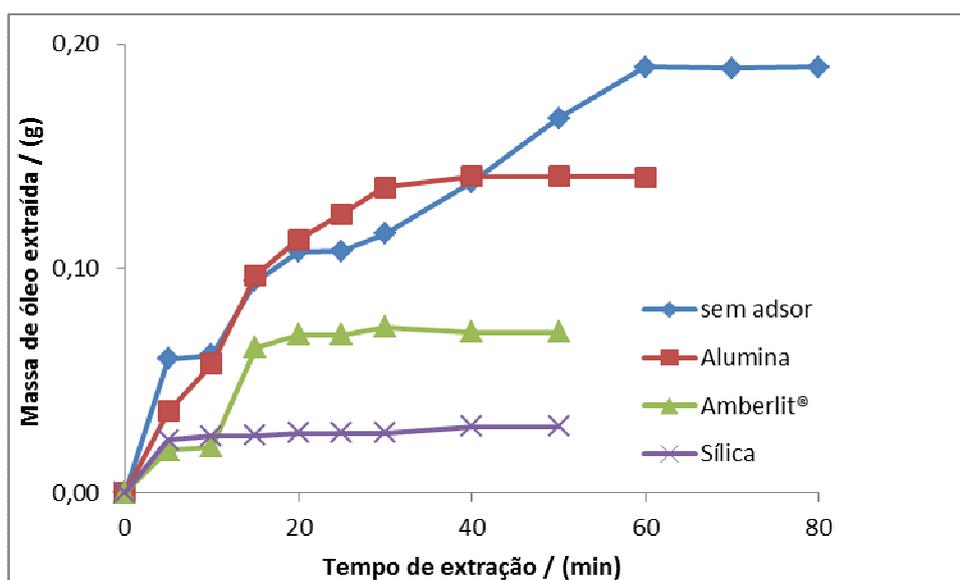


Figura 16 - Curvas cinéticas da extração do óleo essencial das folhas de *E. uniflora L.* roxa utilizando n-propano pressurizado nas fases estacionárias: sílica, alumina e Amberlit®.

Nas Figuras 13 a 16 pode ser verificado que o rendimento das extrações com fases estacionárias são menores do que das extrações sem fase estacionária, indicando a retenção de compostos no óleo essencial da folha de pitanga (*Eugenia uniflora L.*). Os adsorventes alumina e a Amberli®

apresentam maior rendimento nas extrações indicando menor retenção de compostos do extrato no adsorvente. A adsorvente sílica apresenta menor rendimento na extração o que indica uma maior retenção de compostos do extrato.

5.4 MODELAGEM MATEMÁTICA

5.4.1 Modelo de Sovová

A estimação dos parâmetros usando o modelo proposto por SOVOVA, (1994) para as extrações com CO₂ supercrítico e n-propano pressurizado, foram obtidas a partir dos dados experimentais e das Equações 4 e 6 respectivamente.

Nas Tabelas 9 e 10 são apresentadas as condições de extração, os valores calculados para T_{CER} , T_{FER} , K_{sa} , K_{ya} , Z , W , Solubilidade (Sol), Função objetiva (F_{OBJ}) e coeficiente de determinação (R^2). Os valores do coeficiente de transferência de massa na fase sólida (K_{sa}) foram inferiores aos valores do coeficiente de transferência de massa na fase fluida (K_{ya}) para todas as condições de extração. 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 sólido e fluido que o soluto localizado na superfície das partículas. Assim, os menores K_{ya} obtidos indicam que o mecanismo de difusão (W) é menos representativo quando comparado com a convecção (Z) na extração supercrítica. Na taxa constante de extração (T_{CER}) os valores são menores do que a taxa de extração decrescente (T_{FER}), ocasionada pela exaustão da camada de soluto na superfície das partículas.

De modo geral, o valor da função objetiva é importante, pois ele representa o valor do erro para o modelo. Sendo assim, quanto menor o valor da função objetiva, menor é o erro entre os dados experimentais e o modelo. Observa-se nas Tabelas 9 e 10, que os valores da função objetiva estão

próximos de zero e o coeficiente de correlação ficou entre 0,994 a 0,998 na Tabela 9 e 0,897 a 0,989 na Tabela 10, muito próximo da unidade, o que demonstra um bom ajuste entre o modelo de Sovová e os dados experimentais.

Tabela 9 Função objetivo e parâmetros ajustados do modelo de Sovová, para as curvas cinéticas utilizando CO₂ supercrítico para *Eugenia uniflora* L. vermelha e roxa.

<i>Eugenia uniflora</i> L.	T / (°C)	P / (Bar)	t _{CER} / (min)	t _{FER} / (min)	K _{sa} / (min) ⁻¹	K _{ya} / (min) ⁻¹	Z	W	r	Sol / (g óleo / g solvente)	F _{OBJ}	R ²
Vermelha	50	250	4,96	29,03	0,002	0,076	4,18	0,09	0,43	0,0029	0,0111	0,998
	50	150	96,2	146,9	0,002	0,009	0,50	0,10	0,83	0,0029	0,0007	0,995
	60	250	5,44	30,63	0,004	0,070	3,86	0,22	0,51	0,0047	0,0004	0,994
	60	150	38,21	130,39	0,001	0,041	2,30	0,03	0,72	0,0016	0,0001	0,995
Roxa	50	250	7,94	59,07	0,003	0,098	5,47	0,11	0,61	0,0016	0,0001	0,998
	50	150	89,97	121,32	0,001	0,006	0,34	0,04	0,62	0,0029	0,0001	0,998
	60	250	2,55	40,85	0,004	0,233	12,96	0,20	0,63	0,0031	0,0002	0,998
	60	150	42,19	175,12	0,001	0,053	2,92	0,04	0,73	0,0010	0,0001	0,996

Tabela 10 Função objetivo e parâmetros ajustados do modelo de Sovová, para as curvas cinéticas utilizando n-propano pressurizado para *Eugenia uniflora* L. vermelha e roxa.

<i>Eugenia uniflora</i> L.	T / (°C)	P / (Bar)	t _{CER} / (min)	t _{FER} / (min)	K _{sa} / (min) ⁻¹	K _{ya} / (min) ⁻¹	Z	W	r	Sol / (g óleo / g solvente)	F _{OBJ}	R ²
Vermelha	30	40	1,10	29,00	0,001	0,740	24,60	0,04	0,69	0,0029	0,0002	0,965
	30	80	1,68	19,20	0,001	0,289	9,61	0,04	0,36	0,0025	0,0015	0,964
	45	60	3,98	17,50	0,003	0,095	3,18	0,13	0,59	0,0054	0,0022	0,897
	60	40	0,32	10,30	0,018	0,761	25,30	0,88	0,58	0,0093	0,0004	0,986
	60	80	0,34	7,19	0,004	0,567	18,90	0,18	0,44	0,0086	0,0009	0,939
Roxa	30	40	0,39	32,10	0,010	2,230	74,20	0,46	0,86	0,0023	0,0001	0,948
	30	80	2,68	19,10	0,000	0,181	6,03	0,02	0,51	0,0024	0,0013	0,916
	45	60	0,98	20,10	0,009	0,518	17,30	0,38	0,72	0,0034	0,0007	0,960
	60	40	0,24	8,50	0,006	0,844	28,10	0,27	0,34	0,0043	0,0002	0,985
	60	80	0,23	8,74	0,008	0,935	30,88	0,38	0,42	0,0049	0,0001	0,989

Nas Figuras 17 a 34 são apresentadas as curvas cinéticas experimentais e simuladas para o modelo de Sovová utilizando os valores dos parâmetros apresentados nas Tabelas 9 e 10.

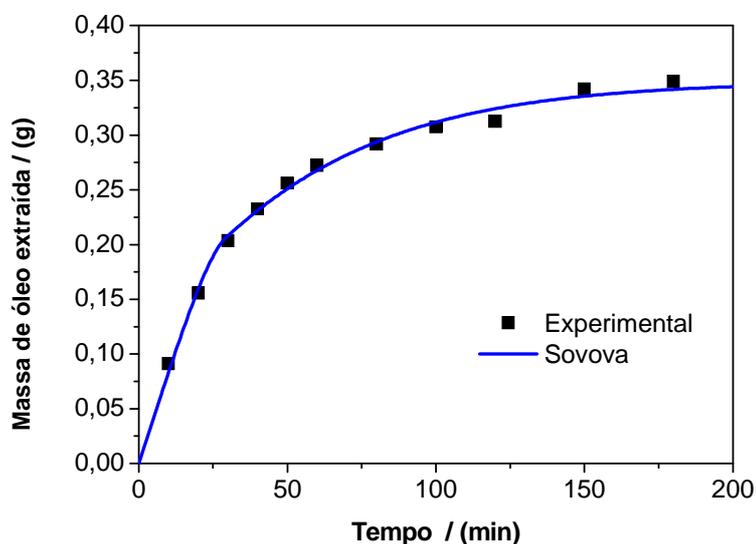


Figura 17 - Representação do modelo matemático de Sovová e a curva cinética experimental de extração do óleo das folhas de pitanga (*Eugenia uniflora L.*) vermelha utilizando o CO₂ supercrítico como solvente condição 50°C 150 Bar.

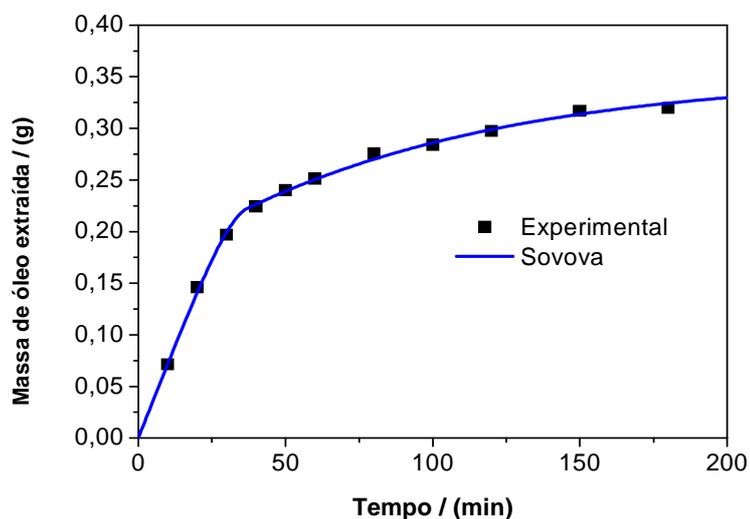


Figura 18 - Representação do modelo matemático de Sovová e a curva cinética experimental de extração do óleo das folhas de pitanga (*Eugenia uniflora L.*) vermelha utilizando o CO₂ supercrítico como solvente condição 50°C 250 Bar.

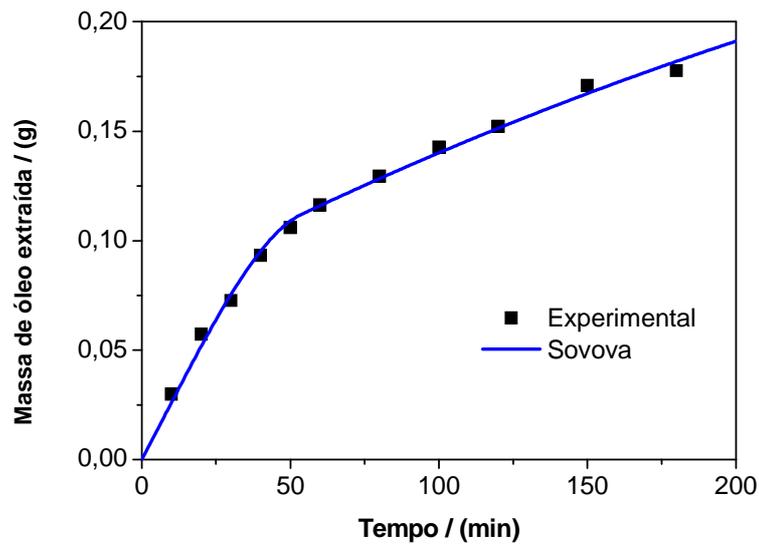


Figura 19 - Representação do modelo matemático de Sovová e a curva cinética experimental de extração do óleo das folhas de pitanga (*Eugenia uniflora* L.) vermelha utilizando o CO₂ supercrítico como solvente condição 60°C 150 Bar.

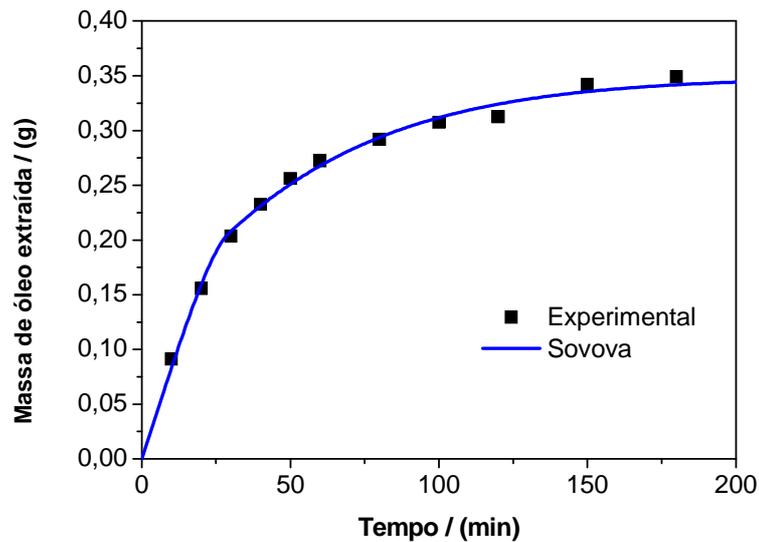


Figura 20 - Representação do modelo matemático de Sovová e a curva cinética experimental de extração do óleo das folhas de pitanga (*Eugenia uniflora* L.) vermelha utilizando o CO₂ supercrítico como solvente condição 60°C 250 Bar.

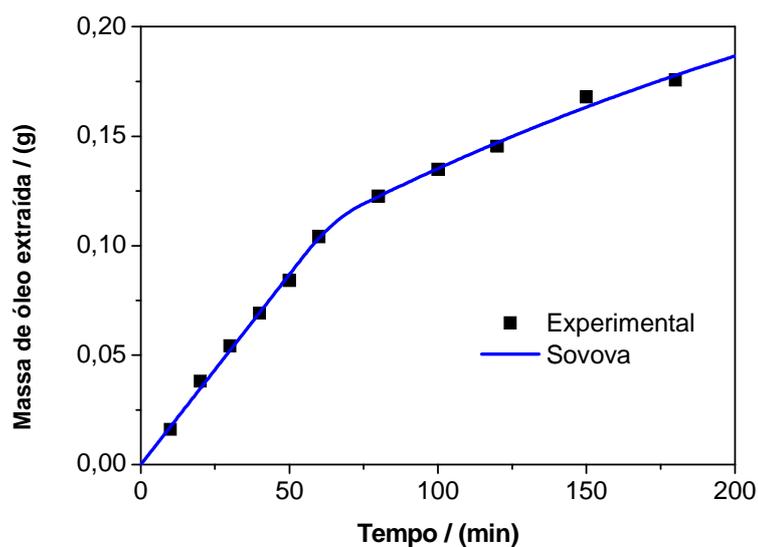


Figura 21 - Representação do modelo matemático de Sovová e a curva cinética experimental de extração do óleo das folhas de pitanga (*Eugenia uniflora L.*) roxa utilizando o CO₂ supercrítico como solvente condição 50°C 150 Bar.

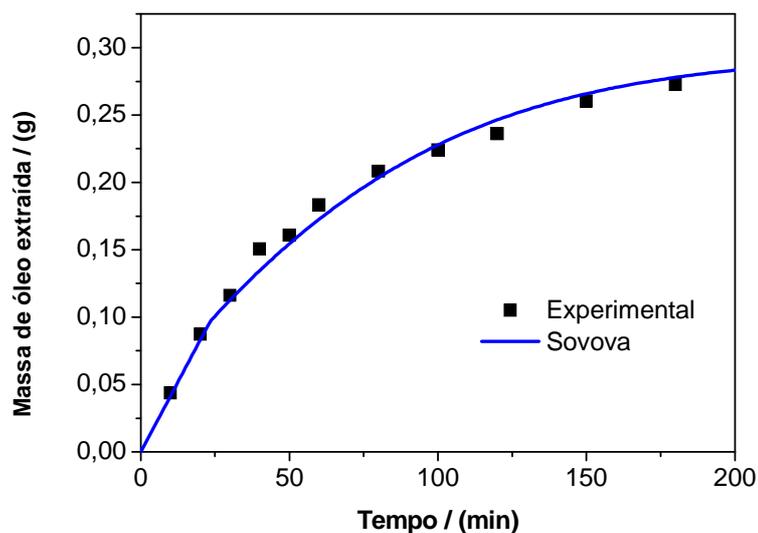


Figura 22 - Representação do modelo matemático de Sovová e a curva cinética experimental de extração do óleo das folhas de pitanga (*Eugenia uniflora L.*) roxa utilizando o CO₂ supercrítico como solvente condição 50°C 250 Bar.

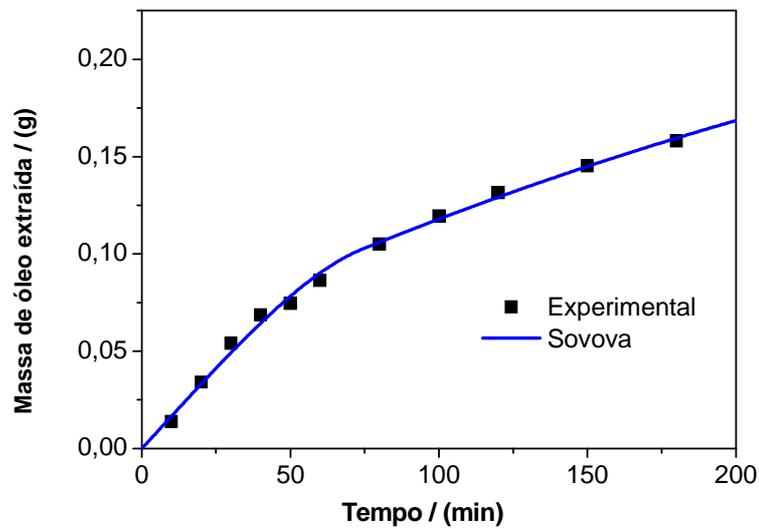


Figura 23 - Representação do modelo matemático de Sovová e a curva cinética experimental de extração do óleo das folhas de pitanga (*Eugenia uniflora L.*) roxa utilizando o CO₂ supercrítico como solvente condição 60°C 150 Bar.

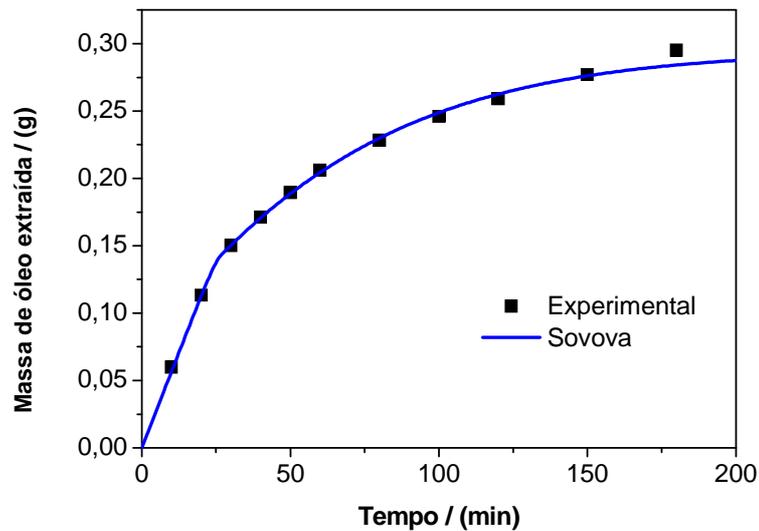


Figura 24 - Representação do modelo matemático de Sovová e a curva cinética experimental de extração do óleo das folhas de pitanga (*Eugenia uniflora L.*) roxa utilizando o CO₂ supercrítico como solvente condição 60°C 250 Bar.

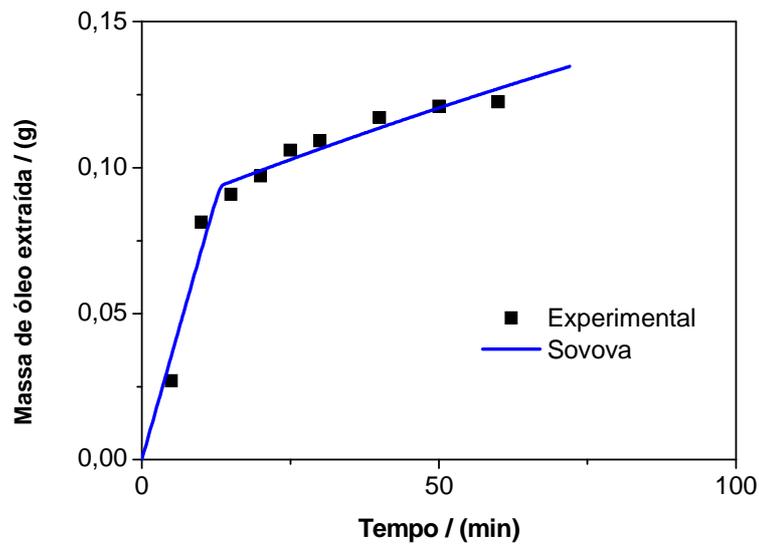


Figura 25 - Representação do modelo matemático de Sovová e a curva cinética experimental de extração do óleo das folhas de pitanga (*Eugenia uniflora* L.) vermelha utilizando o n-propano pressurizado como solvente condição 30°C 40 Bar.

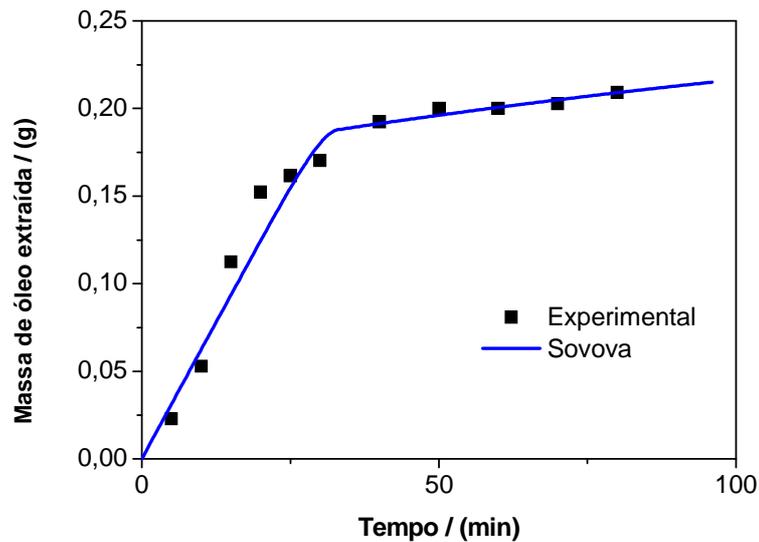


Figura 26 - Representação do modelo matemático de Sovová e a curva cinética experimental de extração do óleo das folhas de pitanga (*Eugenia uniflora* L.) vermelha utilizando o n-propano pressurizado como solvente condição 30°C 80 Bar.

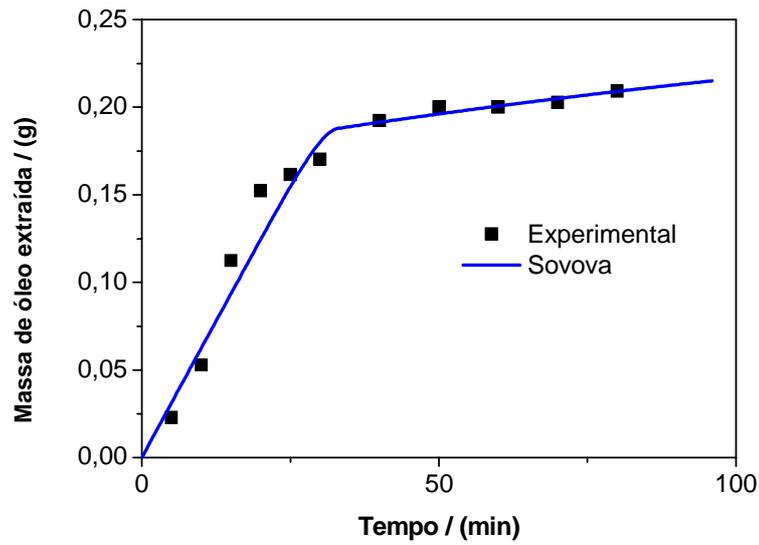


Figura 27 - Representação do modelo matemático de Sovová e a curva cinética experimental de extração do óleo das folhas de pitanga (*Eugenia uniflora* L.) vermelha utilizando o n-propano pressurizado como solvente condição 45°C 60 Bar.

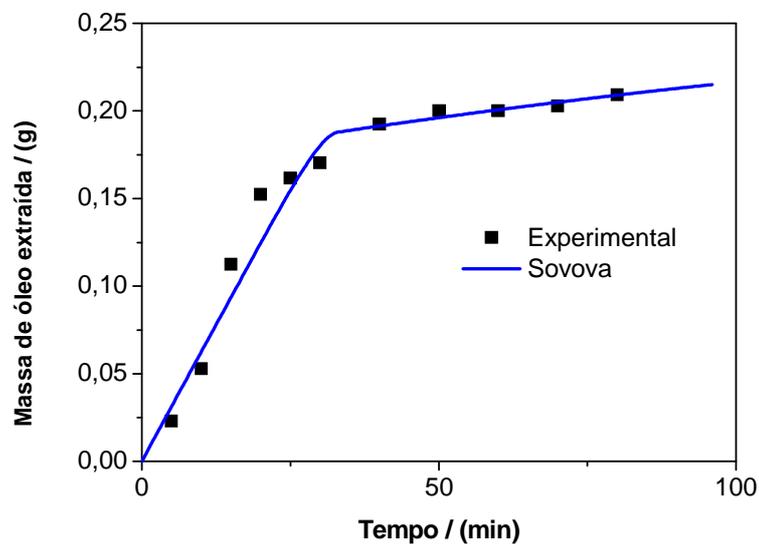


Figura 28 - Representação do modelo matemático de Sovová e a curva cinética de extração do óleo das folhas de pitanga (*Eugenia uniflora* L.) vermelha utilizando o n-propano pressurizado como solvente condição 60°C 40 Bar.

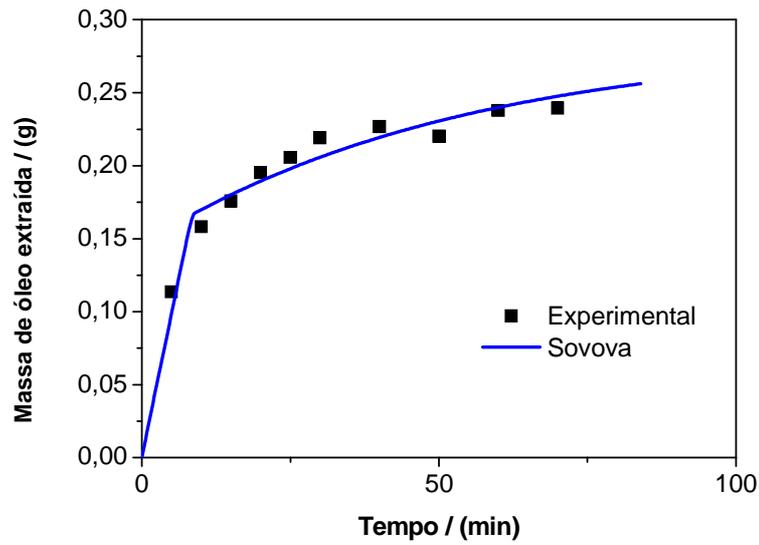


Figura 29 - Representação do modelo matemático de Sovová e a curva cinética experimental de extração do óleo das folhas de pitanga (*Eugenia uniflora* L.) vermelha utilizando o n-propano pressurizado como solvente condição 60°C 80 Bar.

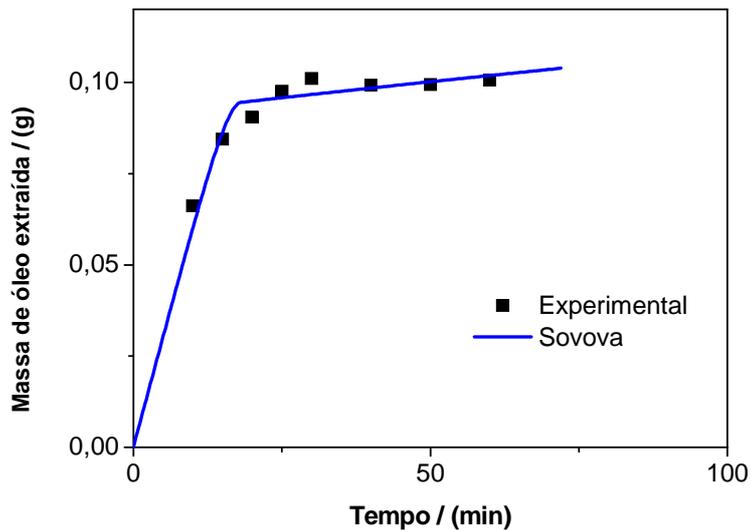


Figura 30 - Representação do modelo matemático de Sovová e a curva cinética experimental de extração do óleo das folhas de pitanga (*Eugenia uniflora* L.) roxa utilizando o n-propano pressurizado como solvente condição 30°C 40 Bar.

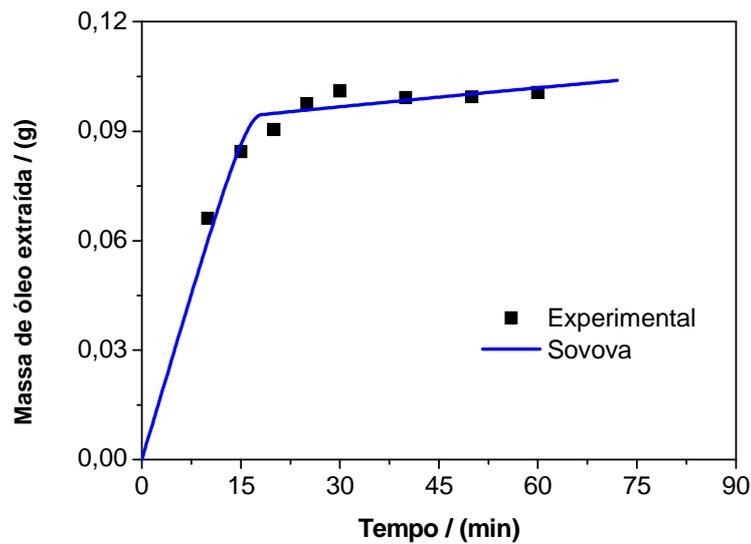


Figura 31 - Representação do modelo matemático de Sovová e a curva cinética experimental de extração do óleo das folhas de pitanga (*Eugenia uniflora L.*) roxa utilizando o n-propano pressurizado como solvente condição 30°C 80 Bar.

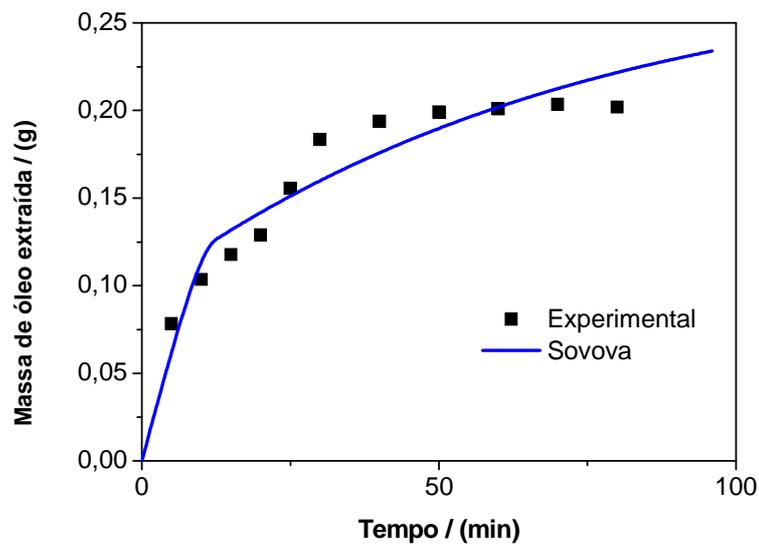


Figura 32 - Representação do modelo matemático de Sovová e a curva cinética experimental de extração do óleo das folhas de pitanga (*Eugenia uniflora L.*) roxa utilizando o n-propano pressurizado como solvente condição 45°C 60 Bar.

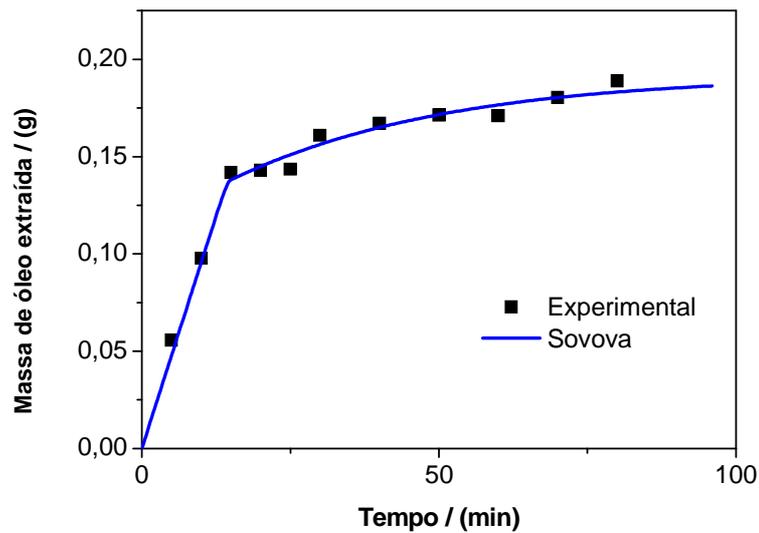


Figura 33 - Representação do modelo matemático de Sovová e a curva cinética experimental de extração do óleo das folhas de pitanga (*Eugenia uniflora L.*) roxa utilizando o n-propano pressurizado como solvente condição 60°C 40 Bar.

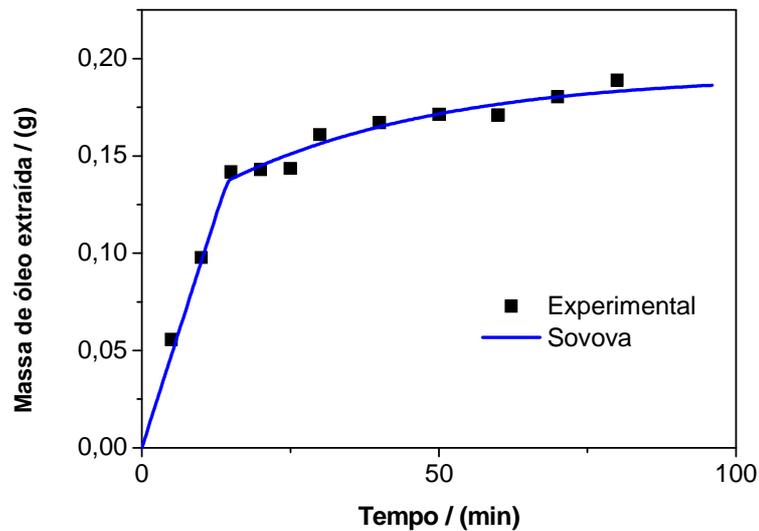


Figura 34 - Representação do modelo matemático de Sovová e a curva cinética experimental de extração do óleo das folhas de pitanga (*Eugenia uniflora L.*) roxa utilizando o n-propano pressurizado como solvente condição 60°C 80 Bar.

Os resultados apresentados da Figura 17 à Figura 34 mostram que o modelo matemático de Sovová representa a cinética de extração do óleo da folha de pitanga (*Eugenia uniflora L.*) vermelha e roxa para ambos os solventes, pois os resultados das curvas obtidas pelos modelos foram próximos aos dados experimentais. Diversos autores, em estudos de modelagem matemática de curvas de extração supercrítica, relataram bons ajustes deste modelo, para distintas matérias-primas como alecrim (GENENA, 2005), óleo de amêndoa de pêssego (MEZZOMO, 2008) e óleo de girassol (NIMET, 2009).

5.5. ANÁLISE QUALITATIVA DOS EXTRATOS DAS FOLHAS DE PITANGA (*Eugenia uniflora* L.)

Foram realizadas análises do óleo essencial das folhas de pitanga (*Eugenia uniflora* L.) obtido por extração supercrítica e hidrodestilação. Nos extratos obtidos por Soxhlet observou-se a presença de uma “massa cerosa” no fundo do recipiente, provavelmente graxas e hidrocarbonetos de alto peso molecular obtidos após a volatilização do solvente, a qual foi desconsiderada nas análises cromatográficas devido a riscos de contaminação do sistema cromatográfico: coluna e detector, principalmente.

As condições de extração submetidas a cromatografia gasosa acoplada a espectro de massa (CG-EM) estão descritas na seção 4.2.2 para a hidrodestilação e da extração supercrítica de maior rendimento estão descritas na seção 4.3.1 na Tabela 4. As condições de análise do CG-EM estão descritas na seção 4.3.8.

Nas Figuras 35 a 38 apresentam-se os cromatogramas da extração supercrítica das folhas de pitanga (*Eugenia uniflora* L.) vermelha e roxa para os solventes CO₂ supercrítico e n-propano pressurizado. Nas Figuras 39 e 40 apresentam-se os cromatogramas da hidrodestilação das folhas de pitanga (*Eugenia uniflora* L.) vermelha e roxa, respectivamente.

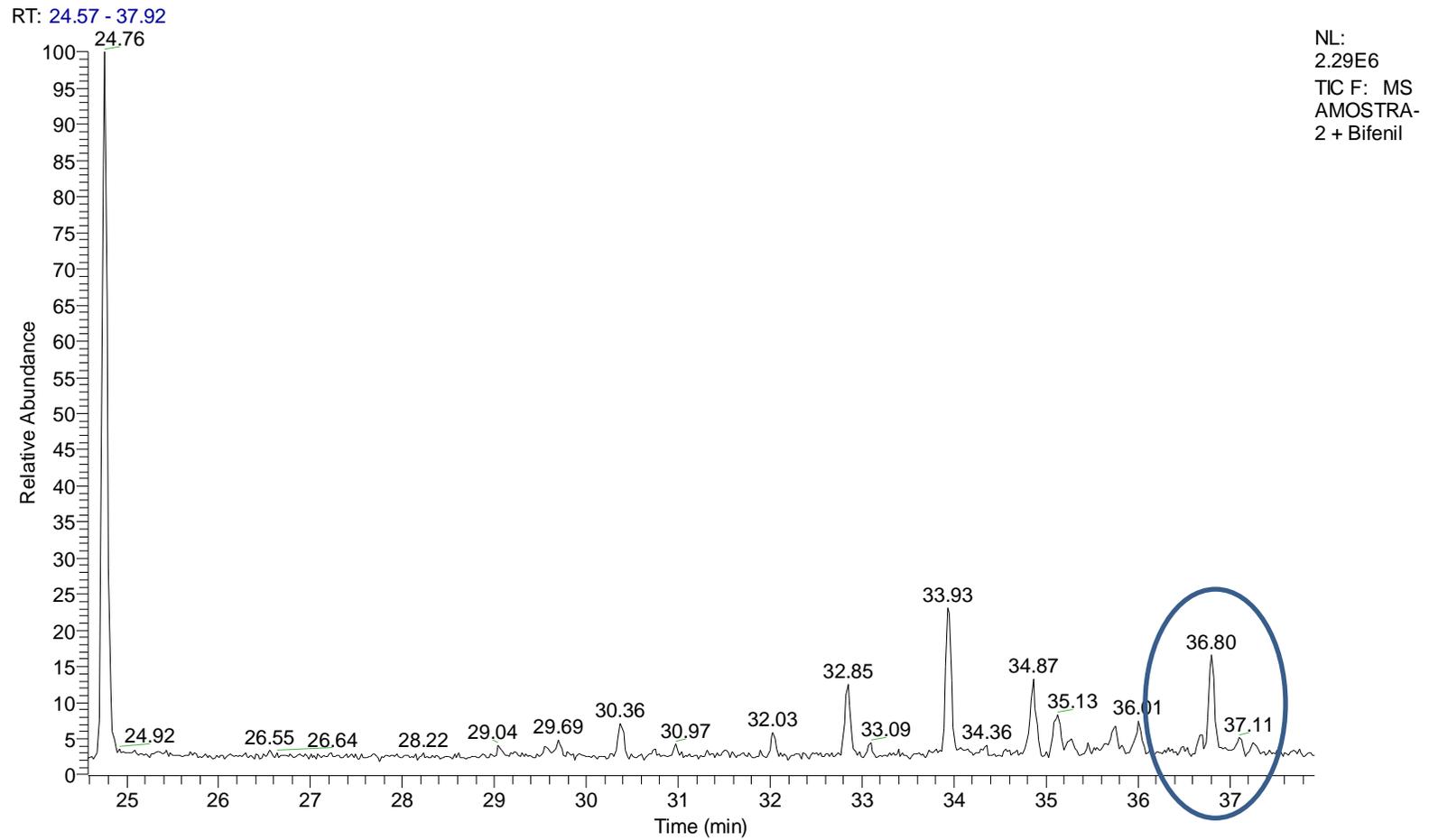


Figura 35 - Cromatograma do óleo das folhas de pitanga (*Eugenia uniflora* L.) vermelha utilizando CO₂ supercrítico como solvente condição 60°C 250 Bar.

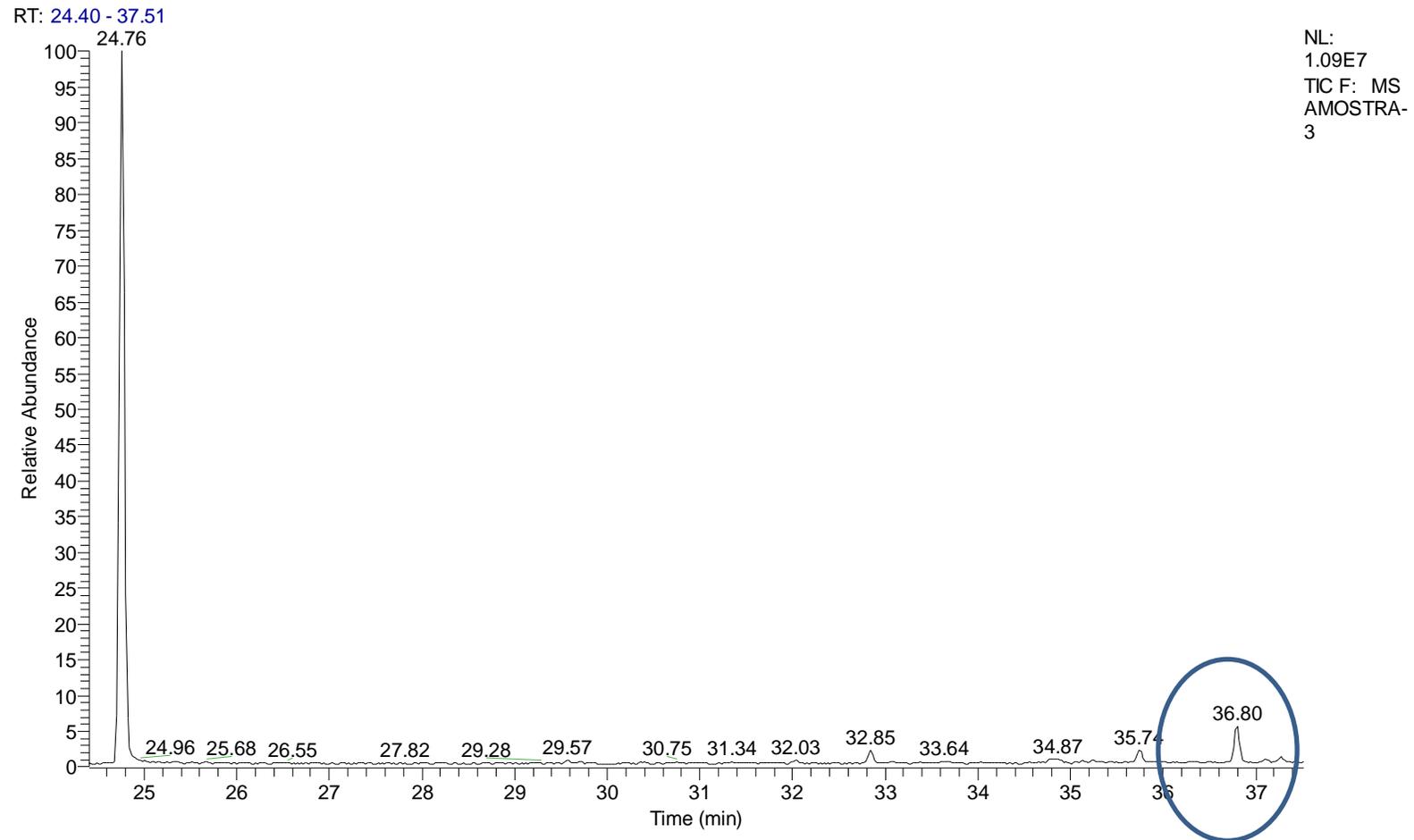


Figura 36 - Cromatograma do óleo das folhas de pitanga (*Eugenia uniflora* L.) roxa utilizando CO₂ supercrítico como solvente condição 60°C 250 Bar.

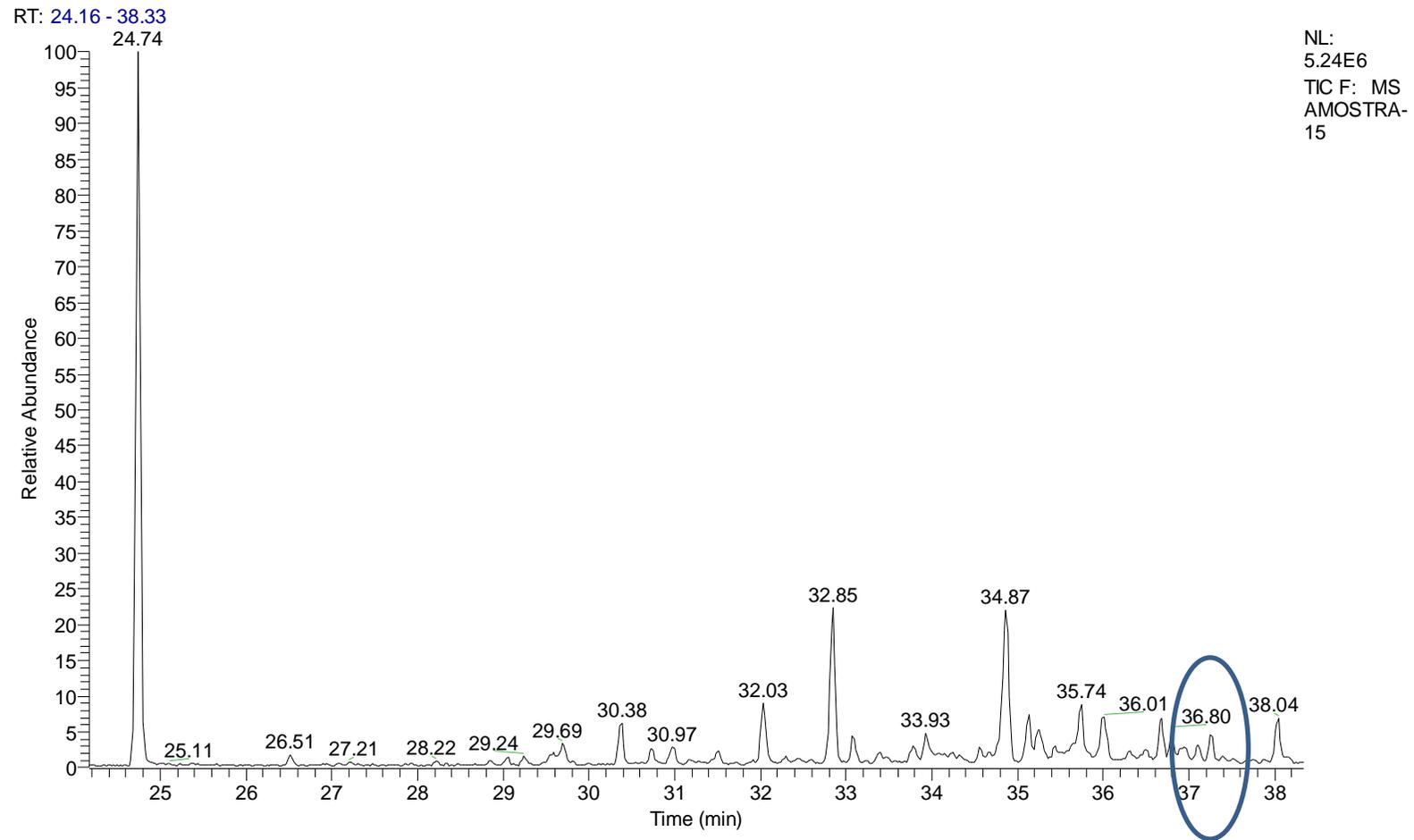


Figura 37 - Cromatograma do óleo das folhas de pitanga (*Eugenia uniflora* L.) vermelha utilizando n-propano pressurizado como solvente condição 60°C 40 Bar.

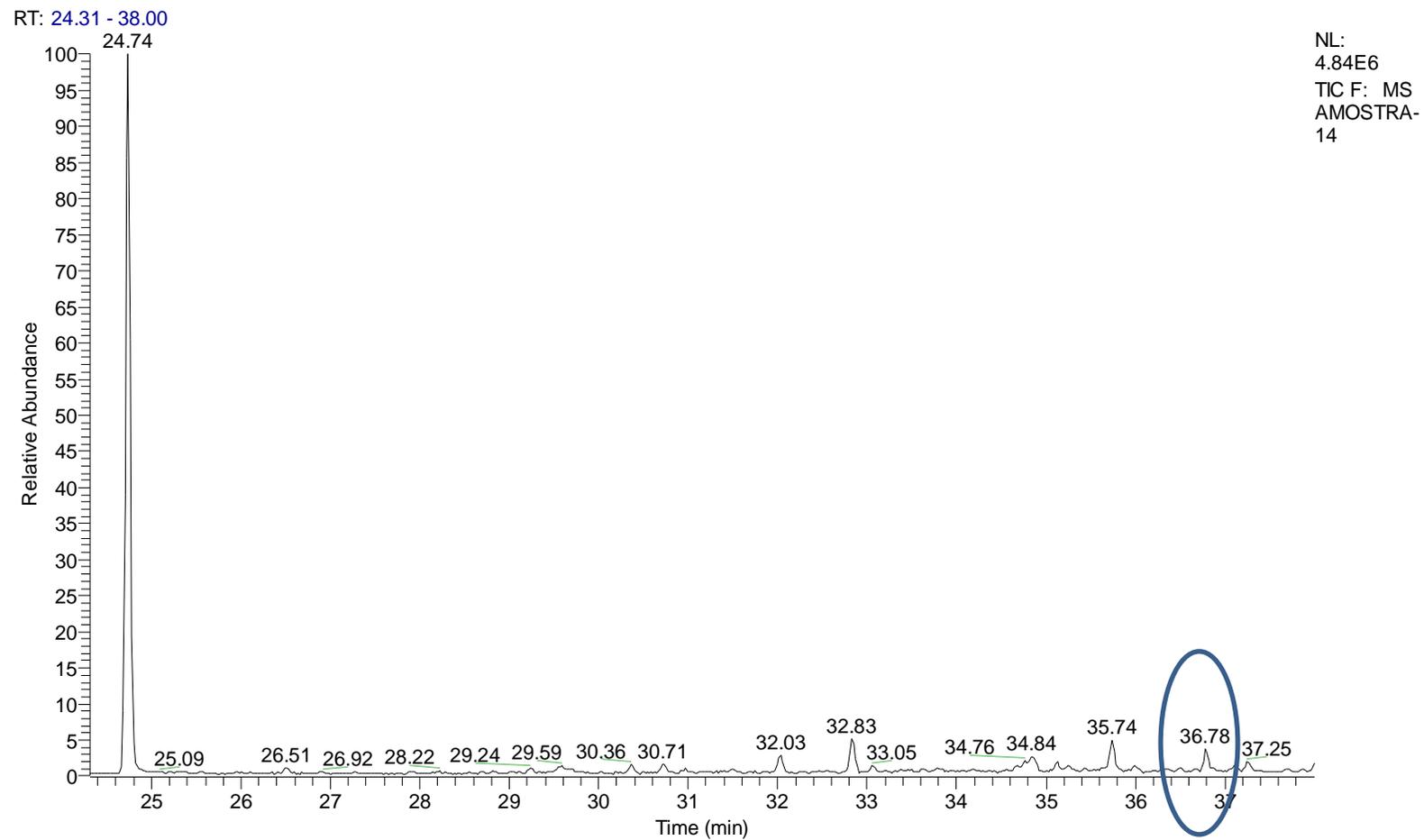
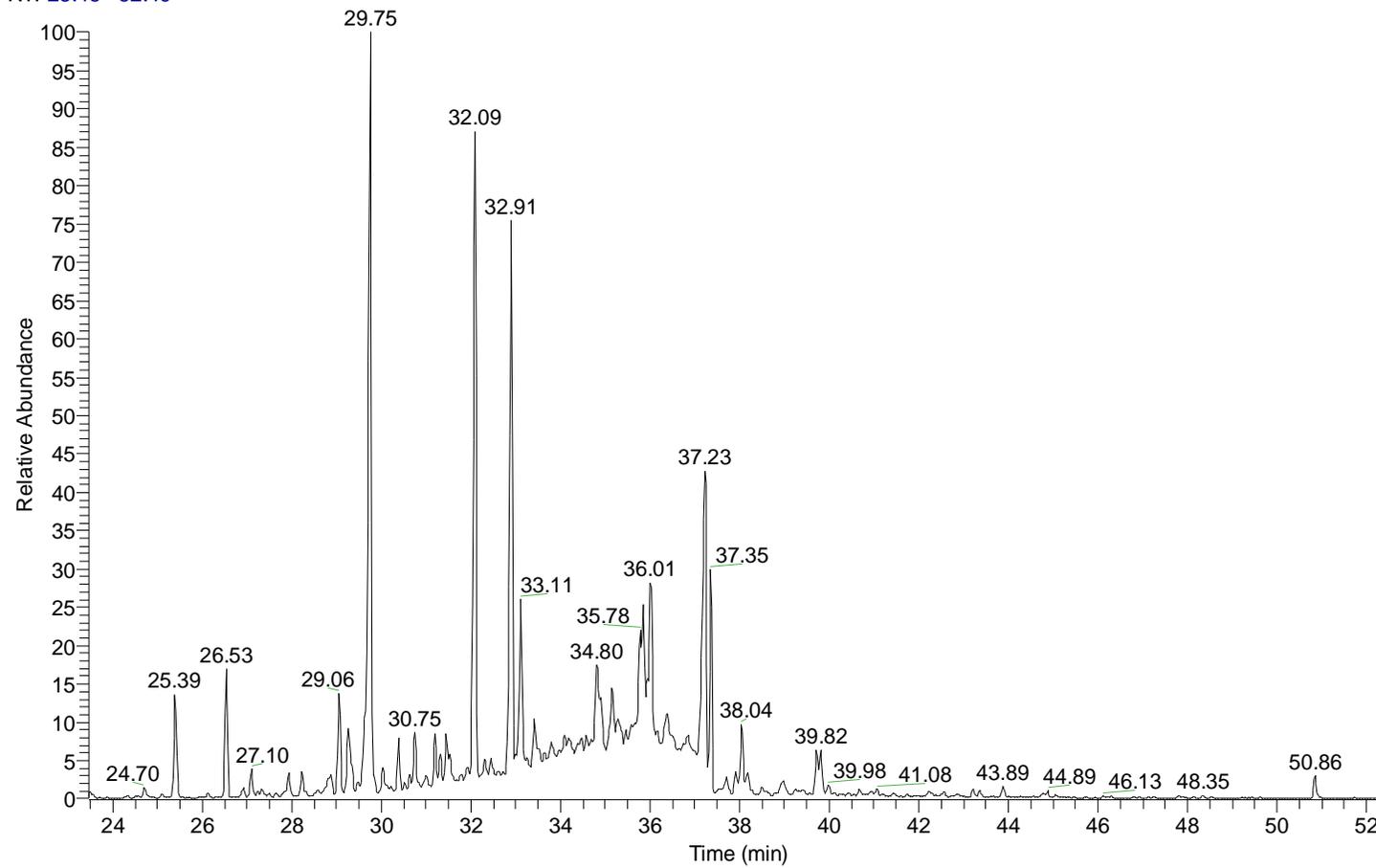


Figura 38 - Cromatograma do óleo das folhas de pitanga (*Eugenia uniflora* L.) roxa utilizando n-propano pressurizado como solvente condição 60°C 40 Bar.

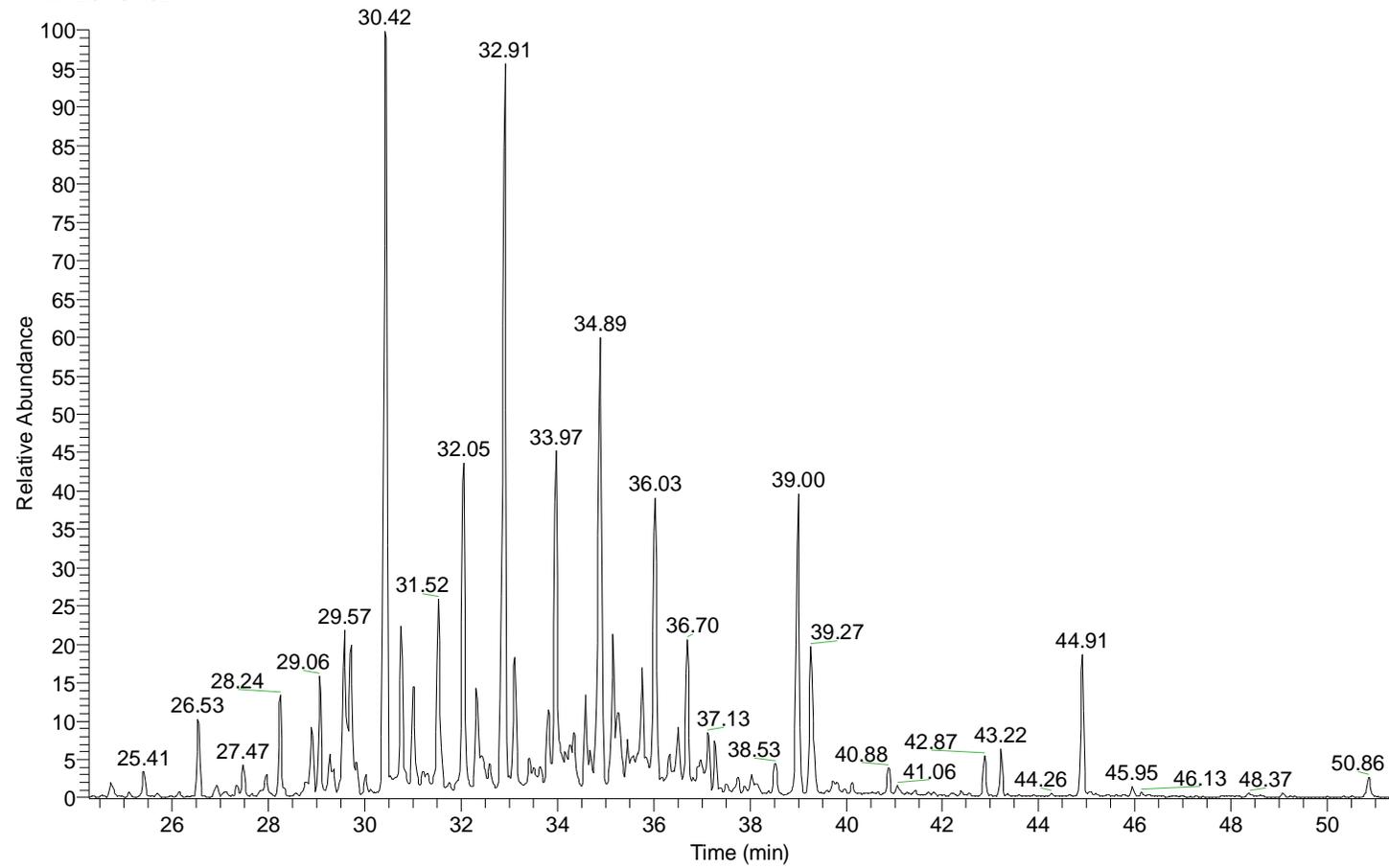
RT: 23.45 - 52.49



NL:
3.36E7
TIC F: MS
AMOSTRA-
28

Figura 39 - Cromatograma do óleo das folhas de pitanga (*Eugenia uniflora* L.) vermelha obtido por Hidrodestilação.

RT: 24.25 - 51.32



NL:
2.73E7
TIC F: MS
AMOSTRA-
29

Figura 40 - Cromatograma do óleo das folhas de pitanga (*Eugenia uniflora* L.) roxa obtido por Hidrodestilação.

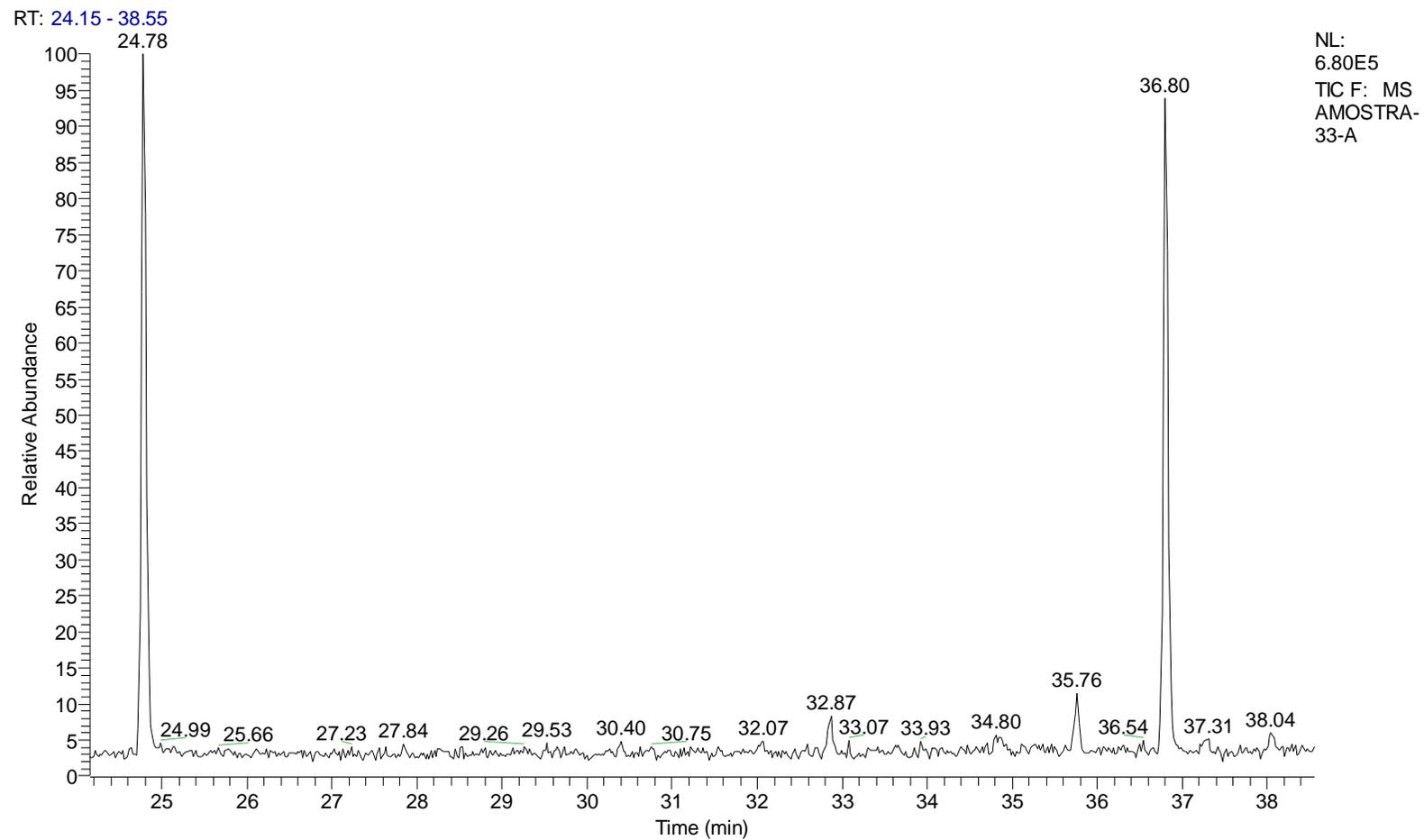


Figura 41 - Cromatograma do óleo das folhas de pitanga (*Eugenia uniflora* L.) roxa utilizando CO₂ supercrítico como solvente condição 60°C 250 Bar + 0,1 mL padrão de alfa-bisabolol a 0,5 mg / mL.

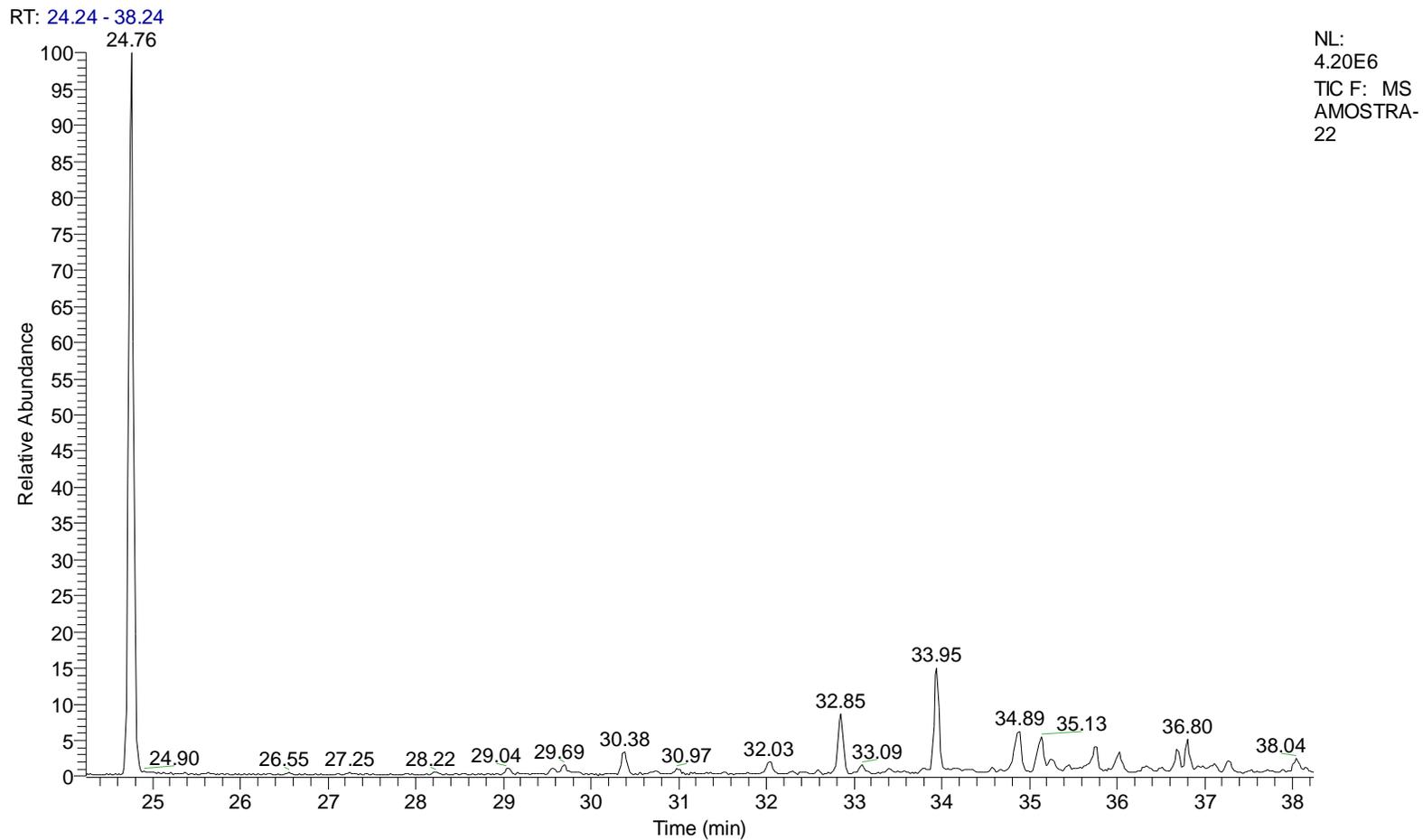


Figura 42 - Cromatograma do óleo das folhas de pitanga (*Eugenia uniflora L.*) vermelha utilizando CO₂ supercrítico como solvente condição 60°C 250 Bar + fase estacionária Sílica.

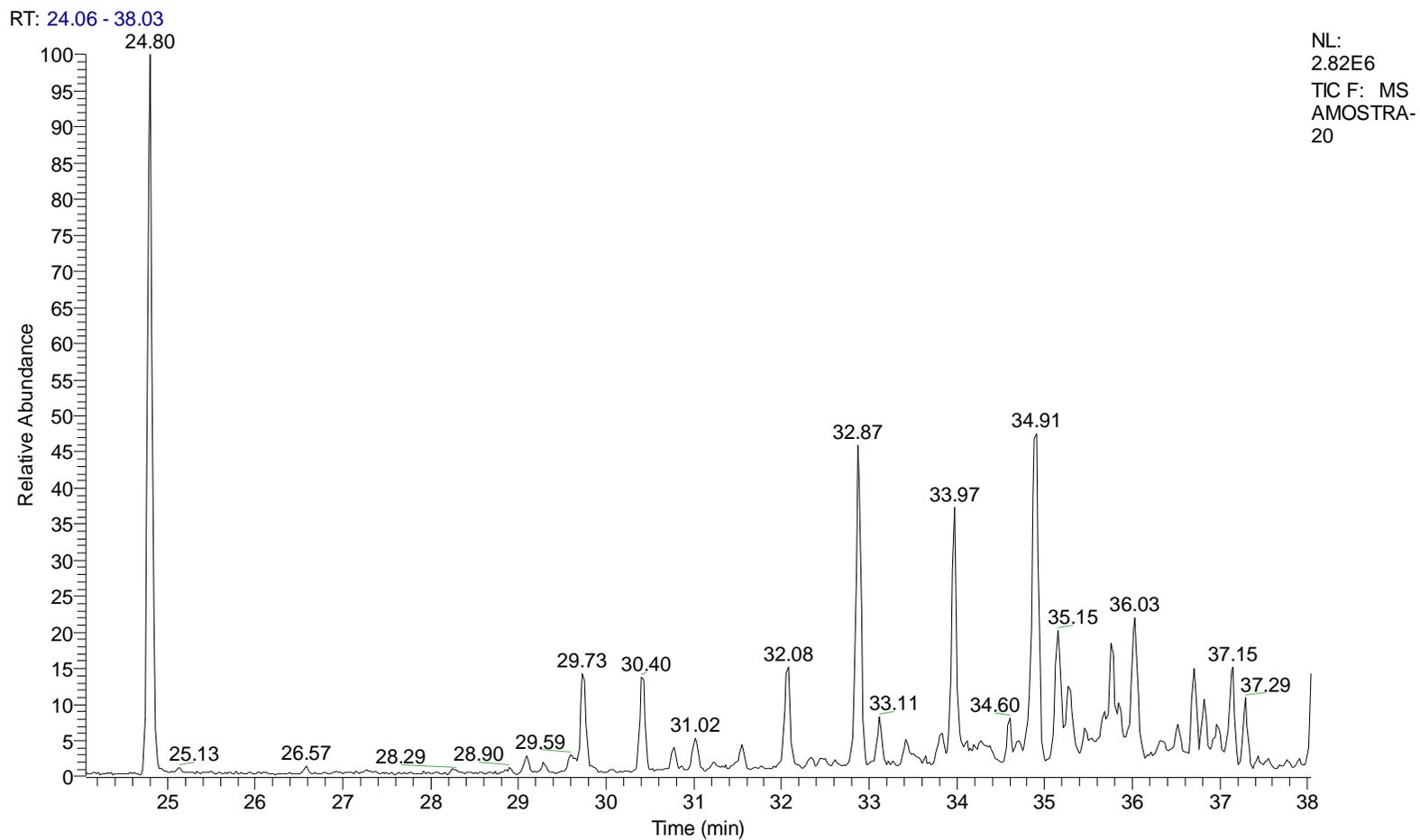


Figura 43 - Cromatograma do óleo das folhas de pitanga (*Eugenia uniflora* L.) vermelha utilizando CO₂ supercrítico como solvente condição 60°C 250 Bar + fase estacionária Alumina.

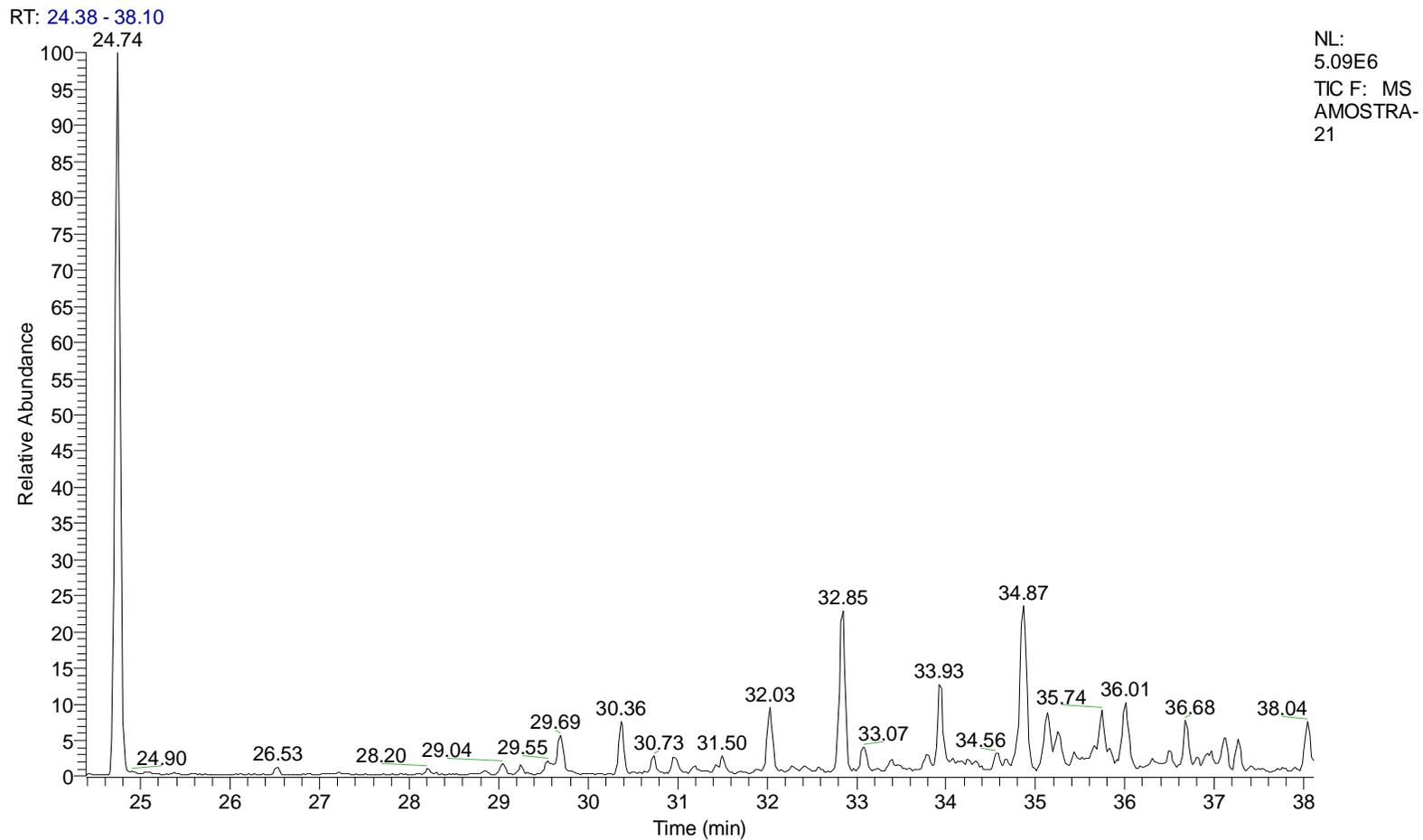


Figura 44 - Cromatograma do óleo das folhas de pitanga (*Eugenia uniflora* L.) vermelha utilizando CO₂ supercrítico como solvente condição 60°C 250 Bar + fase estacionária Amberlit®.

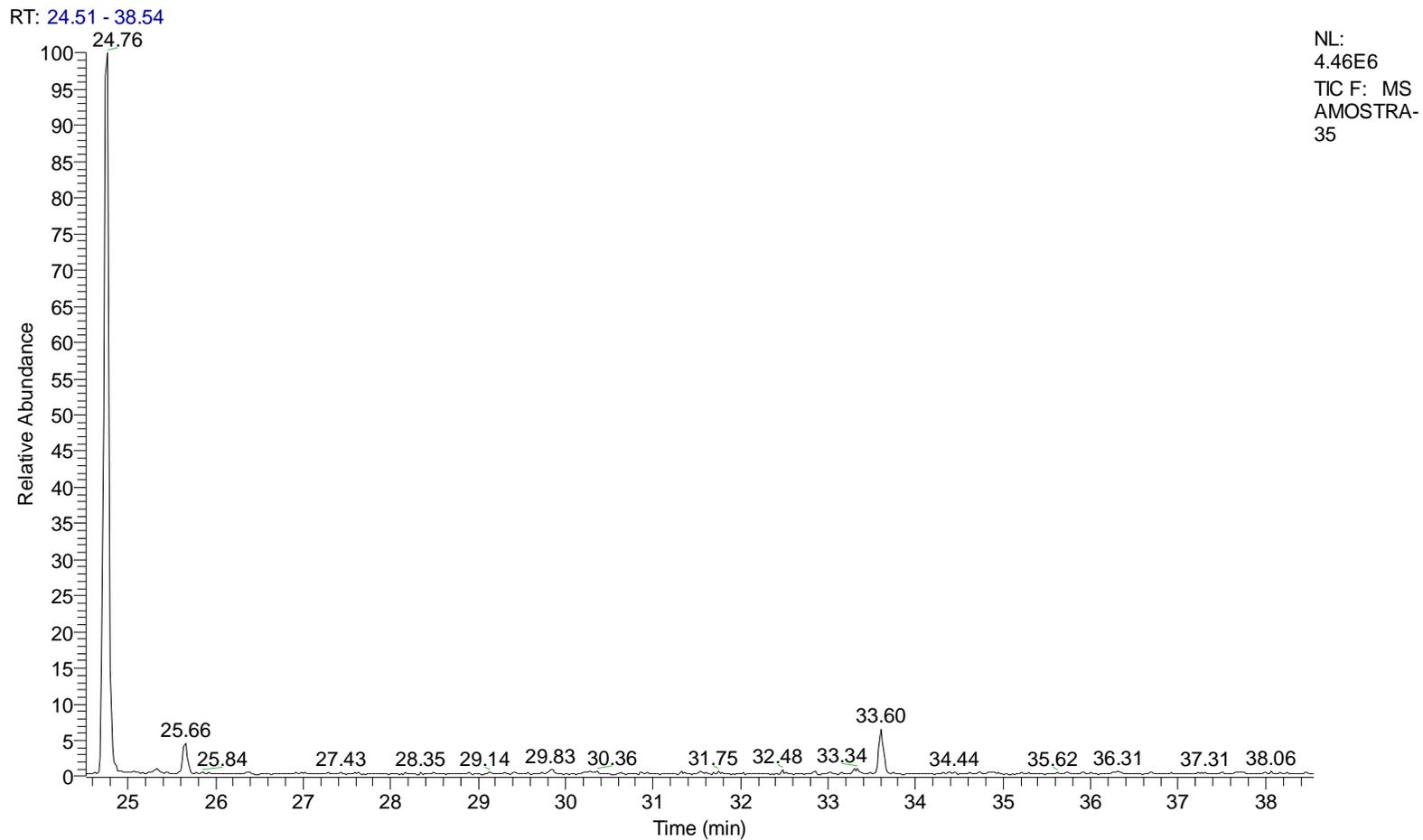


Figura 45 - Cromatograma da dessorção do óleo das folhas de pitanga (*Eugenia uniflora L.*) vermelha utilizando CO₂ supercrítico como solvente condição 60°C 250 Bar + fase estacionária Amberlit®.

Nas Figuras 35 a 38 são apresentados os cromatogramas do produto da extração supercrítica das folhas de pitanga (*Eugenia uniflora L.*) vermelha e roxa com os solventes CO₂ e n-propano. A fim de avaliar, de modo comparativo, a eficiência do método de análise cromatográfica foi utilizado como padrão interno o Bifenil, cuja estrutura é mostrada na Figura 46. Este apresenta o tempo de retenção próximo a 24,75 min. O composto de maior interesse para essas extrações é o alfa- bisabolol, Figura 47, cujo tempo de retenção variou entre 36,76 min e 36,80 min. Na Figura 41 é apresentado o cromatograma do produto da extração supercrítica com CO₂ das folhas de pitanga (*Eugenia uniflora L.*) roxa onde foi adicionado padrão de alfa-bisabolol, para confirmação nas informações da biblioteca que acompanha o equipamento GC-ME.

As análises cromatográficas foram realizadas de maneira qualitativa, porém, é possível visualizar pelas Figuras 35 a 38 que houve uma maior extração do composto alfa- bisabolol no solvente CO₂ em relação ao solvente n-propano. Nas Figuras 42 a 44 são apresentados os cromatogramas do fracionamento do óleo de pitanga (*Eugenia uniflora L.*) vermelha, das fases estacionárias distintas: sílica, alumina e Amberlit®. Apenas na fase estacionária sílica detectou o composto alfa-bisabolol, com um pico de baixa intensidade. A Figura 45 corresponde a um cromatograma da dessorção fase estacionária Amberlit®, que não apresenta o composto alfa-bisabolol.

Nas Figuras 39 e 40 apresentam os cromatogramas da hidrodestilação, em que pode-se notar uma grande quantidade de picos cromatográficos o que evidencia um extrato bruto, ou seja, pouco seletivo.

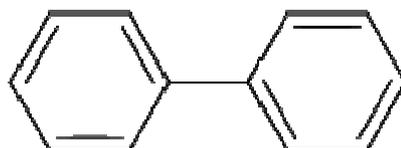


Figura 46 - Estrutura molecular do Bifenil

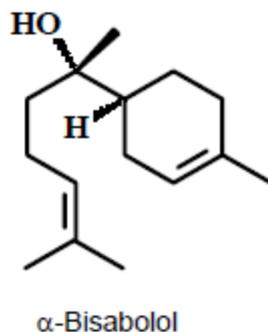


Figura 47 - Estrutura molecular do Alfa-Bisabolol

Os cromatogramas apresentados da Figura 35 à Figura 45 correspondem ao extrato das folhas de pitanga (*Eugenia uniflora L.*) vermelha e roxa, obtidos com o uso dos solventes CO₂ e n-propano. Ambos apresentaram o composto alfa-bisabolol, sendo isso inédito. Consta na literatura apenas alguns casos da presença deste composto na família "Myrtaceae" como reportado por Stefanello *et al.*, 2011.

Em análise qualitativa o alfa-bisabolol demonstrou ser mais extraído com o solvente CO₂ e não apresentou afinidade a nenhuma das fases estacionárias conforme cromatograma do produto da dessorção na Figura 45. O alfa bisabolol é um álcool, terpênico monocíclico e insaturado, com grupo polar. Solutos polares têm maior afinidade por adsorventes hidrofílicos, do que hidrofóbicos. A falta de afinidade pode ser consequência de vários fatores, como por exemplo, uma baixa capacidade de dessorção da mistura de 50% de acetona + 50% de metanol, a capacidade das moléculas se auto-associarem influencia na cinética de absorção e aquelas que formam dímeros passam a ter um volume molecular maior, e um menor coeficiente de difusão como consequência. A polaridade das moléculas e também sua afinidade por adsorventes hidrofílicos também podem ser alterada (Domingo *et al.*, 2001).

Entretanto será necessário um estudo exaustivo, procurando outros adsorventes e outras condições (adsorção e dessorção) para poder separar o alfa bisabolol do extrato supercrítico.

6. CONCLUSÕES

O presente trabalho apresentou diferentes processos de extração, os chamados convencionais (extração Soxhlet, Hidrodestilação) e a extração supercrítica, em diferentes condições de temperatura e pressão na extração de óleo das folhas de pitanga (*Eugenia uniflora L.*) vermelha e roxa, sendo utilizado os solventes n-propano pressurizado e dióxido de carbono (CO₂) supercrítico. Sendo que o método que apresentou maior eficiência em rendimento foi o Soxhlet.

A extração supercrítica apresentou-se como uma alternativa, principalmente pelo rendimento e por sua velocidade de extração. O solvente n-propano apresentou vantagens em relação ao uso do CO₂, pois, além de condições mais amenas de temperatura e pressão poderem ser usadas, apresentou maior velocidade de extração.

Os dados experimentais ajustaram-se adequadamente ao modelo matemático de Sovová para a descrição das cinéticas de extração para todas as condições que utilizaram dióxido de carbono (CO₂) supercrítico e propano pressurizados como solventes.

Óleo das folhas de pitanga (*Eugenia uniflora L.*) vermelha e roxa, dos solventes CO₂ e n-propano apresentaram o composto alfa-bisabolol.

As colunas de fracionamento com as fases estacionárias não apresentaram a seletividade desejada, que seria o isolamento do composto alfa-bisabolol na adsorção ou na dessorção do extrato.

7. SUGESTÃO PARA TRABALHOS FUTUROS

Realizar análise quantitativa dos compostos presente do óleo da folha de pitanga (*Eugenia uniflora L.*) vermelha e roxa extraídos pelos diferentes métodos.

Utilização de outras fases estacionárias para o fracionamento óleo da folha de pitanga (*Eugenia uniflora L.*) vermelha e roxa.

Realizar estudo da atividade antioxidante do óleo da folha de pitanga (*Eugenia uniflora L.*) vermelha e roxa.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGRA, M.F. BARACHO, G. S. NURIT, K. BASÍLIO, I. J. L. D. COELHO, V. P. M. **Medicinal and poisonous diversity of the flora of "Cariri Paraibano", Brazil.** *Journal of Ethnopharmacology* 111(2): 383 – 395, 2007.

AGROV. Disponível em: <http://www.agrov.com/vegetais/frutas/pitanga.htm>

Acesso em: 03 ago. 2011.

AMORIM, A. C. L.; LIMA, C. K. F.;HOVELL, A. M.; MIRANDA, A. L. P.; REZENDE, C. M.; **Antinociceptive and hypothermic evaluation of the leaf essential oil and isolated terpenoids from *Eugenia uniflora* L. (Brazilian Pitanga).** *Phytomedicine*, 16, 923–928, 2009.

AMORIM, J. A. **Influência de fatores agrônômicos na solubilidade, na atividade antioxidante e no rendimento do óleo essencial de Alecrim Pimenta (*Lippia Sidides Cham.*) em CO₂ Pressurizado.** Campinas: Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, 2002. Dissertação (Mestrado).

A.O.A.C. Official methods of analysis. Maryland: Ed. Patricia Cunnif, 1997.

A.O.A.C Official methods of Agricultural Chemistes. 16 th Ed. Washington, 1995.

ARAKAKI, L. N. H. **Imobilização de Etilenimina, Etilenossulfeto, 2-Aminoetanotul em Sílica Gel-Termodinâmica das Interações dos Centros Básicos Nitrogênio e Enxofre Com Cátions em Solução Aquosa.** São Paulo: Instituto de Química, Unicamp, 2000. 117p. Tese (Doutorado).

BALLINI, R., BOSICA, G., FIORINI, D., PALMIERI, A., **Acyclic α -nitro ketones: a versatile class of α -functionalized ketones in organic synthesis**, *Tetrahedron*, 61: 8971, 2005..

BEZERRA, J. E. F.; LEDERMAN, I. E.; SILVA Jr., J. F.; ALVES, M. A.; **COMPORTAMENTO DA PITANGUEIRA (*Eugenia uniflora* L) SOB IRRIGAÇÃO NA REGIÃO DO VALE DO RIO MOXOTÓ, PERNAMBUCO**. *Revista Brasileira de Fruticultura Jaboticabal* - SP, v. 26, n. 1, p. 177-179, abri. 2004.

BEZERRA, J. E. F.; SILVA Jr., J. F.; LEDERMAN, I. E. **Pitanga (*Eugenia uniflora* L.) Jaboticabal: Funep**, (Série Frutas Nativas, 1). 30p. 2000

BOTT, T. R.; **Fundamentals of carbon dioxide in solvent extraction**, *Chemistry and Industry*, (12): 394-396, 1982.

BRASIL. **Ministério da Agricultura e da Reforma Agrária. Regras para análise de sementes**, 1992, 365p.

BRUNNER, G. **Gas Extraction: An introduction to Fundamentals of Supercritical Fluids and the Application to Separation Processes**. New York: Springer, 1994. 187p.

BRUNNER, G. **Supercritical fluids: technology and application to food processing**. *Journal of Food Engineering*, 2005, 67, 21-33.

BULLEY, N. R.; FATTORI, M.; MEISEN, A.; MOYLS, L. **Supercritical fluid extraction of vegetable Oil seeds**. *Journal of the American Oil Chemists Society*, vol. 61, n. 8, p. 1365-1362, 1984.

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

CASSEL, E. **Estudo da modelagem termodinâmica aplicada à extração supercrítica.** Exame de qualificação ao doutorado – COPPE, p. 68, 1994.

CLARK, N. A. **Surface memory effects in liquid crystals: Influence of surface composition.** *Physical Review Letter*, v.55, p.292 - 295, 1985.

COSTA D. P.; FILHO E. G. A.; SILVA L. M. A.; SANTOS S. C.; PASSOS X. S.; SILVA M. R. R.; SERAPHIN J. C.; FERRI P. H.; **Influence of fruit biotypes on the chemical composition and antifungal activity of the essential oils of *Eugenia uniflora* leaves.** *Journal of the Brazilian Chemical Society*, Vol. 21: 851-858, 2010.

COSTA, D. P.; SANTOS, S. C.; SERAPHIN, J.C.; FERRI, P. H.; **Seasonal Variability of Essential Oils of *Eugenia uniflora* Leaves.** *Journal of the Brazilian Chemical Society*, Vol. 20, No. 7, S1-S3, 2009.

DEET, H. C., FITZ-GERAL, C.H., SNOW, A. J., **A Gas Chromatographic Method for the Quantitative Determination of Free Acids in Milk and Milk Products,** *New Zealand Journal of Dairy Science & Technology*, 18, 13, 1983.

DIAS, A. B. **Caracterização e composição de frutos da pitangueira em municípios baianos.** Bahia: Ciências Agrárias, Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas, 2010. Dissertação (Mestrado)

- DOMINGO, C., GARCIA-CARMONA J., FANOVICH, M. A., LLIBRE, J. RODRIGUEZ-CLEMENTE R., **Single or two solute adsorption processes at supercritical conditions: na experimental study.** *The Journal of Supercritical Fluids*, 21: 147 – 151, 2001.
- EINBOND, L. S.; REYNERTSON, K. A.; DOUNGLUO, X.; *et al.* **Anthocyanin antioxidants from edible fruits.** *Food Chemistry*, v. 84, p. 23-28, 2004.
- FERREIRA, S. R. S.; MEIRELES, M. A. **Modeling the supercritical fluid extraction of black pepper (piper nigrum L.) essential oil.** *Journal Food Engineering*. vol. 54, pg. 263, 2002.
- FILHO, G.L.; DE ROSSO, V. V.; MEIRELES, M. A. A.; ROSA, P. T. V.; OLIVEIRA, A. L.; MERCADANTE, A. Z.; CABRAL, F. A. **Supercritical CO₂ extraction of carotenoids from pitanga fruits (*Eugenia uniflora* L.).** *The Journal of Supercritical Fluids*, 46: 33-39, 2008.
- FRANZON, R.C. **Propagação vegetativa e modo de reprodução da pitangueira (*Eugenia uniflora* L.).** Pelotas: Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, 2008. 100p. Tese (Doutorado).
- GENENA, A. K. **Extração e caracterização do extrato de alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.): estudo de sua ação antioxidante.** Florianópolis: Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina., 2005. 179 p. Dissertação (Mestrado).
- GERMER, S. P. M. **Extração do óleo essencial de cravo-da-índia em leito fixo com dióxido de carbono líquido subcrítico.** São Paulo: Faculdade de Engenharia de Alimento, Universidade Estadual de Campinas, Unicamp, 1989. Dissertação (Mestrado).

HOLETZ FB, PESSINI GL, SANCHES NR, CORTEZ DAG, NAKAMURA CV, DIAS Filho BP. **Screening of some plants used in the Brazilian folk medicine for the treatment of infectious diseases.** *Mem Inst Oswaldo Cruz* 97: 1027-1031, 2002.

IBRAF – 2011. INSTITUTO BRASILEIRO DE FRUTAS. **Em primeira edição, FRUIT & LOG atrai empresas do setor para reserva de estandes.**

Disponível em

<http://www.ibraf.org.br/imprensa/0906_EmPrimeiraEdicao.asp>.

Acesso em: 31 jul. 2011.

LIMA, V. L. A G.; MÉLO, E. A.; LIMA, D. E. S. **Fenólicos e carotenoides totais em pitanga.** *Scientia Agrícola*, v. 59, p. 447-450, 2002.

LOPES Filho, Genival. **Extração de carotenóides de pitanga liofilizada com dióxido de carbono supercrítico.** São Paulo: Engenharia de Alimentos Unicamp, 2007. Tese (Doutorado).

MAIA JGS, ZOGHBI MGB, LUZ AIR. **Essential oil of *Eugenia punicifolia* (HBK) DC.** *Journal of Essential Oil Research*, 9:337-338, 1997.

MATSUMURA, T.; KASAI, M.; HAYASHI, T.; ARISAWA, M.; MONOSE, Y.; ARAI, I.; AMAGAYA, S.; KOMATSU, Y. **Alfa-glucosidade inhibitors from paraguayan natural medicine, Ñangapity, the leaves of *Eugenia uniflora*.** *Pharmaceutical Biology*, 38(4), 302-307, 2000.

MCHUGH, M. A., & KRUKONIS, V. J. **Supercritical fluid extraction: Principles and practice.** 2ª Ed., Butterworth-Heinemann, 1994, pp.512.

- MELO, E. A.; MACIEL, M.I. S., DE LIMA, V. L. A. G.; NASCIMENTO, R, J. **Capacidade antioxidante de frutas.** *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, v. 44, p. 193-201, 2008.
- MEZZOMO, N. **Óleo de amêndoa de pêssego: avaliação da técnica de extração, da qualidade dos extratos e de parâmetros para ampliação de escala.** Florianópolis: Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, 2008. Dissertação (Mestrado).
- MOHAMED, R. **Extração e Fracionamento de Produtos de Ocorrência Natural com Fluidos Supercríticos.** *Ciência e Tecnologia de Alimentos*. 17(4): 344-353,1997.
- MORAIS, S. M.; CRAVEIRO, A. A.; MACHADO, M. I. L.; ALENCAR, J. W.; MATOS, J. A. **Volatiles constituents of *Eugenia uniflora* leaf oil from northeastern Brazil.** *Journal of Essential Oil Reserch*, 8, 449-451, 1996.
- MOYLER, D. **Extraction of Essential Oil with Carbon Dioxide.** *Flavour and Fragrance Journal*, U.S.A, 235-247, 1993.
- NELDER, J.A., MEAD, R., **A simplex method for function minimization.** *Computer Journal* 7, 308–313, 1965.
- NIMET, G. **Avaliação dos solventes dióxido de carbono supercrítico e propano subcrítico na extração do óleo de girassol.** Paraná: Engenharia química, Universidade Estadual do Oeste do Paraná, 2009. Dissertação (Mestrado).
- OLIVEIRA, A.L.: LOPES, R. B. **Volatile compounds from pitanga fruit (*Eugenia uniflora* L.).** *Food Chemistry*, v.99, p.1-5, 2006.

OLIVEIRA, L. F. **Efeito dos parâmetros do processo de desidratação de jaca (*Artocarpus heterophyllus* Lam.) sobre as propriedades químicas, físico-químicas e a aceitação sensorial.** Rio de Janeiro: Instituto de Tecnologia, Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2009.121 p. Tese (Doutorado).

PAVIANI, L. C. **Extração com CO₂ a altas pressões e fracionamento do óleo essencial de capim limão utilizando peneiras moleculares.** Rio Grande do Sul: Engenharia de Alimentos, Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões – URI, Campus de Erechim. 2004. Dissertação (Mestrado).

PEDERSSETTI, M. M. **Análise dos efeitos da temperatura e pressão na extração supercrítica do óleo essencial de canola com dióxido de carbono supercrítico e n- propano pressurizado.** Paraná: Engenharia Química, Universidade Estadual do Oeste do Paraná, 2008. Dissertação (Mestrado).

PEIXOTO, C. A. **Extração supercrítica da *Eugenia uniflora* L.** São Paulo: Faculdade de Engenharia de Alimento, Universidade Estadual de Campinas, Unicamp, 2008. Tese (Doutorado).

RECASENS, F.; ABAROUDI, K.; TRABELSI, F.; CALLOUD-GABRIEL, B. **Mass Transport enhancement in modified supercritical fluid.** *Industrial Engineering Chemistry Research*. vol. 38, pg. 3505-3518, 1999.

REVERCHON, E. & DE MARCO, I. **Supercritical fluid extraction and fractionation of natural matter.** *The Journal of Supercritical Fluids*, 38, 146–166, 2006.

- RIZVI, S. S. H., BENADO, A. L., ZOLLWEG, J. A., DANIELS, J. A. **Supercritical fluid extraction: fundamental principles and modeling methods.** *Food Technology*, v.40, n.6, p.55-64, 1986.
- RODRÍGUEZ, M.; GARCIA, D.; GARCIA, M.; PINO, J.; HERNANDEZ, L. **Antimicrobial activity of Pimenta dioica.** *Alimentaria* (Madrid), 274: 107, 1996.
- RÜCKER, G.; ASSIS BRASIL, G.; SILVA, L.; BAUER, M.; SCHKARSKI, M. **Neue Inhaltsstoffe aus Stenocalyx Michellii.** *Planta Medica*, v. 31, p. 305-34, 1977.
- RUSCHEL, A.; VELHO, L. F.; SCHWANKE, C.; **Frutas nativas da região sul-reconhecimento e valorização.** Porto Alegre. Anais da 11 Mostra de Trabalhos de Iniciação Técnico-científica., v. 1. p. 1, 2010
- RUTHVEN, D. M. **Principles of adsorption and adsorption process.** J Wiley & Sons, New York, 1984.
- SANGWAN, N.S.; FAROOQI, A.H.A.; SHABIH, F.; SANGWAN R.S. **Regulation of essential oil production in plants.** *Plant Growth Regulation*, v. 34, p. 3–21, 2001.
- SARMENTO, C. M. P. **Modelagem do crescimento microbiano e avaliação sensorial no estudo da vida de prateleira de mortadela e lingüiça em armazenamento isotérmico e não isotérmico.** Florianópolis: Centro Tecnológico, Universidade Federal de Santa Catarina, 2006. 146 p. Tese (Doutorado).

- SCHMEDA-HIRSCHMANN, G. **Flavonoids from Calycorectes, Campomanesia, Eugenia and Hexachlamys species.** *Fitoterapia*, 16, 373-374, 1995.
- SCHMEDA-HIRSCHMANN, G.; ZDERO, C.; BOHLMANN, F. **Melampolides and germacranolides from *Stevia amambayensis*.** *Phytochemistry*, 25, 1755-1756, 1986.
- SHISHIKURA, A., FUJIMOTO, K., ARAI, K., SAITO, S.; **Modification of Butter Oil by Extration with Supercritical Carbon Dioxide.** *Agricultural and Biological Chemistry*. 50 (5), 1209-1215, 1986.
- SILVA JUNIOR, J. F. ; BEZERRA, J. E. F.; LEDERMAN, I. E.; **Recursos genéticos e melhoramento de fruteiras nativas e exóticas em Pernambuco.** 1 ed. Petrolina/Brasília: Embrapa Semi-Árido/ Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 1999.
- SNYDER, J. M., FRIEDRICH, J. P., CHRISTIANSON, D. D. **Effect of Moisture and Particle Size on the Extractability of Oils from Seeds with Supercritical CO₂.** *Journal of the American Oil Chemists Society*, vol. 61, nº 12, p. 1851-1856, 1984.
- SOUZA, L. K.H.; OLIVEIRA, C. M. A.; FERRI, P. H.; et al. **Antifungal properties of Brazilian cerrado plants.** *Brazilin Journal of Microbiology*, v.33, p.247-249, 2002.
- SOUZA, V. C.; LORENZI, H. **Botânica sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de angiosperma da flora brasileira, baseada em APG II.** 2. ed. Nova Odessa: Instituto Planatarum, 2008. 703p.

SOVOVÁ, H. KOMERS, R. KUCERA, J. and JEZ, J . **Supercritical carbon dioxide extraction of caraway essential oil.** *Chemical Engineering Science*, 49, pp. 2499–2505, 1994.

SOVOVÁ, H. **Rate of the Vegetable Oil Extraction With Supercritical CO₂ Modelling of Extraction Curves.** *Chemical Engineering Science*, v. 49, n. 3, p.409-414, 1994.

STEFANELLO, M. É. A.; RIVA, D. ; SIMIONATTO, E. L; CARVALHO, J. E. ; RUIZ, A. L. T. G. ; SALVADOR, M. J . **Chemical Composition and Cytotoxic Activity of Essential Oil from Myrcia laruotteana Fruits.** *The Journal of Essential Oil Research*, v. 23, p. 7-10, 2011.

STEFFANI, E. **Modelagem Matemática do Processo de Extração Supercrítica de Óleo Essencial de Ho-Sho (Cinnamomum camphora Nees & Eberm var. linaloolifera Fujita) Utilizando CO₂.** Florianópolis: Engenharia Química, Universidade Federal de Santa Catarina, 2003. Tese (Doutorado).

STUART, G. R. **Estudo do fracionamento do óleo de laranja por destilação a vácuo e dióxido de carbono supercrítico.** Rio de Janeiro: Engenharia Química, Universidade Estadual do Rio de Janeiro, 1999. Tese (Doutorado).

STUART, G. R. **Extração do óleo essencial de *Ocimum basilicum* L. utilizando dióxido de carbono a altas pressões.** Florianópolis: Engenharia Química, Universidade Federal de Santa Catarina, 1995. Dissertação (Mestrado).

VEDAMARAN, N.; BRUNNER, G.; SRINIVASA KANNAN, C.; RAMABRAHMAM, B.V.; RAO,P.G. **Solubility of N-CBZ derivatised amino acids in supercritical carbon dioxide.** *Journal of Supercritical Fluids*, 30, 119-125, 2004.

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.

WEYERSTAHL P.; MARSCHALL-WEYERSTAHL M.; CHRISTIANSEN C.; OGUNTIMEIM B. O.; ADEOYE O.; **Volatile constituents of *Eugenia uniflora* leaf oil.** *Planta Med* 54: 546-549,1988.

WILLIAMS, D. F. **Extraction with Supercritical Gases.** *Chemical Engineering Science*, vol. 26, n°11, p. 1769-1788, 1981.

WOO, A. H., and LINDSAY, R. C., **Method for the routine quantitative gas Chromatographic Analysis of Major Free Faty Acids in Butter and Cream,** *Journal of Dairy Science* , 63, 1058, 1980.

9. APÊNDICE

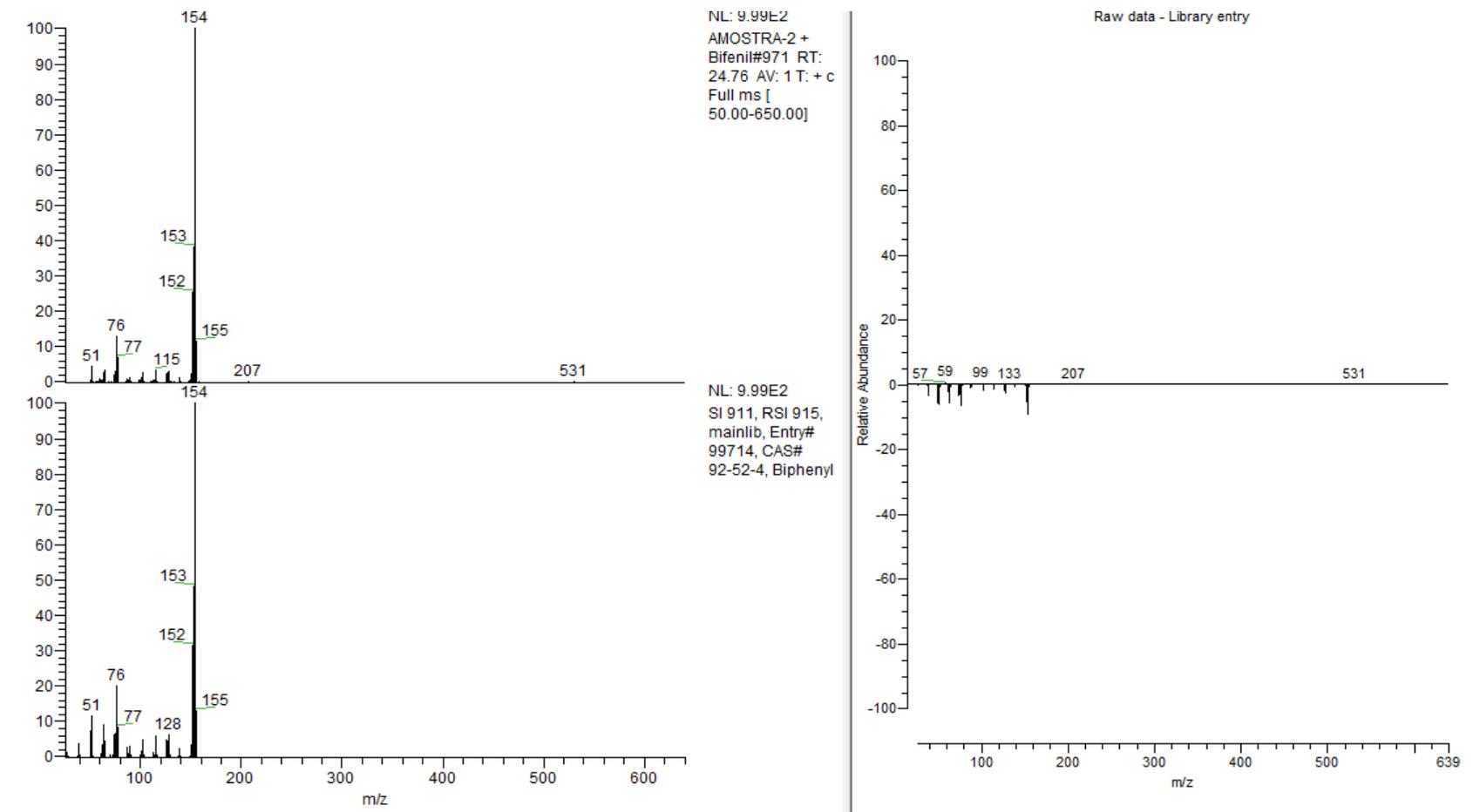
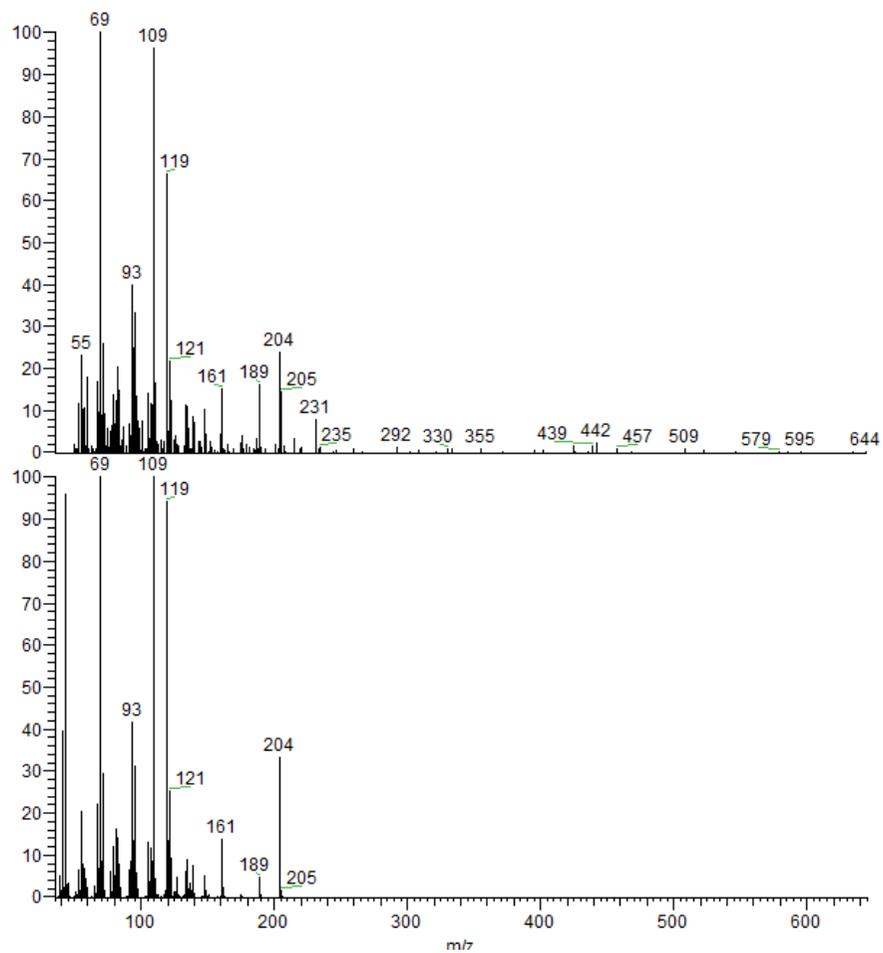


Figura 48 - Espectro de massa do composto bifênil do óleo das folhas de pitanga (*Eugenia uniflora L.*) vermelha utilizando CO₂ supercrítico como solvente condição 60°C 250 Bar.



NL: 9.99E2
 AMOSTRA-2 +
 Bifenil#1563 RT:
 36.82 AV: 1 T: + c
 Full ms [
 50.00-650.00]

NL: 9.99E2
 SI 707, RSI 791,
 mainlib, Entry#
 65385, CAS#
 72691-24-8,
 à-Bisabolol

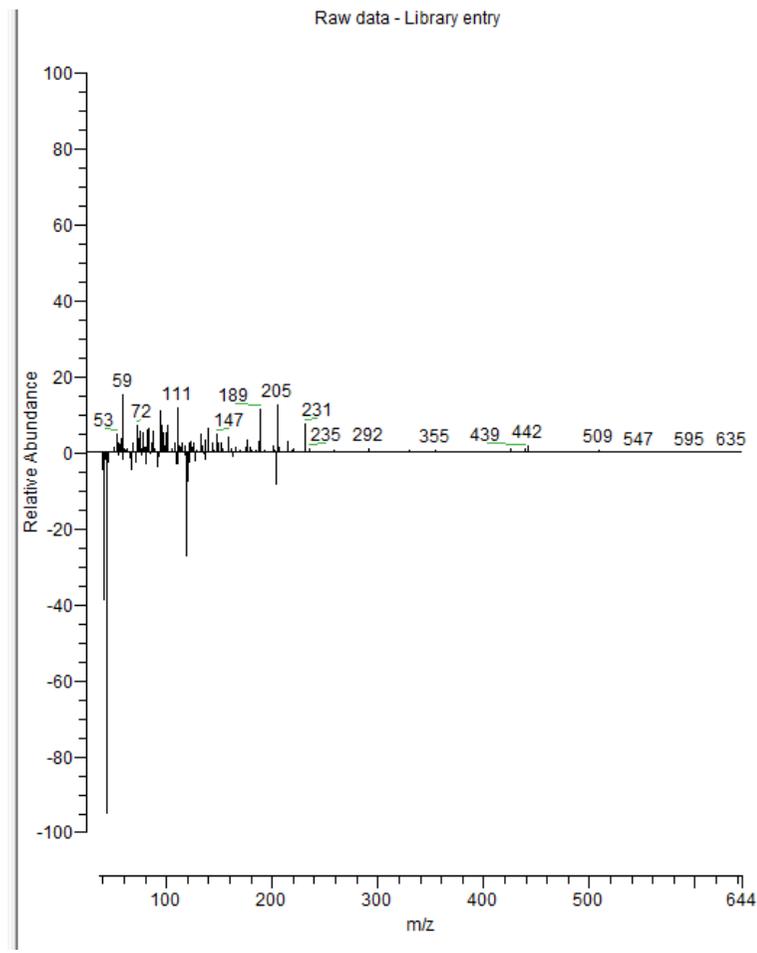


Figura 49 - Espectro de massa do composto alfa-bisabolol do óleo das folhas de pitanga (*Eugenia uniflora* L.) vermelha utilizando CO₂ supercrítico como solvente condição 60°C 250 Bar.

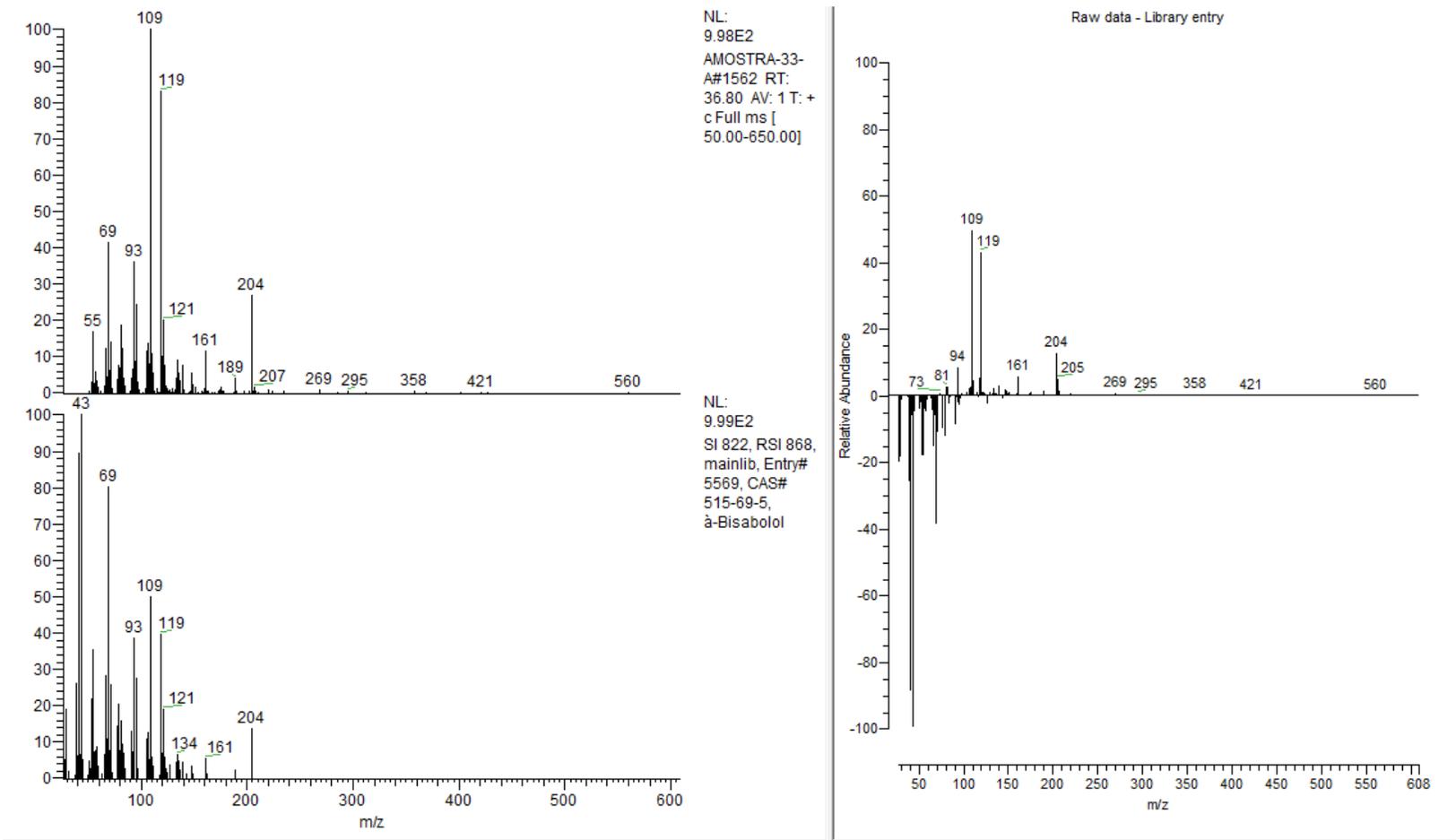


Figura 50 - Espectro de massa do composto alfa-bisabolol do óleo das folhas de pitanga (*Eugenia uniflora L.*) roxa utilizando CO₂ supercrítico como solvente condição 60°C 250 Bar + 0,1 mL padrão de alfa-bisabolol a 0,5 mg / mL.