



UNICAMP

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS

**OBTENÇÃO DE EXTRATOS VEGETAIS COM PROPRIEDADES
FUNCIONAIS VIA TECNOLOGIA SUPERCRÍTICA:
USO DE CO₂ E CO₂ + H₂O**

Patrícia Franco Leal
Engenheira de Alimentos, 2003 (UNICAMP)

Prof^{el}. Dra. Maria Angela de Almeida Meireles
Orientadora

Dissertação de Mestrado apresentada à
Faculdade de Engenharia de Alimentos
da Universidade Estadual de Campinas,
como requisito parcial para a obtenção
do título de Mestre em Engenharia de
Alimentos.

Campinas – São Paulo
2005

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA F.E.A. – UNICAMP

L473o Leal, Patrícia Franco
Obtenção de extratos vegetais com propriedades funcionais
via tecnologia supercrítica: uso de CO₂ e CO₂ + H₂O / Patrícia
Franco Leal. – Campinas, SP : [s.n.], 2005.

Orientador: Maria Angela de Almeida Meireles
Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de
Campinas. Faculdade de Engenharia de Alimentos.

1. *Achyrocline alata*. 2. *Achyrocline satureioides*. 3.
Atividade antioxidante. 4. Extração com fluido supercrítico.
5. *Ocimum basilicum*. I. Meireles, Maria Angela de Almeida.
II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de
Engenharia de Alimentos. III. Título.

(ckn/fea)

Palavras-chave em inglês (Keywords): *Achyrocline alata*, *Achyrocline satureioides*,
Antioxidant activity, Supercritical fluid extraction,
Ocimum basilicum

Titulação: Mestre em engenharia de alimentos
Banca examinadora: Maria Angela de Almeida Meireles
Fernando Antônio Cabral
Carlos Raimundo Ferreira Grosso
Glyn Mara Figueira

Data de defesa:
28 de fevereiro de 2005

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Maria Angela de Almeida Meireles
(Orientadora)

Prof. Dr. Fernando Antônio Cabral
(Membro)

Prof. Dr. Carlos Raimundo F. Grosso
(Membro)

Dra. Glyn Mara Figueira
(Suplente)

Dedico

***Aos meus pais, Edna e Lucindo, e aos meus irmãos Raquel e Marcelo,
A vocês, que acompanharam meu crescimento e, muitas vezes, renunciaram aos seus
sonhos para que os meus se realizassem. São exemplos de fé e esperança que me
trouxeram a força e a coragem para vencer mais esta etapa de minha vida.
Muitíssimo obrigada.***

Dedico

Ao meu companheiro, Martinho A. Gestic,

Por todo carinho, atenção, amizade, confiança, companheirismo e amor. Por todos os momentos juntos que restabeleceram minhas energias e garantiram meu equilíbrio.

Obrigada por me fazer feliz.

Agradecimentos

À Dra. Maria Ângela de Almeida Meireles, orientadora e amiga,

Pela confiança, incentivo, contribuição intelectual, estímulo à participação de eventos técnicos e científicos e pelo conforto para o desenvolvimento de meu trabalho, tornando-me uma profissional mais madura e uma pessoa mais realizada: expresso meus maiores agradecimentos e o mais profundo respeito, os quais sempre serão poucos, diante do muito que me foi oferecido.

À Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP),

Pela credibilidade depositada e por ser a casa que me acolheu por 7 anos entre graduação e mestrado.

Aos Mestres,

Aqueles que transmitiram seus conhecimentos, experiências profissionais e de vida, que me guiaram para além das teorias, das filosofias e das técnicas: expresso meus maiores agradecimentos e o mais profundo respeito.

À Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP),

Pela apoio financeiro concedido, tornando possível a realização deste trabalho e minha dedicação à Ciência.

À grande amiga Érika Cristina Cren,

Juntas passamos por diversas dificuldades e expectativas. Foram finais de semana, às vezes até feriados, enclausuradas para estudo e para dedicação aos ensaios de laboratório. Entretanto, transpusemos estas e muitas outras barreiras juntas, sempre uma incentivando a outra. Convivemos com muitas alegrias e sucessos. Que nos nossos caminhos, todo aprendizado nos bancos acadêmicos e também no convívio cotidiano, seja uma luz a nos dar força e moral para partimos para novas conquistas no exercício de nossa profissão: agradeço pelas palavras certas na hora certa e por sua amizade incondicional.

Aos amigos,

Meu reconhecimento porque souberam compreender o sentido da dedicação ao meu trabalho, dispensando-me muitas vezes, de seu convívio, para que eu pudesse enfrentar minhas obrigações. Agradeço por me incentivarem e pelos momentos agradáveis.

Aos colegas do LASEFI, em especial à Ms. Eng. Mara Elga Braga e ao Esp. Eng. Alberto Shintake, *pela contribuição técnica, incentivo e companheirismo.*

Aos funcionários, *em especial ao técnico Ariovaldo e a todos que, anonimamente ou não, auxiliaram durante a realização dos ensaios experimentais.*

Aos alunos de iniciação científica Marina B. Kfoury e Fábio C. Alexandre, *meus primeiros co-orientados, que tornaram possível esta experiência tão gratificante de*

orientar, ensinar e desenvolver outros projetos simultaneamente: agradeço pela seriedade e dedicação que tornou possível a realização de trabalhos científicos de qualidade.

À Divisão de Fitoquímica do Centro de Pesquisas Químicas, Biológicas e Agrícolas (CPQBA/UNICAMP) pelo curso de “Introdução às técnicas fitoquímicas” de 2 de fevereiro a 5 de março de 2004, contribuindo para o aprimoramento de técnicas analíticas. Aos pesquisadores deste Centro, em especial à Dra. Carmem L. Queiroga, Eng. Ílio Montanari Jr., Dra. Marili V. N. Rodrigues, pelo vínculo e contribuição intelectual tornando possível o desenvolvimento de trabalhos conjuntos.

*Ao Dr. Nilson B. Maia (Instituto Agrônomo de Campinas - IAC), pela matéria-prima (*Ocimum basilicum*) fornecida e pela colaboração em produção científica.*

Ao Prof. Dr. Ademir Petenate, pela oportunidade de participação como ouvinte da disciplina MP253 – Técnicas Avançadas de Estatística, Programa Black Belt: Melhoria de Processos, no 2º semestre de 2003, IMEEC-UNICAMP.

À Fundação de Apoio ao Ensino e à Pesquisa (FAEP, Pró-Reitoria de Pesquisa), Pelo apoio financeiro para participação do IV Congreso Iberoamericano de Ingeniería de Alimentos (IVCIBIA): Projectando el procesamiento de alimentos desde la nanotecnología a la ingeniería clásica, realizado em outubro de 2003 em Valparaíso, Chile.

Aos Doutores da Banca, pela valiosa contribuição.

TESE DE MESTRADO

AUTOR: Patrícia Franco Leal

TÍTULO: Obtenção de extratos vegetais com propriedades funcionais via tecnologia supercrítica: uso de CO₂ e CO₂ + H₂O

ORIENTADORA: Dra. M. Angela de Almeida Meireles – LASEFI/DEA/FEA/UNICAMP

RESUMO

Neste trabalho foi estudado o processo para obtenção de extratos de *Ocimum basilicum* (manjeriço), *Achyrocline alata* e *Achyrocline satureioides* (macela) por extração supercrítica, usando CO₂ com ou sem o co-solvente H₂O; foram determinadas as isotermas de rendimento global dos extratos, a composição química e atividade antioxidante dos mesmos. Foram realizados ensaios de extração no intervalo de pressão de 100 a 300 bar nas temperaturas de 30 e 50 °C com diferentes porcentagens do co-solvente H₂O. Para cada condição de extração, os ensaios de extração foram realizados em duplicata. A identificação dos compostos presentes nos extratos foi feita por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas. Os teores (% em área) dos principais compostos nos extratos foram determinados por CG-DIC. A atividade antioxidante dos extratos foi determinada através da reação acoplada de beta-caroteno e ácido linolênico. O maior rendimento global em extrato de manjeriço foi de 2% (em base seca – b.s.) a 100 bar, 30 °C e 1 % do co-solvente H₂O (v/v), 11% (b.s.) a 100 e 150 bar, 30 °C e 10% de H₂O (v/v), 24% (b.s.) a 300 bar, 30 °C e 20% de H₂O (v/v) e 4% (b.s.) em extrato de *Achyrocline alata* a 200 bar e 30 °C e 2% (b.s.) em extrato de *Achyrocline satureioides* a 200 bar e 30 °C. Os principais componentes voláteis detectados nos extratos (via ESC) de manjeriço foram eugenol,

germacreno D e EPI-alfa-cadinol; nos extratos de *A. alata* e *A. satureioides* foram transcariofileno e alfa-humuleno. Os resultados foram comparados com os processos de extração com solvente orgânico (etanol) e hidrodestilação. Em relação à atividade antioxidante, alguns extratos de manjerição não apresentaram atividade antioxidante superior ao beta-caroteno, mas outros chegaram a 99% de atividade. A atividade antioxidante dos extratos de *A. alata* variou de 28 % a 100 % obtidos por hidrodestilação (HD) e extração supercrítica (ESC) respectivamente e para os extratos de *A. satureioides* variou de 12 a 98 % respectivamente para HD e ESC.

PALAVRAS-CHAVES: *Achyrocline alata*, *Achyrocline satureioides*, água, atividade antioxidante, dióxido de carbono, extração supercrítica, Macela, Manjerição, *Ocimum basilicum*, parâmetros de processo, rendimento global.

MASTER DEGREE THESIS

AUTHOR: Patrícia Franco Leal

TÍTULO: Vegetal extracts with functional properties obtained using supercritical technology: use of CO₂ and CO₂ + H₂O

MAJOR PROFESSOR: M. Angela de Almeida Meireles – LASEFI – DEA FEA - UNICAMP

ABSTRACT

In this work supercritical fluid extraction was used to obtain extracts from *Ocimum basilicum* (sweet basil), *Achyrocline alata*, and *Achyrocline satureioides*; for sweet basil extracts, water was used as cosolvent at 1, 10, and 20% (v/v). The extract's global yield isotherms, chemical compositions, and antioxidant activities were determined. The extraction assays were done for pressures of 100 to 300 bar at temperatures of 30 to 50 °C. All the experiments were duplicated. The identification of the compounds present in extracts was made by GC-MS. The antioxidant activity of extracts was determined using the coupled reaction of beta-carotene and linolenic acid. The larger global yield of sweet basil extract was 2% (dry basis – d.b.) at 100 bar, 30 °C and 1% of cosolvent H₂O (v/v), 11% (d.b.) at 100 and 150 bar, 30 °C and 10% of H₂O (v/v), and 24% (d.b.) at 300 bar, 30 °C and 20% H₂O. The larger global yield of *A. alata* extract was 4% (d.b.) and for *A. satureioides* extract was 2% (d.b.), both at 200 bar and 30 °C. The main components detected in the sweet basil extracts were eugenol, germacrene-D and epi-alpha-cadinol. And, in the *A. alata* and *A. satureioides* extracts were trans-caryophyllene and alpha-humulene. The results were compared with low-pressure solvent extraction with ethanol and hydrodistillation. Sweet basil extracts exhibited antioxidant activity smaller as well as

larger (99%) than the control (beta-carotene). The antioxidant activity of *A. alata* extracts obtained by hydrodistillation and supercritical fluid extraction varied from 28% to 100% respectively; the antioxidant activity of *A. satureioides* extracts obtained by hydrodistillation and supercritical fluid extraction varied from 12 to 98%.

KEYWORDS: *Achyrocline alata*, *Achyrocline satureioides*, antioxidant activity, carbon dioxide, global yield isotherms, Macela, *Ocimum basilicum*, process parameters, supercritical fluid extraction, sweet basil, water.

ÍNDICE GERAL

1. INTRODUÇÃO	1
1.1 Introdução Geral	1
1.2 Objetivo Geral.....	3
1.2.1 Objetivos Específicos	3
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	5
2.1 Produtos Naturais, Alimentos Funcionais e Suplementos Alimentares	5
2.2 Antioxidantes	6
2.3 Fluido supercrítico	7
2.4 Extração Supercrítica	10
2.4.1. Extração com CO ₂	16
2.4.2 Uso de co-solventes	16
2.5 <i>Ocimum basilicum</i> L.(manjeriço)	21
2.6 <i>Achyrocline alata</i> e <i>Achyrocline satureioides</i> (macela).....	24
3. MATERIAIS E MÉTODOS	27
3.1. Matéria-Prima	27
3.1.1 <i>Ocimum basilicum</i> (manjeriço)	27
3.1.2 Macela.....	31
3.2 Moagem e Peneiragem.....	31
3.2.1 Manjeriço	31
3.2.2 Macela.....	32
3.3 Umidade.....	32
3.4 Densidade Real/Densidade aparente da matriz vegetal	33
3.5 Porosidade total do leito e das partículas.....	33
3.6 Extração Supercrítica	34
3.6.1 Manjeriço	34
3.6.2 Macela.....	39
3.7 Hidrodestilação	43
3.7.1 Manjeriço	43
3.7.2 Macela.....	43
3.8 Extração a baixa pressão com etanol	44
3.9 Composição dos Extratos.....	45
3.9.1 CG-EM.....	45
3.9.2 CG-DIC.....	46
3.10 Atividade Antioxidante.....	47
3.11 Cálculos	48
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	49
4.1 Manjeriço	49
4.1.1 Treinamento e ensaios preliminares: manjeriço.....	49
4.1.2 Extração	52
4.1.3 Composição química dos extratos de manjeriço	59
4.1.4 Atividade Antioxidante.....	64
4.2 Macela _a e Macela _s	72

4.2.1 Extração	72
4.2.2 Composição química dos extratos de macela _a e macela _s	75
4.2.3 Atividade Antioxidante dos extratos de macela _a e macela _s	79
5. CONCLUSÕES	83
6. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	87
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	89
8. ANEXO	101
8.1 Lista de Produção Científica e Técnica (2003 a 2004)	102
8.1.1 Artigo Publicado em Periódico Indexado	102
8.1.2 Trabalhos Completos Publicados em Anais de Eventos Científicos	102
8.1.3 Trabalhos Resumidos Publicados em Anais de Eventos	103
8.1.4 Produção em Co-autoria	104
8.1.5 Co-orientação de Alunos de Iniciação Científica	105
8.2 Código dos experimentos de extração	106
8.3 Resultado das extrações realizadas com diferentes condições de extração	108
8.3.1 Manjerição	108
8.3.2 Macelas	127
8.4 Cromatogramas dos extratos obtidos em diferentes condições de processo	128
8.4.1 Manjerição	128
8.4.2 Macelas	139
8.5. Atividade Antioxidante	145
8.6 Seção de Fotos	154
8.7 Cálculo da mistura CO ₂ + H ₂ O	158
8.8 Planilha de Cálculo do erro presumido do Rendimento Global de Extração (Xo) para os experimentos do manjerição	160
8.9 Planilha de cálculo do erro presumido do Rendimento Global de Extração (Xo) e a amplitude em relação à média das duplicatas dos experimentos de extração das macelas	162

LISTA DE FIGURAS

Figura 2. 1 Diagrama de equilíbrio para uma substância pura (eugenol) obtido através do software PR1 de Sandler (1989) a partir de propriedades críticas obtidas pelo software Termofis (Leal <i>et al</i> , 2002).	9
Figura 2. 2 Diagrama de equilíbrio para uma substância pura (adaptado de Sandler, 1989).	10
Figura 2. 3 Diagrama de fase da mistura CO ₂ + H ₂ O de 5 a 75° C (Shyu <i>et al</i> , 1997) ² .	20
Figura 2. 4 Diagrama de fase da mistura CO ₂ + H ₂ O de 5 a 75° C (Shyu <i>et al</i> , 1997) ^{2,6} .	20
Figura 3. 1 Sistema automático de fornecimento de solução nutritiva (Maia <i>et al</i> , 1999).	28
Figura 3. 2 Bóia de controle de nível da solução no vaso desenvolvido por Maia (1999).	28
Figura 3. 3 Fotos da estufa de cultivo de manjerição no IAC (dia 10 de julho de 2003, às 8 h, Campinas, SP).	29
Figura 3. 4 Diagrama da unidade experimental (Pasquel-Ruiz, 1999).	35
Figura 3. 5 Diagrama da unidade de SFE Spe-ed da Applied Separations (Moreschi, 2004).	40
Figura 4. 1 Rendimento em extrato (base seca) obtido a 30 °C com 10% (m/m) de água nas pressões de 100 bar(◇), 150 bar(+), 200 bar(○), 250 bar(△) e 300 bar() e com 20% (m/m) de água nas pressões de 100 bar(◆), 150 bar(×), 200 bar(●), 250 bar(▲) e 300 bar(■) em função do tempo de extração.	53
Figura 4. 2 Extratos de manjerição coletados aos 15 (F15), 30 (F30), 45 (F45) e 60 min (F60) e durante a despressurização do sistema (Desp.).	55
Figura 4. 3 Rendimento global de extração (X _o) de manjerição em função da pressão de extração e porcentagem de co-solvente H ₂ O (m/m): 10% (▲) e 20% ().	55
Figura 4. 4 Rendimento da fase oleosa do extrato de manjerição obtido com 1% H ₂ O (m/m), como função da pressão nas temperaturas de 30 °C () e 50 °C (◆).	56
Figura 4. 5 Rendimento da fase oleosa do extrato de manjerição obtido com 5% H ₂ O (m/m), em função do tempo de extração na pressão de 100 bar e 30 °C ().	58
Figura 4. 6 Cromatograma do óleo volátil de manjerição obtido por HD.	60
Figura 4. 7 Cromatograma do extrato do manjerição obtido por SFE a 150 bar, 50° C e 1% de co-solvente água.	61
Figura 4. 8 Atividade antioxidante dos extratos de manjerição obtidos a 30° C, 10% de co-solvente e 100 bar (A), 150 bar (B), 200 bar (C), 250 bar (D), 300 bar (E); em função do tempo de extração e do tempo de reação oxidante 1h (■), 2h (▲) e 3h (×).	70
Figura 4. 9 Atividade antioxidante dos extratos de manjerição obtidos a 30° C, 20% de co-solvente e 100 bar (A'), 150 bar (B'), 200 bar (C'), 250 bar (D'), 300 bar (E'); em função do tempo de extração e do tempo de reação oxidante 1h (■), 2h (▲) e 3h (×).	71

Figura 4. 10 Isotermas de rendimento global para o sistema macela _a + CO ₂ : 30 °C (- -♦- -) e 40 °C (- -).	73
Figura 4. 11 Isoterma de rendimento global para o sistema macela _s + CO ₂ : 30 °C (- -♦- -) e 40 °C (- -).	74
Figura 4. 12 Atividade antioxidante dos extratos de macela _a obtidos por SFE a 30°C usando CO ₂ como solvente em função do teor de trans-cariofileno e alfa-humuleno no extrato.	81
Figura 4. 13 Atividade antioxidante dos extratos de macela _a obtidos por SFE a 40°C usando CO ₂ como solvente em função do teor de trans-cariofileno e alfa-humuleno no extrato.	81
Figura 4. 14 Atividade antioxidante dos extratos de macela _s obtidos por SFE a 30°C usando CO ₂ como solvente em função do teor de trans-cariofileno e alfa-humuleno nos extratos.	82
Figura 4. 15 Atividade antioxidante dos extratos de macela _s obtidos por SFE a 40°C usando CO ₂ como solvente em função do teor de trans-cariofileno e alfa-humuleno no extrato.	82
Figura 8. 1 Curva de extração do experimento 9.	108
Figura 8. 2 Curva de extração do experimento 11.	109
Figura 8. 3 Curva de extração do experimento 12.	110
Figura 8. 4 Curva de extração do experimento 13.	111
Figura 8. 5 Curva de extração do experimento 15.	112
Figura 8. 6 Curva de extração do experimento 17.	113
Figura 8. 7 Curva de extração do experimento 18.	114
Figura 8. 8 Curva de extração do experimento 19.	115
Figura 8. 9 Curva de extração do experimento 20.	116
Figura 8. 10 Curva de extração do experimento 22.	117
Figura 8. 11 Curva de extração do experimento 23.	118
Figura 8. 12 Curva de extração do experimento 25.	119
Figura 8. 13 Curva de extração do experimento 26.	120
Figura 8. 14 Curva de extração do experimento 27.	121
Figura 8. 15 Curva de extração do experimento 28.	122
Figura 8. 16 Curva de extração do experimento 29.	123
Figura 8. 17 Curva de extração do experimento 31.	124
Figura 8. 18 Curva de extração do experimento 33.	125
Figura 8. 19 Cromatograma do extrato obtido na condição de 100 bar, 30 °C e 1% de co-solvente água (EX42).	128
Figura 8. 20 Cromatograma do extrato obtido na condição de 150 bar, 30 °C e 1% de co-solvente água (EX44).	129
Figura 8. 21 Cromatograma do extrato obtido na condição de 200 bar, 30 °C e 1% de co-solvente água (EX46).	129
Figura 8. 22 Cromatograma do extrato obtido na condição de 250 bar, 30 °C e 1% de co-solvente água (EX47).	130

Figura 8. 23 Cromatograma do extrato obtido na condição de 300 bar, 30 °C e 1% de co-solvente água (EX49).....	130
Figura 8. 24 Cromatograma do extrato obtido na condição de 100 bar, 50 °C e 1% de co-solvente água (EX52).....	131
Figura 8. 25 Cromatograma do extrato obtido na condição de 150 bar, 50 °C e 1% de co-solvente água (EX54).....	131
Figura 8. 26 Cromatograma do extrato obtido na condição de 200 bar, 50 °C e 1% de co-solvente água (EX56).....	132
Figura 8. 27 Cromatograma do extrato obtido na condição de 250 bar, 30 °C e 1% de co-solvente água (EX58).....	132
Figura 8. 28 Cromatograma do extrato obtido na condição de 300 bar, 30 °C e 1% de co-solvente água (EX59).....	133
Figura 8. 29 Cromatograma do extrato obtido na condição de 100 bar, 30 °C e 5% de co-solvente água (EX31).....	133
Figura 8. 30 Cromatograma do extrato obtido nos primeiros 15 min (Frasco 1) de ensaio realizado na condição de 100 bar, 30 °C e 5% de co-solvente água (EX31F1).....	134
Figura 8. 31 Cromatograma do extrato obtido entre 15 e 30 min (Frasco 2) de ensaio realizado na condição de 100 bar, 30 °C e 5% de co-solvente água (EX31F2).....	134
Figura 8. 32. Cromatograma do extrato obtido entre 30 e 45 min (Frasco 3) de ensaio realizado na condição de 100 bar, 30 °C e 5% de co-solvente água (EX31F3).....	135
Figura 8. 33 Cromatograma do extrato obtido entre 45 e 60 min (Frasco 4) de ensaio realizado na condição de 100 bar, 30 °C e 5% de co-solvente água (EX31F4).....	135
Figura 8. 34 Cromatograma do extrato obtido durante a despressurização do sistema (Frasco D) de ensaio realizado na condição de 100 bar, 30 °C e 5% de co-solvente água (EX31FD).....	136
Figura 8. 35 Cromatograma do extrato obtido na condição de 150 bar, 30 °C e 5% de co-solvente água (EX33).....	136
Figura 8. 36 Cromatograma do extrato total (Xo) obtido na condição de 200 bar, 30 °C e 10% de co-solvente água (A) e o cromatograma expandido 50-60 min (B).	137
Figura 8. 37 Espectro de massa do pico 1.....	138
Figura 8. 38 Espectro de massa do pico 2.....	138
Figura 8. 39 Cromatograma do extrato de macela _a obtido na condição de 100 bar, 30 °C (CPQBA09).	139
Figura 8. 40 Cromatograma do extrato de macela _a obtido na condição de 200 bar, 30 °C (CPQBA11).	139
Figura 8. 41 Cromatograma do extrato de macela _a obtido na condição de 300 bar, 30 °C (CPQBA13).	140
Figura 8. 42Cromatograma do extrato de macela _a obtido na condição de 100 bar, 40 °C (CPQBA02).	140
Figura 8. 43 Cromatograma do extrato de macela _a obtido na condição de 200 bar, 40 °C (CPQBA05).	141
Figura 8. 44. Cromatograma do extrato de macela _a obtido na condição de 300 bar, 40 °C (CPQBA07).	141
Figura 8. 45 Cromatograma do extrato de macela _s obtido na condição de 100 bar, 30 °C (CPQBA15).	142

Figura 8. 46. Cromatograma do extrato de macela _s obtido na condição de 200 bar, 30 °C (CPQBA17).	142
Figura 8. 47 Cromatograma do extrato de macela _s obtido na condição de 300 bar, 30 °C (CPQBA20).	143
Figura 8. 48. Cromatograma do extrato de macela _s obtido na condição de 100 bar, 40 °C (CPQBA21).	143
Figura 8. 49 Cromatograma do extrato de macela _s obtido na condição de 200 bar, 40 °C (CPQBA24).	144
Figura 8. 50 Cromatograma do extrato de macela _s obtido na condição de 300 bar, 40 °C (CPQBA25).	144
Figura 8. 51 Macela _s após corte manual com tesoura.....	154
Figura 8. 52 Analisador de umidade com aplicador de microondas.....	154
Figura 8. 53 Unidade de Extração Supercrítica semi-contínua.....	155
Figura 8. 54 Unidade de Extração Supercrítica semi-contínua (Spe-ed).....	156
Figura 8. 55 Células de extração (Thar Designs, Pittsburg, PA, Estados Unidos) de 3, 5 e 300 mL.	156
Figura 8. 56 Hidrodestilador usado para obtenção de óleo volátil de manjerição.	157
Figura 8. 57 Microhidrodestilador usado para extração de óleo volátil de macela.	157

LISTA DE TABELAS

Tabela 2. 1 Aplicações do fluido supercrítico (Perrut, 2000; Brunner, 1994; Rizvi, 1994).	13
Tabela 3. 1 Conteúdo de nutrientes na solução nutritiva (tratamentos).....	30
Tabela 4. 1 Temperatura da válvula micrométrica e vazão mássica do dióxido de carbono na corrente de saída do extrator, com pressão de extração de 250 bar.	50
Tabela 4. 2 Massa pontual (kg) do extrato de manjerição (em base seca – b.s.) obtido por SFE a 300 bar, 30° C e 20% (m/m) do co-solvente água.	54
Tabela 4. 3 Compostos identificados por CG-EM ⁴ no óleo volátil de manjerição obtido por HD.	59
Tabela 4. 4 Compostos identificados por CG-EM ^{4.7 e 4.} na fração oleosa dos extratos obtidos por SFE a 150 bar, 50° C e 1% do co-solvente água.	60
Tabela 4. 5 Composição (em % de área) ⁴ da fração oleosa dos extratos de manjerição obtidos por SFE a 100, 150, 200, 250 e 300 bar, 30 e 50° C e 1% (m/m) de água como co-solvente.	63
Tabela 4. 6 Atividade antioxidante (%) dos extratos de manjerição em função da pressão de extração, temperatura de extração e porcentagem de co-solvente água (m/m).	66
Tabela 4. 7 Atividade antioxidante dos extratos de manjerição em função da pressão de extração, porcentagem de co-solvente água (m/m) e tempo de extração.	68
Tabela 4. 8 Isoterma de rendimento global (% , m/m, base seca – b.s.) para os sistemas macela _a + CO ₂ e macela _s + CO ₂ , a vazão do solvente foi de 7×10^{-5} kg/s.	72
Tabela 4. 9 Compostos detectados por CG-EM ⁴ dos extratos de macela _a obtidos por HD e LPSE.	75
Tabela 4. 10 Compostos detectados por CG-EM ^{4.9} dos extratos de macela _s obtidos por HD e LPEE.	76
Tabela 4. 11 Teor (% em area) dos compostos trans-cariofileno e alfa-humuleno detectados por CG-DIC presentes nos extratos obtidos por SFE, HD e LPSE da macela _a (Aa) e macela _s (As).	78
Tabela 4. 12 Atividade antioxidante (%) dos extratos de macela _a (Aa) e macela _s (As) obtidos por HD, LPSE e SFE.	80
Tabela 8. 1 Código dos experimentos de extração do manjerição, <i>A. alata</i> (macela _a) e <i>A. satureioides</i> (macela _s).	106
Tabela 8. 2 Experimento de extração de manjerição (EX09) realizada a 100 bar, 30 °C, 20% de co-solvente água, vazão de $6,35 \times 10^{-5}$ kg/s com massa inicial de matéria-prima de $3,03 \times 10^{-3}$ kg, $X_o = 21,4 \pm 0,2^8$ % (b.s.).	108
Tabela 8. 3 Experimento de extração de manjerição (EX11) realizada a 150 bar, 30 °C, 20% de co-solvente água, vazão de $5,82 \times 10^{-5}$ kg/s com massa inicial de matéria-prima de $3,01 \times 10^{-3}$ kg (b.u), $X_o = 17,9 \pm 0,2$ % (b.s.).	109

Tabela 8. 4 Experimento de extração de manjerição (EX12) realizada a 150 bar, 30 °C, 20% de co-solvente água, vazão de $5,85 \times 10^{-5}$ kg/s com massa inicial de matéria-prima de $3,01 \times 10^{-3}$ kg (b.u.), $X_o = 15,1 \pm 0,1\%$	110
Tabela 8. 5 Experimento de extração de manjerição (EX13) realizada a 200 bar, 30 °C, 20% de co-solvente água, vazão de $5,58 \times 10^{-5}$ kg/s com massa inicial de matéria-prima de $3,00 \times 10^{-3}$ kg (b.u.), $X_o = 11,9 \pm 0,1\%$ (b.s.).	111
Tabela 8. 6 Experimento de extração de manjerição (EX15) realizada a 200 bar, 30 °C, 20% de co-solvente água, vazão de $5,63 \times 10^{-5}$ kg/s com massa inicial de matéria-prima de $3,03 \times 10^{-3}$ kg (b.u.), $X_o = 15,1 \pm 0,1\%$ (b.s.).	112
Tabela 8. 7 Experimento de extração de manjerição (EX17) realizada a 250 bar, 30 °C, 20% de co-solvente água, vazão de $5,87 \times 10^{-5}$ kg/s com massa inicial de matéria-prima de $3,00 \times 10^{-3}$ kg (b.u.), $X_o = 20,7 \pm 0,2\%$	113
Tabela 8. 8 Experimento de extração de manjerição (EX18) realizada a 300 bar, 30 °C, 20% de co-solvente água, vazão de $5,77 \times 10^{-5}$ kg/s com massa inicial de matéria-prima de $3,00 \times 10^{-3}$ kg (b.u.), $X_o = 24,2 \pm 0,2\%$	114
Tabela 8. 9 Experimento de extração de manjerição (EX19) realizada a 300 bar, 30 °C, 20% de co-solvente água, vazão de $5,30 \times 10^{-5}$ kg/s com massa inicial de matéria-prima de $3,03 \times 10^{-3}$ kg (b.u.), $X_o = 23,0 \pm 0,2\%$ (b.s.).	115
Tabela 8. 10 Experimento de extração de manjerição (EX20) realizada a 100 bar, 30 °C, 10% de co-solvente água, vazão de $6,76 \times 10^{-5}$ kg/s com massa inicial de matéria-prima de $2,99 \times 10^{-3}$ kg (b.u.), $X_o = 10,8 \pm 0,1\%$ (b.s.).	116
Tabela 8. 11 Experimento de extração de manjerição (EX22) realizada a 150 bar, 30 °C, 10% de co-solvente água, vazão de 6,58 kg/s com massa inicial de matéria-prima de $3,00 \times 10^{-3}$ kg (b.u.). $X_o = 9,2 \pm 0,2\%$ (b.s.).	117
Tabela 8. 12 Experimento de extração de manjerição (EX23) realizada a 150 bar, 30 °C, 10% de co-solvente água, vazão de $6,80 \times 10^{-5}$ kg/s com massa inicial de matéria-prima de $3,01 \times 10^{-3}$ kg (b.u.), $X_o = 12,2 \pm 0,2\%$ (b.s.).	118
Tabela 8. 13 Experimento de extração de manjerição (EX25) realizada a 200 bar, 30 °C, 10% de co-solvente água, vazão de $6,20 \times 10^{-5}$ kg/s com massa inicial de matéria-prima de $2,98 \times 10^{-3}$ kg (b.u.), $X_o = 8,0 \pm 0,1\%$ (b.s.).	119
Tabela 8. 14 Experimento de extração de manjerição (EX26) realizada a 250 bar, 30 °C, 10% de co-solvente água, vazão de $4,47 \times 10^{-5}$ kg/s com massa inicial de matéria-prima de $3,03 \times 10^{-3}$ kg (b.u.), $X_o = 9,3 \pm 0,1\%$ (b.s.).	120
Tabela 8. 15 Experimento de extração de manjerição (EX27) realizada a 250 bar, 30 °C, 10% de co-solvente água, vazão de $5,47 \times 10^{-5}$ kg/s com massa inicial de matéria-prima de $3,00 \times 10^{-3}$ kg (b.u.), $X_o = 9,2 \pm 0,1\%$ (b.s.).	121
Tabela 8. 16 Experimento de extração de manjerição (EX28) realizada a 300 bar, 30 °C, 10% de co-solvente água, vazão de $5,98 \times 10^{-5}$ kg/s com massa inicial de matéria-prima de $3,03 \times 10^{-3}$ kg (b.u.), $X_o = 9,0 \pm 0,1\%$ (b.s.).	122
Tabela 8. 17 Experimento de extração de manjerição (EX29) realizada a 300 bar, 30 °C, 10% de co-solvente água, vazão de $5,95 \times 10^{-5}$ kg/s com massa inicial de matéria-prima de $3,04 \times 10^{-3}$ kg (b.u.), $X_o = 9,8 \pm 0,1\%$ (b.s.).	123

Tabela 8. 18 Experimento de extração de manjerição (EX31) realizada a 100 bar, 30 °C, 5% de co-solvente água, vazão de $7,59 \times 10^{-5}$ kg/s com massa inicial de matéria-prima de $3,02 \times 10^{-3}$ kg (b.u.), $X_o = 3,2 \pm 0,1\%$ (b.s.).	124
Tabela 8. 19 Experimento de extração de manjerição (EX33) realizada a 150 bar, 30 °C, 5% de co-solvente água, vazão de $7,15 \times 10^{-5}$ kg/s com massa inicial de matéria-prima de $3,03 \times 10^{-3}$ kg, $X_o = 2,4 \pm 0,1\%$.	125
Tabela 8. 20 Experimentos de extração de manjerição realizada com 1% de co-solvente água e vazão de 8×10^{-5} kg/s e massa inicial (base úmida – b.u.) de matéria-prima de $2,50 \times 10^{-3}$ kg.	126
Tabela 8. 21 Experimento de extração de Macela _a (<i>Achyrocline alata</i>) realizada com dióxido de carbono e vazão de 7×10^{-5} kg/s.	127
Tabela 8. 22 Experimento de extração de Macela _s (<i>Achyrocline satureioides</i>) realizada com dióxido de carbono e vazão de 7×10^{-5} kg/s.	127

NOMENCLATURA/ABREVIATÖES

ϵ : porosidade

AA: atividade antioxidante

b.s.: base seca

b.u.: base úmida

CG-DIC: cromatografia gasosa acoplado a detector de ionização de chamas

da: densidade aparente

dr: densidade real

ESC: extração supercrítica

FO: fase oleosa

GC-FID: gas chromatography with flame ignition detector

HD: hidrodestilação

IR: índice de retenção

LPSE: low pressure solvent extraction (extração com solvente à baixa pressão)

m/m: massa por massa

MP: material-prima

P: pressão

SFE: supercritical fluid extraction

T: temperatura

t_r : tempo de retenção

v/v: volume por volume

Xo: rendimento global de extração

1. INTRODUÇÃO

1.1 Introdução Geral

O interesse por produtos naturais com propriedades funcionais, nutracêuticos e suplementos alimentares se deve à necessidade de obtenção de produtos benéficos à saúde que possam ser incorporados à dieta visando minimizar os riscos de incidência de doenças crônicas^{1.1}. Antioxidantes naturais têm sido foco de interesse para a conservação de alimentos, tendo em vista a substituição de aditivos sintéticos como butil hidroxi anisol (BHA - *Butylated hydroxyanisole*), butil hidroquinona terciária (TBHQ – *Tertiary butylhydroquinone*) e butil hidroxi-tolueno (BHT - *Butylated hydroxytoluene*) já que o uso destes tem sido severamente restrito na indústria de alimentos, devido aos efeitos colaterais como alergia e possíveis ações promotoras de câncer (do BHT) como têm sido constatadas em estudos com animais de laboratório (Rizvi, 1994).

Uma tecnologia adequada para a obtenção de produtos naturais é a que utiliza fluido supercrítico para a extração dos compostos ativos das matrizes vegetais. A extração supercrítica possibilita a obtenção de produtos com propriedades funcionais interessantes para a indústria de alimentos, farmacêutica e de cosméticos, sendo uma tecnologia que não agride o meio ambiente fazendo parte das consideradas “indústrias verdes”, sendo que o único resíduo gerado é o resíduo sólido das matrizes vegetais. O resíduo sólido das matrizes

^{1.1} Alimentos ou ingredientes que além de exercerem funções nutricionais básicas, promovem algum efeito benéfico à saúde e/ou reduzem os riscos da incidência de doenças crônicas são classificados como *Alimentos Funcionais* segundo a ANVISA, Resolução nº 18 e 19 de 30 de abril de 1998.

vegetais pode ser utilizado como subproduto na indústria de alimentos como por exemplo fonte de amido (bagaço de gengibre e cúrcuma), na indústria química como fonte de ácido graxo (funcho), etc. A extração supercrítica possibilita além da obtenção de óleo volátil (obtido tradicionalmente por destilação por arraste a vapor), a extração de outros compostos de interesse (obtidos tradicionalmente com solventes orgânicos). A extração supercrítica (ESC) ainda possui a vantagem frente à destilação por arraste a vapor quando se trata de compostos termo degradáveis, pois a ESC permite a extração à temperaturas de processo amenas e, frente à extração com solvente orgânico porque existe grande dificuldade para remoção total do solvente o que em certos casos pode alterar as características de sabor e odor dos extratos.

A utilização da água pressurizada como co-solvente de extração e dióxido de carbono como solvente majoritário, permite a extração de compostos de ampla faixa de polaridade. As condições de operação tais como pressão e temperatura, permitem a variação da constante dielétrica da água, tornando-a um solvente de variada polaridade, com a vantagem de ser não tóxico, não inflamável e não poluente. Devido às propriedades da água pressurizada, esta vem sendo aplicada para recuperação de solo, reações de hidrólise e outras.

Este trabalho visou estudar o processo de extração supercrítica com/sem o co-solvente H₂O de compostos do *Ocimum basilicum* (manjeriço), *Achyrocline alata* e *Achyrocline satureioides* (macela), extratos ou compostos que futuramente poderão ser adicionados em alimentos para fins especiais incluindo alimentos para grupos

populacionais específicos como por exemplo, hipertensos, hipercolesterolêmicos, hiperglicêmicos ou outros grupos populacionais de interesse.

1.2 Objetivo Geral

Avaliar os processos de extração de compostos ativos por tecnologia supercrítica utilizando CO₂ com/sem co-solvente H₂O em relação ao rendimento global, composição química dos extratos e atividade antioxidante dos mesmos. Comparação dos extratos obtidos via ESC com os obtidos por hidrodestilação e/ou extração com solvente.

1.2.1 Objetivos Específicos

- Determinar as isotermas de rendimento global (IRG) das plantas selecionadas;
- Determinar a composição química dos extratos;
- Determinar a atividade antioxidante dos extratos;

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Produtos Naturais, Alimentos Funcionais e Suplementos Alimentares

O Brasil inclui-se entre os países de maior biodiversidade mundial, abrigando cerca de 50 mil espécies de plantas superiores distribuídas em grandes biomassas (Amazônia, Mata Atlântica, Cerrado, Caatinga e Floresta Subtropical), sendo, portanto um forte candidato a extração de matrizes vegetais com atividade biológica (Vieira *et al*, 2002). São inúmeras as atividades funcionais e farmacológicas atribuídas aos extratos brutos, óleos voláteis e princípios ativos de plantas nativas e/ou adaptáveis ao cultivo brasileiro como antioxidante, anti-tumoral, hipoglicêmica, anti-HIV, bactericida, anti-diarréia, hipocolesterolêmica, anti-malária, bactericida, entre outras (Aguiyi *et al*, 2000; Ayisi & Nyadedzor, 2003; Chun *et al*, 1999; Leal *et al*, 2003a; Leal *et al*, 2003b; Liu *et al*, 2004; Nishimoto *et al*, 1984; Nakatani *et al*, 1994; Ness & Powles, 1997; Offiah *et al*, 1999; Pereira *et al*, 2003). É possível observar o interesse do mercado pelos produtos naturais: os suplementos alimentares (*Dietary Supplements*), formulados com extratos provenientes de plantas, movimentam US\$ 5,1 bilhões anuais nos Estados Unidos, sendo que 30% dos americanos adultos utilizam estes produtos; os fitoterápicos movimentam cerca de US\$ 260 milhões/ano no Brasil e na Europa o mercado atual é de US\$ 6 bilhões, sendo US\$ 2 bilhões na Alemanha, onde 80% dos médicos prescrevem fitoterápicos regularmente e 84% deles são vendidos nas farmácias (Vieira *et al*, 2002).

O mesmo interesse é observado com os alimentos considerados funcionais pelos benefícios promovidos à saúde, pois estes alimentos além de exercerem funções nutricionais básicas, promovem algum efeito benéfico à saúde e/ou reduzem os riscos da incidência de doenças crônicas (ANVISA: Resolução nº 18 e 19 de 30 de abril de 1998). Além dos alimentos funcionais, ingredientes têm sido incorporados à formulação de alimentos industrializados, compostos ativos benéficos à saúde e que são destinados a grupos populacionais específicos (ANVISA: Portaria nº 29, de 13 de janeiro de 1998).

Diante deste quadro, a busca por tecnologias que permitam a obtenção de produtos naturais e/ou compostos ativos torna-se de grande importância para que o Brasil deixe a posição de país detentor de uma flora cobiçada e fornecedor de matéria-prima, e passe a oferecer produtos funcionais ou suplementos de alta qualidade e com alto valor agregado.

2.2 Antioxidantes

Os antioxidantes são compostos que agem como inibidores da formação de radicais livres, interferindo no mecanismo fundamental da oxidação (Sherwin, 1972), aumentando a vida útil de uma grande variedade de alimentos. Os antioxidantes atuam sobre a formação de $^1\text{O}_2$, atuam de maneira competitiva com os radicais livres dos lipídios ou atuam sobre os peróxidos decompondo-os (promotores da oxidação), bloqueando em ambos os casos a reação oxidativa em cadeia (Bobbio & Bobbio, 2001). As reações oxidativas afetam as

características organolépticas e diminuem o valor nutricional dos alimentos além de serem responsáveis pelo aparecimento de compostos tóxicos (Nawar, 1985 e Sherwin, 1978 citados por Almeida Doria & Regitano D'Arce, 2000). Ainda que a inibição completa da rancificação não tenha sido obtida até o momento, é possível retardar essa transformação por longos períodos, de modo a permitir o consumo de lipídios ou de alimentos que os contém mesmo após o seu armazenamento por muitos meses (Bobbio & Bobbio, 2001). O uso de antioxidantes sintéticos tem sido severamente restrito pela indústria de alimentos devido aos efeitos colaterais como alergia e possíveis ações promotoras de câncer (do BHT) como têm sido constatadas em estudos com animais de laboratório (Rizvi, 1994).

2.3 Fluido supercrítico

Uma substância está em estado supercrítico quando sua temperatura e pressão são superiores à seus valores críticos. O ponto crítico (PC) de cada substância é caracterizado por sua temperatura crítica (T_c), pressão crítica (P_c) e volume crítico (V_c) correspondente; abaixo do ponto crítico a substância pode existir como um líquido ou um vapor. Acima deste ponto crítico existe a região supercrítica, sendo que as variações das propriedades termodinâmicas nesta região podem ser intensas, causando diferentes efeitos em solutos e reagentes (Sandler, 1989). A Figura 2.1 mostra o diagrama de fases de uma substância pura (eugenol) em função da pressão e volume específico. Em temperaturas inferiores à temperatura crítica ($T_r < 1$)^{2.2} existem regiões em que a substância está líquida com baixo volume específico, ou seja, região em que os compostos têm maior densidade, outra região

^{2.2} $T_r = T/T_c$

em que o volume específico da substância é maior e com densidade menor, encontrando-se na fase vapor. Abaixo da T_c , o composto ainda pode estar na região de duas fases como mostrado na Figura 2.1. Muito abaixo da temperatura crítica ($T_r \ll 1$) existe a fase gasosa onde a variação da densidade é linear com a pressão, como sugerido pela equação dos gases ideais, no entanto aproximando-se do ponto crítico, observa-se o aumento na taxa de variação da densidade com a pressão, ocorrendo um desvio do comportamento do gás ideal, obtendo-se uma compressibilidade infinita da substância no ponto crítico. Na região em que $T_r \geq 1$ é possível formar uma única fase fluida com a densidade de um líquido e compressibilidade de um gás, reunindo características favoráveis do líquido e do gás (Brunner, 1994). Na região situada logo acima do ponto crítico, com valores de T_r compreendidos entre 1,0 e 1,6, pequenas oscilações na pressão e/ou temperatura acarretam grandes variações de densidade, no entanto o mesmo não ocorre com valores de T_r superiores a 1,6, uma vez que a influência desta região é menor, portanto, para se obter mudanças significativas na densidade, necessita-se de valores elevados de pressão (Boot, 1982 e Ferrua, 1993 citados por Zancan, 2001). A Figura 2.2 mostra o diagrama de fases de uma substância pura em função da temperatura, pressão e volume específico. Efeitos (sobre o soluto e solvente) similares ao estado supercrítico podem ocorrer, em alguns casos, próximos às temperaturas críticas no estado líquido das substâncias, ou seja, $P > P_c$ e $T < T_c$ (Brunner, 1994). Próximo do ponto crítico, as propriedades físico-químicas mudam drasticamente e as fases vapor e líquida tornam-se indistinguíveis (Kronholm *et al*, 2002).

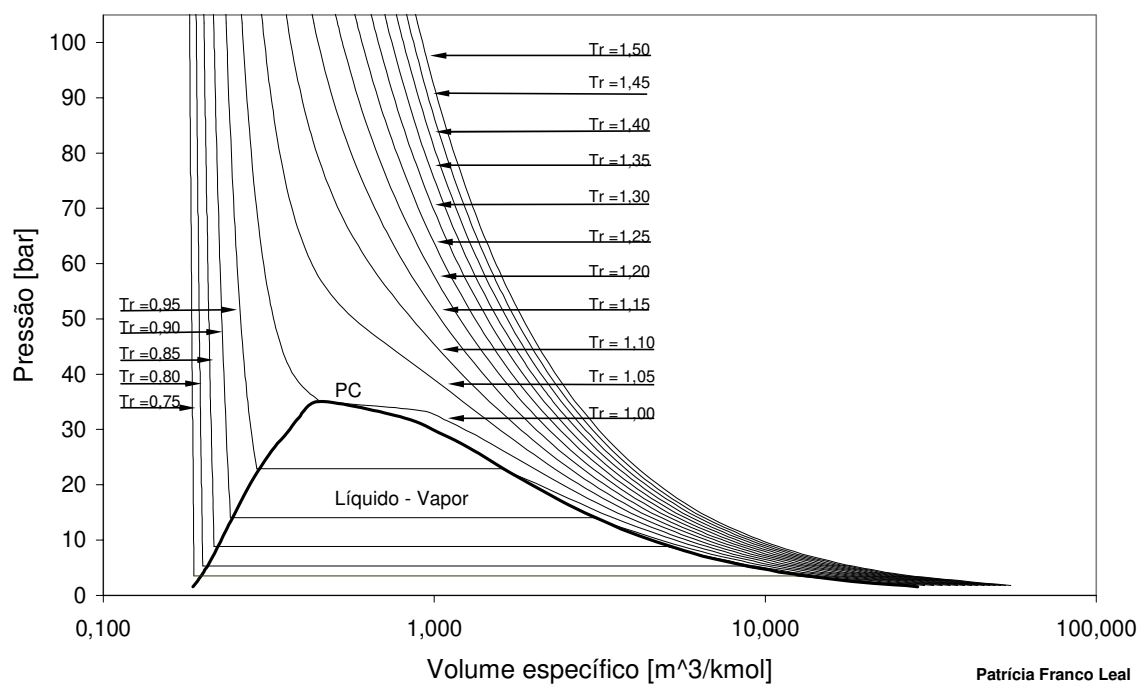


Figura 2. 1 Diagrama de equilíbrio para uma substância pura (eugenol) obtido através do software PR1 de Sandler (1989) a partir de propriedades críticas obtidas pelo software Termofis (Leal *et al*, 2002).

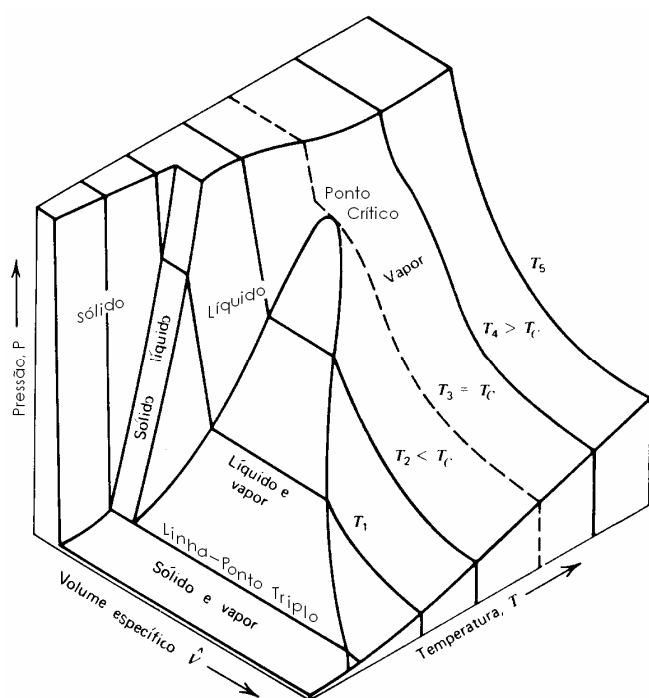


Figura 2. 2 Diagrama de equilíbrio para uma substância pura (adaptado de Sandler, 1989).

2.4 Extração Supercrítica

Pasquel-Ruiz (1999) apresentou uma breve retrospectiva da história dos processos com fluidos pressurizados iniciando em 1822, ano em que foi observado visualmente o ponto crítico de uma substância, em 1869 foram descritas as propriedades críticas do CO_2 e o equipamento usado para medi-las (obtendo valores muito próximos aos aceitos atualmente). Em 1879 foi mostrada, pela primeira vez, a capacidade de um fluido supercrítico dissolver sólidos de pressões de vapor baixas e também a dependência da solubilidade dos solutos com a pressão dos fluidos supercríticos. Pasquel-Ruiz (1999) descreve o rápido avanço desta tecnologia nos anos 70 e 80, tornando esta técnica difundida, conquistando posições expressivas em diversos setores especialmente na indústria de alimentos como, por exemplo, a descafeinização do café (patente em 1986), chá e extração de sólidos solúveis do lúpulo para indústrias de cerveja (Brunner, 1994).

Existem em operação, plantas industriais de ESC ou SFE^{2,3} de capacidade média, construídas na Itália e na França para extração e fracionamento com fluido supercrítico, para processamento de ingredientes de alimentos, princípios ativos farmacêuticos e cosméticos (Perrut, 2000).

No processo de extração supercrítica em matrizes sólidas, o fluido supercrítico escoar através do leito fixo (de partículas sólidas) e solubiliza os compostos existentes na matriz sólida, sendo o solvente alimentado no extrator e distribuído uniformemente no interior do leito fixo. Durante a extração, a matriz sólida absorve o solvente supercrítico, dilatando a estrutura da célula, promovendo uma diminuição na resistência à transferência de massa e os compostos extraíveis são dissolvidos pelo solvente e transferidos por difusão para a superfície externa, em seguida transportados pelo fluido, podendo neste local, ocorrer mudanças de estado de agregação, em seguida removidos do extrator pelo escoamento do solvente. (Brunner, 1994).

A tecnologia supercrítica explora as altas densidades (próximas às do líquido) apresentadas pelos fluidos supercríticos, associadas a valores intermediários de difusividade (entre gases e líquidos) e viscosidades baixas (características dos gases). Estas propriedades favorecem altas taxas de extração devido ao grande poder de solvatação atribuído aos valores de densidades maiores, ao mesmo tempo que, valores baixos de viscosidade associados a altos valores de difusividade propiciam alto poder de penetração na matriz sólida (Muller, 1999 e Rodrigues, 1996 citados por Yoda, 2001).

^{2,3} ESC = Extração supercrítica e em inglês, SFE = *Supercritical Fluid Extraction*

A extração com fluidos supercríticos promove altas taxas de transferência de massa, em temperaturas relativamente baixas, qualidade fundamental para a escolha desta técnica de extração para produtos naturais (óleos essenciais, oleoresinas, corantes e outros princípios ativos, etc.) onde a qualidade do produto final é de grande importância (Kiran & Brennecke, 1993).

A tecnologia de extração supercrítica apresenta vantagens quando comparada às extrações convencionais com solventes orgânicos relacionadas às questões de regulamentações (solventes têm sido banido por vários países, concentração residual extremamente reduzidas são exigidas nos produtos alimentícios, proteção ambiental)^{2,4} além da tecnologia supercrítica estar associada à qualidade diferenciada do produto final (produtos de alto valor como suplementos alimentares, nutracêuticos, caracterizados como “naturais” pelo modo de preparação) (Perrut, 2000). A tecnologia supercrítica tem sido associada a produtos inovadores como “novos” ingredientes alimentares que não são comparáveis aos obtidos por extração convencional com solvente ou por destilação (Perrut, 2000). Na Tabela 2.1, estão algumas aplicações do fluido supercrítico.

^{2,4} Lista de solventes permitidos com restrições para alimentos e o nível máximo permitido no produto final pode ser encontrado no “Extraction Solvent in Foods (Amendment) Regulations. 1998 No 2257, ISBN 0 11 079579 2”

Tabela 2. 1 Aplicações do fluido supercrítico (Perrut, 2000; Brunner, 1994; Rizvi, 1994).

Aplicações	
Ingredientes de alimentos	extraídos ou refinados por processo com fluido supercrítico: corantes (desodorização de corantes); preservação de antioxidantes (p. e. desodorização de extrato de alecrim), agentes de textura (purificação da lecitina) e produtos de baixo teor de gordura
Flavour/fragrância	extraído com dióxido de carbono supercrítico permite alta qualidade organoléptica, ausência de qualquer resíduo de solvente orgânico (como paprika, gengibre, aroma de rum, cognac, whiskey, etc.).
Nutracêuticos	podem ser extraídos de várias fontes naturais
Farmacêuticos e Cosméticos	obtenção de princípios ativos

“Os extratos naturais são competitivos (em relação aos sintéticos) porque eles são elaborados utilizando fontes naturais, além de eles possuírem qualidades sensoriais originais. Ao comparar os processos de obtenção dos extratos naturais, devem ser levadas em consideração as propriedades funcionais e a qualidade dos extratos obtidos por diferentes tecnologias de extração. A extração supercrítica certamente apresenta custo de investimento desfavorável frente às outras tecnologias como hidrodestilação (obtenção de óleos voláteis) ou qualquer outro processo de extração com solvente a baixa pressão (LPSE)^{2.5}, mesmo levando-se em conta o número de operações unitárias associadas que não são requeridas pela extração supercrítica (ESC) como decantação, centrifugação, retirada do solvente do extrato e do lodo de sólidos (bagaço, material exaurido) que envolve destilação, evaporação, descoloração, etc. As propriedades e a qualidade dos extratos obtidos por diferentes processos devem ser confrontadas, desse modo a ESC torna-se competitiva e um processo alternativo de extração” (Meireles, 2003).

^{2.5} LPSE = *low pressure solvent extraction*

A extração supercrítica poderia ser considerada uma operação unitária mista, por possuir características da extração com solventes orgânicos e de destilação (Meireles, 1997).

A extração supercrítica tem sido utilizada para obtenção dos mais variados produtos. Referentes ao *Laboratório de Separações Físicas (LASEFI)*, podem ser citados trabalhos como extração supercrítica de óleos voláteis e oleoresinas (Zancan, 2001; Braga, 2002; Pereira, 2002; Quispe-Condori, 2002; Carvalho Junior, 2004; Moura, 2004), óleos vegetais e vitaminas (França *et al.*, 1999; Monteiro *et al.*, 1997), glicosídeos (Pasquel-Ruiz, 1999 e Yoda, 2001), reações de hidrólise e produção de oligossacarídeos (Moreschi, 2004).

Pasquel-Ruiz (1999) extraiu glicosídeos de folhas de estêvia utilizando $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O}$ e/ou etanol como co-solventes e o maior rendimento foi obtido na condição de 120 bar e 16 °C utilizando a água como co-solvente, sendo que o extrato obtido nas melhores condições operacionais continha um maior teor de rebaudiosídeo-A que os extratos obtidos na extração convencional da estêvia, o que significou um aumento no poder adoçante e uma diminuição no sabor residual. O aumento da polaridade do solvente devido a presença da água permitiu maior solubilidade dos glicosídeos que o etanol, favorecendo o rendimento.

Segundo Yoda (2001), o rendimento de extração dos sólidos solúveis da *Stevia reubadiana* Bertoni com $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O}$ foi mais influenciado pela temperatura quando comparada a pressão do processo.

Zancan (2001) concluiu que a vazão da mistura solvente/co-solvente, pressão, tipo de co-solvente, temperatura e interação entre pressão e temperatura, afetaram o rendimento de extração de sólidos solúveis do gengibre e que os efeitos mais significantes foram temperatura e a interação entre pressão e tipo de co-solvente.

Braga (2002) observou a diferença na composição química de extratos obtidos a partir de diferentes técnicas de extração: a extração com solvente orgânico em aparelho Soxhlet extraiu a oleoresina (fração pesada do óleo) da cúrcuma, a hidrodestilação extraiu o óleo volátil (fração leve do óleo) e a ESC extraiu ambas as frações, no entanto em menor quantidade que a extração com solvente orgânico em aparelho Soxhlet. E conclui que se as duas frações forem importantes, a ESC torna-se viável. O solvente que favoreceu maior rendimento de extração dos sólidos solúveis da cúrcuma foi a mistura CO₂ (90% m/m)/etanol/isopropanol sendo que a proporção dos co-solventes etanol/isopropanol foi de 1:1.

Segundo Pereira (2002), as partes da planta, local e a época de coleta são fatores determinantes no rendimento do processo de extração de sólidos solúveis da *Tabernaemontana catharinensis*. O estudo de Pereira (2002) mostra que a condição de extração (pressão e temperatura) que promoveu um maior valor da taxa de extração para o período de velocidade constante e maior rendimento em soluto bruto não coincidiu com maior extração dos alcalóides coronaridina e voacangina (compostos de interesse). O processo intermitente utilizando o co-solvente etanol, forneceu maiores rendimentos em

soluto bruto, em coronaridina e voacangina que o processo semi-contínuo feito nas mesmas condições de temperatura e pressão e porcentagem de co-solvente (Pereira, 2002).

2.4.1. Extração com CO₂

O processo de extração supercrítica emprega como solvente, um fluido a temperatura e pressão próximas ou acima do ponto crítico. Dos vários gases e líquidos utilizados em pesquisas sobre tecnologia supercrítica, o dióxido de carbono é a escolha padrão para ESC aplicada ao processamento de produtos naturais por ser inerte e ter baixa pressão crítica (73,4 bar) e baixa temperatura crítica (31,2 °C), condições estas facilmente alcançadas (Brunner, 1994).

2.4.2 Uso de co-solventes

O uso de co-solventes na extração supercrítica muitas vezes é recomendado para algumas classes de compostos como, por exemplo, no caso da extração dos curcuminóides da *Curcuma longa* L. por ESC com etanol como co-solvente (Braga *et al*, 2003). O co-solvente pode ser utilizado em pequenas quantidades, contribuindo para aumentar a solubilidade dos compostos de interesse, sendo importante que o co-solvente envolvido seja classificado como totalmente seguro ou solvente GRAS^{2.6}, para deste modo, conservar todas as vantagens da extração supercrítica (Leal *et al*, 2003a).

^{2.6} GRAS = *generally recognized as safe*

O uso de co-solventes na extração supercrítica muitas vezes é recomendado devido a fortes interações entre soluto e co-solvente e/ou variação da densidade da fase fluida, causada pela adição de modificadores (Guan *et al*, 1998 citado por Braga *et al*, 2003).

Em geral, um co-solvente que possui temperatura crítica (T_c) inferior a do fluido supercrítico, causa diminuição na solubilidade de compostos menos voláteis, e quando a T_c do co-solvente é superior a do fluido supercrítico, causa o aumento da solubilidade de compostos menos voláteis (Brunner, 1994).

O dióxido de carbono, mesmo que a altas densidades, possui limitada habilidade de dissolver moléculas polares, característica esta que pode ser alterada pela adição de pequenas quantidades de substâncias polares, tais como água e etanol. Estes parâmetros ainda podem ser alterados pela seleção de condições específicas de temperatura e de pressão. Estas condições acrescentam flexibilidade e ainda adaptam-se às condições de extração para os requisitos específicos do extrato a ser produzido e do produto final desejado (Pellerin, 1991).

2.4.2.1 Água pressurizada

Extração com água aquecida e pressurizada é uma técnica que explora as mudanças de propriedades físico-químicas da água para a extração de sólidos e líquidos. Água aquecida pressurizada (AAP) é referenciada como água supercrítica (ASC) quando a temperatura e a pressão excedem a temperatura e pressão críticas da água ($T_c = 374^\circ\text{C}$, $P_c =$

221 bar). Extrações com boa eficiência podem ser obtidas em temperaturas inferiores à temperatura crítica da água, o que é importante do ponto de vista do custo (Kronholm *et al*, 2002).

Existem vários trabalhos que envolvem a utilização da água subcrítica principalmente para extração de poluentes orgânicos polares, moderadamente polares e apolares do solo devido às propriedades físico-químicas do solvente quando submetidos a pressurização e ao aquecimento (Kronholm *et al*, 2002). As condições de processo são drásticas (altas temperaturas) como os estudos que mostram que água e vapor ($T = 200 - 300\text{ }^{\circ}\text{C}$) têm sido usados em extrações para uma grande variedade de compostos orgânicos incluindo hidrocarbonetos poliaromáticos (HPAs), bifenil policlorados (BPCs), dibenzenofuranos policlorados (DFPCs), naftalenos e alcanos de matrizes sólidas (Hartonen *et al* 1997; Lagadec *et al*, 2000; Bavel *et al*, 1999 e Yang *et al*, 1997 citados por Kronholm, 2002) e extração de triglicerídios de grão de soja, linhaça e óleo de coco (Holliday, 1997 citado por Miller *et al*, 1998).

Estudos mostram variações interessantes na constante dielétrica da água (ligada à polaridade da mesma) com o aumento da temperatura, mantendo-se uma pressão suficiente para mantê-la líquida. Miller *et al* (1998) observaram que a constante dielétrica (ϵ) da água varia de ~ 80 a 25°C para ~ 27 a 225°C , queda esta ($\epsilon \sim 80$ para $\epsilon \sim 27$), que permite que a constante dielétrica esteja situada entre a constante dielétrica do metanol ($\epsilon = 33$) e a constante dielétrica do etanol ($\epsilon = 24$) favorecendo a solubilização de compostos de

polaridades bem distintas da água na pressão e temperatura ambientes, mostrando a eficácia da água como um fluido de extração de compostos orgânicos hidrofóbicos.

Segundo Hawthorne *et al* (1994), a constante dielétrica da água pode ser drasticamente diminuída para determinadas condições de temperatura e pressão, havendo possibilidade de extrair sequencialmente poluentes orgânicos polares, moderadamente polares e apolares do solo, aumentando-se a temperatura de extração.

Shyu *et al* (1997) estudou o equilíbrio de fases da mistura $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O}$ nas temperaturas de 5, 50, 250, 350 °C e pressões de 0 a 1000 bar cujos diagramas de equilíbrio (Figuras 2.3 e 2.4), obtidos através de modelos matemáticos que representaram muito bem os dados experimentais obtidos por Wiebe e Gaddy (1941) citado por Shyu *et al* (1997).

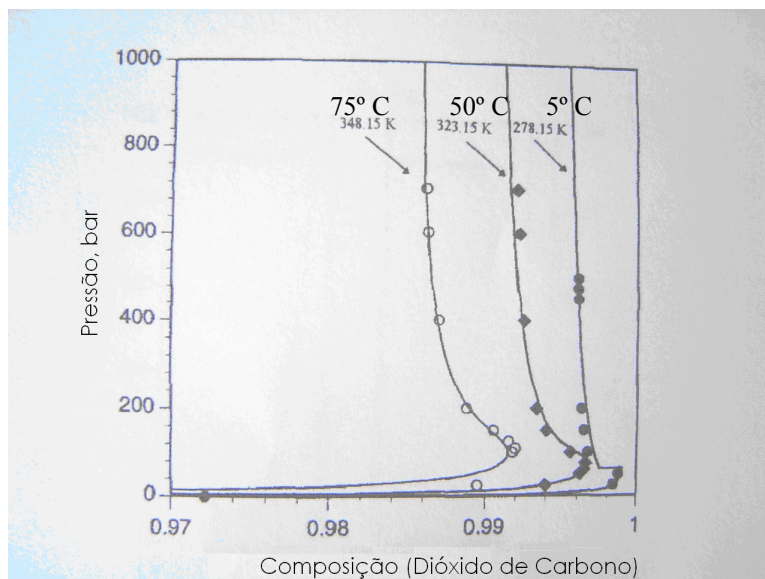


Figura 2. 3 Diagrama de fase da mistura $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O}$ de 5 a 75° C (Shyu *et al*, 1997)^{2.7}.

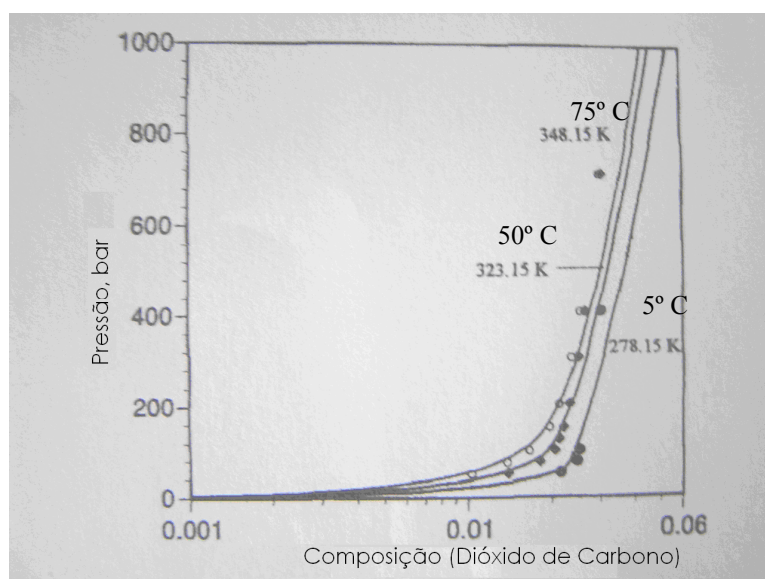


Figura 2. 4 Diagrama de fase da mistura $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O}$ de 5 a 75° C (Shyu *et al*, 1997)^{2.7}.

^{2.7} Pontos experimentais obtidos por Wiebe e Gaddy (1941) citado por Shyu *et al* (1997) e linhas contínuas são os resultados de Shyu *et al* (1997), sendo em ambas as Figuras, o eixo x: composição e y: pressão.

2.5 *Ocimum basilicum* L.(manjerição)

O. basilicum L. pertencente a família Lamiaceae,   popularmente conhecido como manjeriço, e é usado como erva culinária e como planta ornamental. Espécies da família Lamiaceae têm valor por suas propriedades farmacêuticas; por exemplo, os óleos voláteis produzidos por suas folhas são usados como antioxidantes (Harsh *et al*, 2002).

O manjeriço cont m eucaliptol, estragol 1,8-cineol, eugenol, borneol, ocimeno, geranial, anetol, beta-cariofileno, alfa-terpineol, cânfora, 3-octanona, metil eugenol, safrol, linalool metil carvacrol entre outros compostos. Na fração insaponificável cont m beta-sitosterol (CRC, 1989).

Grayer *et al* (1996) identificou flavonas agliconas no extrato de manjeriço obtido com diclorometano e as duas flavonas agliconas majoritárias foram salvigenina e nevadesina e outras 10 minoritárias.

O beta-sitosterol, um fitosterol presente no manjeriço, possui atividade hipocolesterolêmica com atividade comprovada e garantida pela Sociedade Brasileira de Cardiologia (SBC, 2004), que permite adicionar no rótulo de alimentos industrializados que possui em sua formulação este princípio ativo, o selo de aprovação da Sociedade Brasileira de Cardiologia. A doença coronária é um dos maiores problemas de saúde em muitos países, tendo como uma das causas a deposição de colesterol nas paredes das artérias

podendo levar a aterosclerose e trombose. Muitos estudos mostram que concentração elevada de colesterol LDL (lipoproteína de baixa densidade) tem grande risco à saúde. Esteróis e estanóis^{2.8} de plantas derivados de óleos vegetais têm-se mostrado efetivos em diminuir os níveis de colesterol total e LDL em humanos inibindo a absorção de colesterol pelo intestino, sendo, portanto uma nova opção terapêutica para tratar a hipercolesterolemia (Tapiero *et al*, 2003).

O cultivo de manjerição para produção de eugenol possui vantagens em relação ao cravo-da-índia (*Eugenia caryophyllata*) devido ao longo período necessário para o desenvolvimento desta árvore, enquanto as espécies do *Ocimum*, são plantas pequenas anuais ou plantas perenes (constantes) que são facilmente cultivadas em estufas ou em fazendas (Pareek *et al*, 1980; Charles *et al*, 1990 e Grayer *et al*, 1996 citados por Gang *et al*, 2001).

O eugenol é usado na preparação de acetato de eugenila, usado em perfumaria, como intermediário de síntese na indústria químico-farmacéutica, apresenta atividade biológica como analgésicos, anestésico, anti-agregante, anti-endêmico, anti-inflamatório, antioxidante, antiprostaglandina, antiséptico, anti-úlceras, câncer-preventivo, fungicida e ulcerogênico (Bayan, 1982 e Craveiro, 1981 citados por Meireles, 1999).

Segundo Gang *et al* (2001) existe dentro da espécie *O. basilicum* (*sweet basil*), aquelas que produzem majoritariamente eugenol, majoritariamente metil-carvacrol, e

^{2.8} Estanóis obtidos da hidrogenação de esteróis de plantas.

aquelas que produzem em quantidades aproximadamente iguais metil-carvacrol e metil-eugenol. Gang *et al* (2001) concluem que além das subespécies acima mencionadas, as variações nos valores absolutos na composição química dependem da idade das folhas, da idade das plantas e das condições de cultivo (fazendas, estufas, etc.).

Segundo o trabalho de Opalchenova *et al* (2003), o óleo volátil de manjerição obtido por hidrodestilação foi testado em bactérias altamente resistentes, como o *Staphylococcus*, o *Enterococcus* e a *Pseudomonas*, sendo confirmado os efeitos protetores sobre toxinfecções alimentares em MIC^{2,9} entre 0,0030% e 0,0007% (v/v).

Segundo Yamasaki *et al* (1998), muitas drogas têm sido estudadas para o tratamento da AIDS e na prevenção do mecanismo inicial da ação do vírus HIV porque as drogas atualmente usadas como AZT (ziduvudine), ddI (didanosine) e ddC (zalcitabine) causam efeitos colaterais, o vírus HIV apresenta resistência, além de serem drogas muito caras. Seus estudos mostram que os extratos aquosos de manjerição possuem atividade anti-HIV.

Extratos aquosos de manjerição têm ação sobre o sistema cardiovascular e extratos alcoólicos possuem atividade similar à atropina na redução dos efeitos do átrio direito e pressão sanguínea (Perezguitierrez *et al*, 1992).

Lee *et al* (2005) estudaram a atividade antioxidante dos compostos presentes no extrato do manjerição como eugenol, timol, carvacrol, linaol, estragol, 1,8 cineol, 4-

^{2,9} MIC = *minimum inhibition concentration*

terpeneol entre outros e concluíram que, em particular, o eugenol, timol, carvacrol exibiram potente atividade antioxidante, comparável aos antioxidantes conhecidos, BHT e α -tocoferol.

2.6 *Achyrocline alata* e *Achyrocline satureioides* (macela)

O gênero *Achyrocline* envolve espécies encontradas em países da América Latina como *Achyrocline alata* (macela_a) e *Achyrocline satureioides* (macela_s) que são muito importantes devido a presença de flavonas, flavononas e flavonóides associadas a propriedades funcionais importantes como atividades antioxidante, anti-inflamatória, anti-ulcerativa, anti-hepatotóxica, vasodilatadora, anti-viral, anti-plaquetária e efeitos no transporte iônico renal (Bohlmann *et al*, 1980; Broussalis *et al*, 1988; Broussalis *et al*, 1993; De Souza *et al*, 2002; Ferraro *et al*, 1981; Gugliucci e Menini, 2002^a; Gugliucci e Menini, 2002^b; Kadarian *et al*, 2002; Puhlmann *et al*, 1992; Rocha *et al*, 1994, Rodrigues *et al*, 2002; Ruffa *et al*, 2002; Simões *et al*, 1988).

Kadarian *et al* (2002) concluíram que o tratamento de ratos com extratos aquosos de macela_s parece preservar a integridade das células vitais. A ação contra feridas hepáticas e funções vitais por macela_s pode estar relacionada com a presença de flavonóides. Outros estudos avaliaram a atividade biológica de extratos de macela_s, tais como citotóxica contra carcinoma hepático (Ruffa *et al*, 2002), atividade antioxidante (Gugliucci e Menini, 2002^a) e redução de glicose no sangue (Gugliucci e Menini, 2002^b).

Extratos de macela_a e macela_s contém flavonas, flavononas, ácido caféico e ésteres (Bohlmann *et al*, 1980; Ferraro *et al*, 1981; Broussalis *et al*, 1988; Simões *et al*, 1988; Broussalis *et al*, 1993; De Souza *et al*, 2002); e a flavona apigenina detectada em macela_a (Broussalis *et al*, 1988). Polissacarídeos detectados no extrato de macela_s estão associados a atividade anti-inflamatória e um forte aumento da fagocitose *in vivo* (Puhlmann *et al*, 1992). Rocha *et al* (1994) concluíram que extratos de macela_s podem forçar o transporte iônico renal baseado em observações dos efeitos da reabsorção gastrointestinal.

Rodrigues *et al* (2002) determinaram a composição do óleo volátil obtido de folhas e flores de macela_a. As amostras de folhas e flores da macela_a foram colhidas das 7h às 14h, a cada hora. O rendimento em óleo volátil variou de 2,2% a 12,4% (base seca, bs). Foram detectados alfa-pineno, 1-octen-3-ol, 1,8 cineol, biciclo-germacrene, beta-cariofileno e alfa-humuleno. Os dois últimos compostos foram identificados como majoritários com teores que variaram de 12-17% e 19-25% em área respectivamente.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Matéria-Prima

3.1.1 *Ocimum basilicum* (manjeriço)

A matéria-prima *Ocimum basilicum* conhecido popularmente como manjeriço foi cultivada no Instituto Agrônomo de Campinas (IAC). As plantas foram obtidas de estacas de uma planta matriz de manjeriço proveniente da coleção de Plantas Medicinais, Aromáticas, Inseticidas e Corantes do IAC, com excisas depositadas no herbário IAC, número *voucher* 42.800.

As estacas foram colocadas para enraizar em um tanque de areia em fevereiro de 2003 e após um mês, as plantas enraizadas foram podadas e replantadas em vasos contendo quartzo moído com substrato de sustentação. Os vasos foram mantidos em um sistema de hidroponia experimental com fornecimento de solução nutritiva por irrigação em sub superfície, adaptado por Maia *et al* (1999) que contribui para uma maior frequência de irrigação, maior aeração das raízes e disponibilidade de água e nutrientes, propiciando produções mais próximas do potencial máximo da espécie. O esquema do sistema automático de fornecimento da solução nutritiva é apresentado nas Figuras 3.1 e 3.2. Na Figura 3.3 é mostrada uma foto da estufa do IAC com vasos contendo manjeriço.

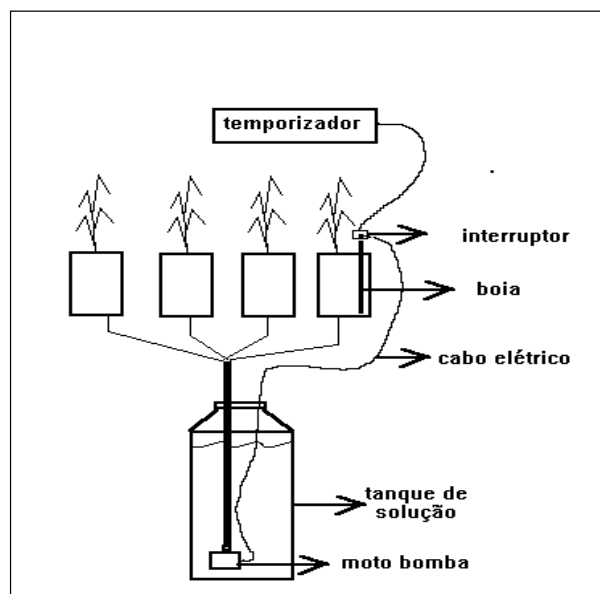


Figura 3. 1 Sistema automático de fornecimento de solução nutritiva (Maia *et al*, 1999).

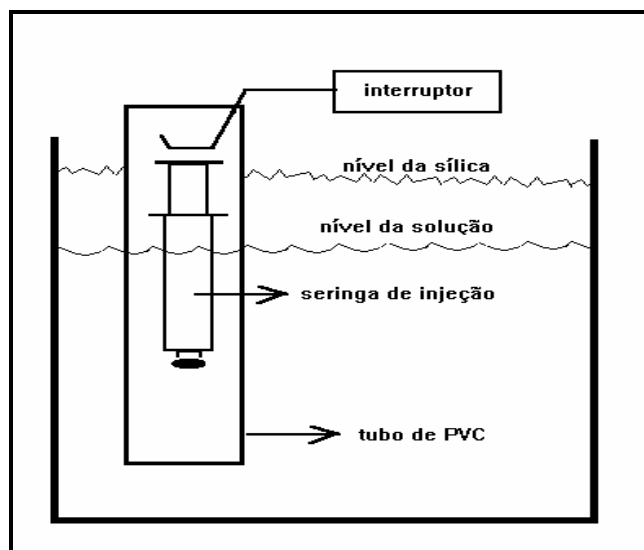


Figura 3. 2 Bóia de controle de nível da solução no vaso desenvolvido por Maia (1999).



Figura 3. 3 Fotos da estufa de cultivo de manjerição no IAC (dia 10 de julho de 2003, às 8 h, Campinas, SP).

Dois lotes foram utilizados para o desenvolvimento deste trabalho e as concentrações de nutrientes da solução de alimentação do cultivo estão apresentadas na Tabela 3.1.

O lote cultivado com solução nutritiva contendo menor teor de nitrogênio foi indicado como $\frac{1}{2}$ N e o cultivado com maior teor de nitrogênio por 2N. Para os ensaios de extração, os lotes $\frac{1}{2}$ N e 2N apresentaram biomassa de 358,6 e 723,0 g respectivamente. Os dois lotes foram misturados para se ter matéria-prima suficiente para realização dos ensaios, sendo que a mistura continha 60% (m/m) do lote 2N e 40% (m/m) do lote $\frac{1}{2}$ N.

As plantas foram colhidas após 68 dias de cultivo. A secagem da matéria-prima foi realizada no IAC em estufa com circulação de ar (FANEN) com temperatura de 45 °C até peso constante. No LASEFI o material foi mantido em sala climatizada (17°C).

Tabela 3. 1 Conteúdo de nutrientes na solução nutritiva (tratamentos).

Tratamentos	Conteúdo de nutrientes (mg/L)				
	N	P	K	Ca	Mg
$\frac{1}{2}$ N	105	31	234	200	48
2 N	420	31	234	200	48

Para treinamento na unidade extratora com co-solvente foram realizadas extrações com matéria-prima (manjeriço) fresca e seca (seis amostras de folhas frescas e duas amostras de folhas secas). Os lotes de manjeriço utilizados para treinamento e testes preliminares não são os mesmos que foram utilizados para o desenvolvimento deste trabalho, devido à pequena quantidade de material disponível para a realização do mesmo.

As amostras de manjeriço fresco foram colhidas matinalmente do dia 7 a 11 de julho de 2004 no IAC. As amostras de manjeriço seco fazem parte dos lotes colhidos entre os dias 7 e 11 de julho de 2004, que foram secadas durante 2 dias em sala climatizada (17 °C).

3.1.2 Macela

As matérias-primas *Achyrocline alata* e *Achyrocline satureioides* conhecidas como macela foram cultivadas no Campo Experimental do Centro Pluridisciplinar de Pesquisas Químicas, Biológicas e Agrícolas (CPQBA/UNICAMP) através de técnica tradicional de cultivo sob responsabilidade do Eng. Ílio Montanari Jr. A macela_a (*A. alata*) está depositada no herbário do CPQBA sob número 308 e a macela_s (*A. satureioides*) sob o número 1138. O lote obtido pertence a 6ª geração da planta. As folhas foram colhidas em 18 de setembro de 2003 às 9h da manhã.

A secagem da matéria-prima foi realizada no CPQBA/UNICAMP, Paulínia em secador com circulação forçada de ar (Fabber, modelo 170, Piracicaba, SP) a 40 °C por 24 horas. As folhas e galhos secos foram empacotados em embalagens plásticas e mantidas a -10° C em freezer doméstico (Metalfrio, HC-4, São Paulo, SP).

3.2 Moagem e Peneiragem

3.2.1 Manjeriço

As folhas secas foram moídas em moinho de facas (Tecnal, modelo TE-631, Piracicaba, SP) durante 7 segundos a 14000 rpm.

A distribuição do tamanho de partículas foi determinada utilizando peneiras da série Taylor (W.S. Tyler, EUA) com meshes 24 (7×10^{-4} m), 32 (5×10^{-4} m) e 48 (3×10^{-4} m) e colocadas em um agitador de peneiras magnético (Bertel, São Paulo, SP) por 20 minutos para separação das partículas. As massas retidas sobre as peneiras foram pesadas numa balança semi-analítica (Marte, AS2000, $\pm 0,01$ g, Alemanha) e utilizadas nos ensaios de extração na porcentagem de 40, 35 e 25% dos meshes 24, 32 e 48 respectivamente.

3.2.2 Macela

Ao chegar ao LASEFI, a matéria-prima foi acondicionada em freezer doméstico a -10 °C (Metalfrio, HC-4, São Paulo, SP). Para extração foram utilizadas as folhas e os galhos que foram cortados manualmente com tesoura (Figura 8.51, no Capítulo 8: Anexos).

3.3 Umidade

Como as quantidades de manjerição e macela eram reduzidas, não foi possível a utilização do método de Jacobs (1973) indicado para este tipo de matéria-prima. A umidade foi determinada através de analisador de umidade por microondas (CEM, Modelo Smart 5, Matthews, EUA) no Laboratório de Aplicação de Microondas ao Processamento de Alimentos (DEA/FEA-UNICAMP) utilizando aproximadamente 2g de material em cada medição. O equipamento consiste de um sistema de controle de temperatura com sensor de temperatura sensível ao calor da radiação de infravermelho, um analisador com uma

balança interna que possibilita a leitura do peso das amostras durante a aplicação do microondas e uma impressora para registro dos dados (Figura 8.52, no Capítulo 8: Anexos).

3.4 Densidade Real/Densidade aparente da matriz vegetal

A densidade real (d_r) das partículas foi determinada pela Central Analítica do Instituto de Química – UNICAMP, utilizando a técnica de picnometria em gás Hélio com auxílio de um densímetro (Micrometrics, modelo Multivolume Picnometer 1305, EUA), de uma balança analítica (Quimis, modelo QI-AS, precisão de $\pm 0,0001$ g, EUA) e de um pesa filtro.

A densidade aparente (d_a) no leito foi determinada através da Equação 3.1.

$$d_a = \frac{m}{V} \quad \text{Eq. 3-1}$$

onde: m : massa da matéria-prima seca e moída;

V : volume;

3.5 Porosidade total do leito e das partículas

A porosidade total do leito e das partículas (ϵ) foi determinada a partir da Equação 3.2.

$$\epsilon = 1 - \frac{d_a}{d_r} \quad \text{Eq. 3-2}$$

onde: d_r : densidade real;

3.6 Extração Supercrítica

3.6.1 Manjericão

O equipamento de extração a alta pressão utilizado no estudo do sistema $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O}$ + manjericão consiste em duas bombas de alta pressão de solvente (Thermo Separation Products, modelo 2000, Flórida, EUA), dois banhos termostáticos programáveis (PolyScience, modelo 9510, Niles, EUA) responsáveis pela manutenção da temperatura do extrator de aço inox e dos cabeçotes da bomba de CO_2 , um totalizador de vazão, termopares e dois manômetros (Figura 8.56 no Capítulo 8: Anexos). O extrator de leito fixo possui 0,375 m de comprimento e $2,8 \times 10^{-2}$ m de diâmetro. O diagrama da unidade extratora é mostrado na Figura 3.4. O material vegetal foi empacotado em célula de nylon mesh 80 de mesmas dimensões do extrator. O solvente utilizado foi o CO_2 (Gama gases Industriais, 99,0%, Campinas, SP).

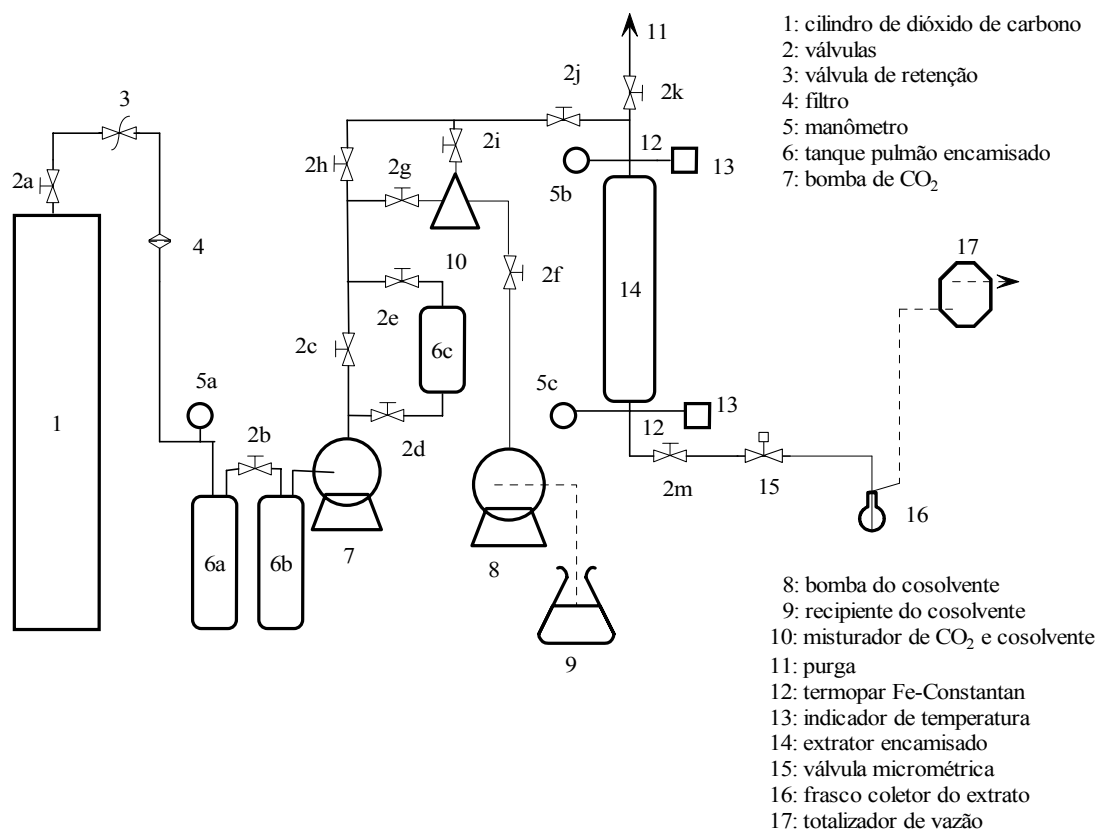


Figura 3. 4 Diagrama da unidade experimental (Pasquel-Ruiz, 1999).

3.6.1.1 Procedimento experimental

Os procedimentos de extração descritos a seguir de forma sintética, podem ser visualizados na Figura 3.4 (Pasquel –Ruiz, 1999).

A célula extratora de nylon foi empacotada com matéria-prima seca possuindo granulometria de 24, 32 e 48 mesh, empregando a mesma força para o empacotamento evitando assim caminhos preferenciais no leito, com uma massa aproximada de $2,5 \times 10^{-3}$ a $3,0 \times 10^{-3}$ kg.

Os seguintes passos foram seguidos durante a extração.

1. Abertura da válvula 2a do cilindro 1 e leitura da pressão no manômetro 5 a;
2. Controle da temperatura dos reservatórios 6a, 6b, 6c, do extrator (14) e dos cabeçotes das bombas 7 e 8;
3. Após atingir a temperatura (-10 °C), insere-se a célula de extração, no cilindro extrator (14);
4. Leitura da pressão nas bombas, que deve ser “zero”, abrem-se todas as válvulas da unidade;
5. Fecham-se as válvulas 2d, 2e, 2h, 2j, 2k e 2m da unidade;
6. Pressuriza-se a coluna extratora (14) abrindo –se a válvulas de saída 2j.
7. Atingida a pressão de trabalho (manômetro 5b), abrem-se as válvulas de saída 2m e 15;
8. Após o tempo pré-estabelecido de extração (60 minutos), as bombas são desligadas e fecha-se a válvula 2j para iniciar a despressurização do sistema;
9. Abre-se a tampa superior do extrator (14) e retira-se a célula de extração.
10. O mesmo procedimento é repetido com a célula de extração vazia para iniciar a limpeza do equipamento;
11. Desligam-se as bombas e os banhos.

A válvula micrométrica (Autoclave Engineers, 10VRM2812, Erie, EUA) envolvida por uma serpentina de aquecimento de $0,0130 \times 1,2$ m (Catel, sob encomenda, Piracicaba,

São Paulo) foi mantida a temperatura que variou de 100 a 130 °C, evitando-se o congelamento da válvula durante a expansão da mistura CO₂ + extrato + co-solvente água. Nos ensaios realizados ao se fixar a vazão do solvente e co-solvente nas bombas, o sistema foi pressurizado até a pressão desejada e então o controle desta pressão foi realizado através das válvulas de saída, distribuindo a perda de carga sobre a válvula de saída e a válvula micrométrica.

Com o sistema equilibrado termicamente e devidamente pressurizado, iniciou-se a extração sendo o extrato recolhido em frascos coletores de vidro de 50 a 250 mL. Em série com o frasco coletor existe um medidor mecânico de vazão de gás. A cada 15 minutos, o frasco coletor foi trocado até completar 60 minutos de extração. Durante a despressurização do sistema, o extrato foi coletado em separado.

O produto obtido na corrente de saída do extrator é uma mistura multicomponente formada de CO₂ + co-solvente e as diferentes substâncias que constituem o extrato.

Os frascos contendo o extrato + água foram armazenados (tampados e lacrados) em freezer doméstico (Metalfrio, HC-4, São Paulo, SP) na temperatura de aproximadamente - 10 °C.

3.6.1.2 Remoção do Co-solvente

3.6.1.2.1 Extratos obtidos com 10 e 20% de co-solvente (v/v): Liofilização

A remoção do co-solvente dos extratos de manjeriço obtidos por ESC com alto teor do co-solvente água (10 e 20% de água v/v) foi realizada pelo processo de liofilização (FTS System Ind., modelo EZ-DRY, Stone Ridge, EUA), após tentativa sem sucesso de remoção em rota-evaporador. As amostras congeladas foram colocadas nos compartimentos (mantidos a temperatura ambiente) conectados à câmara de resfriamento (-50 °C).

3.6.1.2.2 Extratos de manjeriço obtidos com 1% de co-solvente (v/v): Extração com solvente

Para a separação das fases oleosa e aquosa dos extratos de manjeriço obtidos por SFE^{3.10} usando 1% (v/v) de água destilada + CO₂ utilizou-se 3 mL de xilol (99,5% de pureza, Ecibra, lote 15492, São Paulo, SP). A mistura foi separada em duas fases: fase oleosa do extrato contendo xilol (fase superior, menos densa) e a fase aquosa do extrato contendo substâncias solúveis em água (fase inferior, mais densa). A fase oleosa foi removida da mistura utilizando seringas descartáveis de 1 mL. A fase aquosa foi congelada para que os traços de óleo volátil + xilol pudessem ser removidos com maior facilidade, uma vez que a fase rica em água permaneceu congelada e a oleosa manteve-se fluida. Depois da separação das fases, o xilol foi removido do extrato usando vácuo (Laborota,

^{3.10} SFE = *supercritical fluid extraction* = extração com fluido supercrítico

modelo 4001, Vietrieb, Alemanha) a 25 mbar e 40 °C conforme sugerido pelo manual do equipamento.

3.6.1.3 Planejamento dos experimentos

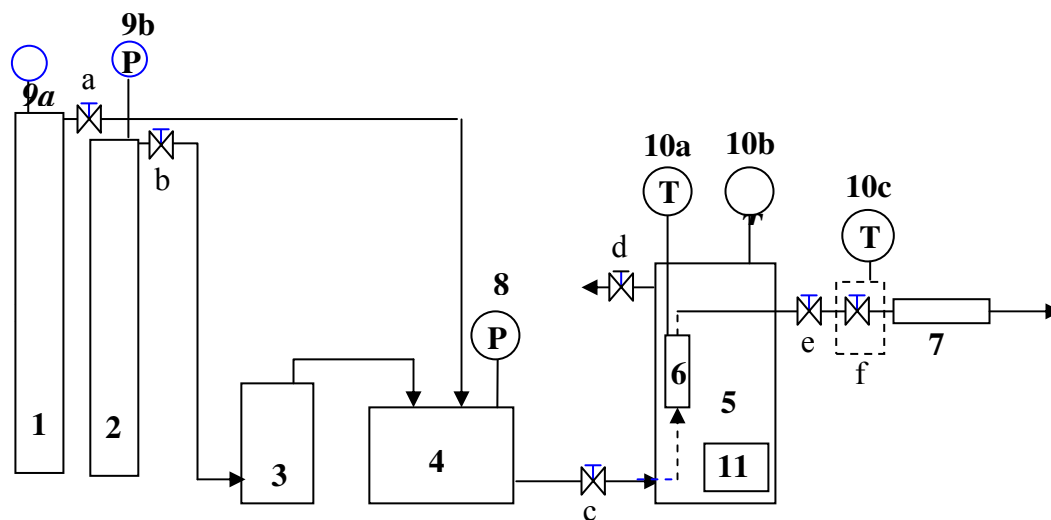
As condições de extração utilizando o sistema CO₂ + H₂O + manjeriço foram 100, 150, 200, 250 e 300 bar, 30 °C com 1, 10 e 20% de água destilada como co-solvente (v/v) e 50 °C com 10 e 20% de água destilada como co-solvente (v/v). Os ensaios foram realizados em duplicata. A mistura solvente/co-solvente em porcentagem mássica está no **Anexo 8.7**.

3.6.2 Macela

O equipamento de extração a alta pressão utilizado no estudo dos sistemas CO₂ + macela_a e CO₂ + macela_s foi o Spe-ed SFE (Applied Separations, modelo 7071, Allentown, EUA) que trabalha em pressões de até 670 bar e temperaturas de até 240 °C (Figura 8.57, no Capítulo 8: Anexos).

O sistema consiste em um reator com $5 \times 10^{-6} \text{ m}^3$ de volume útil (célula de extração intermediária mostrada na Figura 8.58 no Capítulo 8: Anexos), instalado dentro do forno de aquecimento elétrico. O CO₂ é resfriado em banho com etileno glicol e o sistema de pressurização é formado por uma bomba pneumática, onde o CO₂ (Gama Gases Industriais, 99,0%, Campinas, SP) é bombeado por nitrogênio até 70 bar. A temperatura do processo é controlada por um termopar colocado na parede externa do extrator, sendo que esta temperatura é considerada ser a mesma do interior do extrator (desprezando a resistência à troca de calor da parede do extrator, por se tratar de aço inox, material com alta

condutividade térmica). O extrato é coletado em frasco de vidro de 50 mL na pressão ambiente. O diagrama do extrator é mostrado na Figura 3.5.



- 1- Cilindro de nitrogênio
- 2- Cilindro de dióxido de carbono
- 3- Banho de resfriamento de CO₂
- 4- Booster
- 5- Forno de aquecimento
- 6- Extrator
- 7- Rotâmetro
- 8- Indicador digital de pressão
- 9- a e b, manômetros
- 10- a, b e c, termopares
- 11- indicador digital de temperatura

- Válvulas
- a- de nitrogênio
 - b- de dióxido de carbono
 - c- de entrada de CO₂ pressurizado
 - d- de alívio
 - e- de saída de CO₂ e produto
 - f- micrométrica

Figura 3. 5 Diagrama da unidade de SFE Spe-ed da Applied Separations (Moreschi, 2004).

3.6.2.1. Procedimento experimental

Os procedimentos de extração descritos a seguir de forma sintética, podem ser visualizados na Figura 3.5.

1. Certificar-se de que as válvulas *c*, *d*, *e* e *f* encontram-se fechadas;
2. Abre-se a válvula *a* do cilindro 1 e válvula *b* do cilindro 2;
3. Resfria o banho (3) até $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$;
4. Programar as temperaturas do forno (5) em 30 ou 50 $^{\circ}\text{C}$ conforme ensaio e da válvula de saída (*f*) em 80 $^{\circ}\text{C}$, controlar usando os termopares 10*a* e 10*c* e mostrado pelo indicador digital (11);
5. Insere-se a aproximadamente 3×10^{-3} kg de macela no extrator (6) com diâmetro de 2×10^{-2} m e comprimento de 2×10^{-2} m, e instala o extrator dentro do forno de aquecimento (5) ligando as linhas;
6. Pressurização do sistema através do ajuste da bomba pneumática (4) até a pressão de operação;
7. Pressuriza-se a coluna extratora (6) abrindo-se a válvula de alimentação do CO_2 (*c*);
8. Atingida a pressão de trabalho indicada pela bomba pneumática (4), aguarda-se o período estático pré-fixado de 10 minutos e abrem-se as válvulas de saída *e* e *f*;
9. O extrato é recolhido em frasco de vidro de 50 mL em banho de gelo;

10. Após o tempo pré-estabelecido de extração de 60 minutos fecha-se a válvula de alimentação de CO₂ (c), reduz-se a pressão da bomba pneumática (4) até a pressão do cilindro de CO₂ indicado pelo manômetro 9b, desliga-se a bomba pneumática, iniciando a despressurização do sistema (com duração aproximada de 1 minuto);
11. O banho termostático e o painel do forno de aquecimento podem ser desligados;
12. Fecham-se as válvulas dos cilindros a e b;
13. Para garantir a despressurização da célula de extração, abre-se a válvula d;
14. Abre-se o forno (5), retirando a célula de extração (6);

O produto obtido na corrente de saída do extrator é uma mistura multicomponente formada de CO₂ + diferentes substâncias que constituem o extrato. Os frascos coletores de vidro devem ser pesados, tampados, lacrados e armazenados em freezer doméstico (Metalfrio, HC-4, São Paulo, SP) na temperatura de aproximadamente -10° C.

3.6.2.2. Planejamento dos experimentos

As condições de extração utilizando o sistema CO₂ + macela_a e CO₂ + macela_s foram 100, 200 e 300 bar, 30 °C e a 40 °C. Os ensaios foram realizados em duplicata.

3.7 Hidrodestilação

3.7.1 Manjerição

O óleo volátil de manjerição foi obtido por hidrodestilação usando o método da A.O.A.C. número 962.17 (1984). Devido à pequena quantidade de matéria-prima disponível para o ensaio, foi usada massa de aproximadamente 4×10^{-3} kg. A matéria-prima foi inserida em balão de 1000 mL e foi acrescentado água destilada até cobrir o material vegetal (proporção 1:10). Este balão foi aquecido com manta de aquecimento permitindo a ebulição e o refluxo de água num período de 65 min, o que permitiu a obtenção de um volume constante de óleo extraído. A foto do hidrodestilador utilizado para a extração de óleo volátil de manjerição está na Figura 8.59 (no Capítulo 8: Anexos).

3.7.2 Macela

Devido à restrita quantidade de matéria-prima disponível para esta etapa do trabalho, foi utilizada uma técnica de hidrodestilação em que o óleo volátil é recuperado com solvente orgânico visando minimizar as perdas. O procedimento de hidrodestilação (HD) empregado foi descrito por Rodrigues *et al* (2002). O óleo volátil foi obtido a partir de 5×10^{-3} kg de folhas + galhos cortados usando o aparato de microhidrodestilação mostrado na Figura 8.60 (no Capítulo 8: Anexos). Foi adicionado ao sistema 150 mL de água destilada. O óleo volátil foi coletado em balão contendo 25 mL de diclorometano (Merck, pureza $\geq 99,5\%$, lote K2490045 809, Darmstadt, Alemanha). Depois de 1 hora de destilação, a fase orgânica foi separada da água (condensação do vapor de arraste dos

voláteis) e extraída com 20 mL de diclorometano. Para retirada dos traços de água, foi adicionado sulfato de sódio anidro (Synth, 99,0% pureza, lote 26072, Diadema, SP); a mistura ficou em repouso por 15 minutos e em seguida a solução foi filtrada em papel de filtro (Watman, diâmetro de 185 mm, Cat No 1442185, Intern. Ltda Maidson Englad, Inglaterra) a vácuo através de bomba (Tecnal, Modelo TE058, Piracicaba, SP). O sal Na_2SO_4 foi lavado duas vezes com 5 mL com diclorometano. A mistura com fase aquosa + fase orgânica com óleo volátil foi separada com funil de separação. A solução contendo óleo volátil + diclorometano foi concentrada em rotaevaporador (Laborota, modelo 4001, Viertrieb, Alemanha) com controlador de vácuo (Rotavac, Heidolph Instruments GMBH, Viertrieb, Alemanha) com temperatura do banho a 40 °C.

3.8 Extração a baixa pressão com etanol

A extração a baixa pressão com etanol (LPSE^{3.11}) foi realizada com as duas espécies de *Achyrocline* (macela_a e a macela_s) colocando 0,5 g de matéria-prima seca com 4 mL de etanol (Merck, pureza $\geq 99,8\%$, lote K3186583 312, Darmstadt, Alemanha) em frascos de 10 mL). Segundo o método de Pesek *et al* (1985), os frascos foram centrifugados durante 5 min a 2000 rpm (Jovan, modelo BR4i, St Herblain, França), depois mantidos em repouso por 30 min. O material foi filtrado à vácuo e o sobrenadante foi concentrado em rotaevaporador (Laborota, modelo 4001, Viertrieb, Alemanha) a 40 °C a 150 mbar.

^{3.11} LPSE = *low pressure solvent extraction*

3.9 Composição dos Extratos

3.9.1 CG-EM

Os compostos presentes no extrato de manjerição obtido por SFE (1% do co-solvente água) foram identificados através de cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (Hewlett Packard, modelo 5890 série II, Palo Alto, EUA), a amostra estava diluída em acetato de etila 5 mg/mL, sendo agitada por 30 minutos antes da injeção de 1 µL da solução, gás de arraste hélio 1 mL/min, split 1:20, temperatura do injetor 240 °C e temperatura do detector de 220 °C, aquisição de massa 40 a 600 u.m.a. Coluna capilar HP Ultra-2 com tempo de componente não retido de 2 minutos. Programação de aquecimento da coluna: 60 °C a 300 °C, 3°C/min, mantendo a 300°C por 5 minutos. A análise foi realizada na Central Analítica do Instituto de Química IQ-UNICAMP (código da análise CA068/04_II)

Os compostos do óleo volátil de manjerição obtido por HD e do extrato obtido por SFE foram identificados no Centro de Pesquisas Químicas Biológicas e Agrícolas CPQBA-UNICAMP pelo pesquisador Adilson Sartoratto. Os extratos de macela_a e macela_s obtidos por LPSE, SFE e o óleo volátil obtido por HD tiveram parte de seus compostos identificados pela Dra. Carmem Queiroga e Dra Marili Rodrigues, também no CPQBA-UNICAMP. As análises cromatográficas realizadas no CPQBA-UNICAMP foram realizadas em cromatografo gasoso acoplado a espectrometria de massas (Hewlett Packard, modelo 5980, Palo Alto, EUA), gás de arraste hélio 1 mL/min, split 1:40, injeção de 1 µL, temperatura do injetor de 220 °C e temperatura do detector de 250 °C. Coluna capilar HP-5

(30m × 0,25mm × 0,25µm). O programa de aquecimento da coluna utilizado foi: 60 °C a 240 °C com 3 °C/min. Os constituintes do óleo foram identificados por comparação de espectros de massa com os dados da literatura, com o banco de dados da biblioteca Wiley do sistema CG/EM e com o índice de retenção.

3.9.2 CG-DIC

Todos os extratos de macela_a, macela_s e a fase oleosa dos extratos de manjeriço (obtidas com 1% de co-solvente + CO₂) foram analisadas por cromatografia gasosa com detector por ionização de chamas (Shimadzu, CG 17A, Kyoto, Japão), gás de arraste hélio 1,7 mL/min (99,99%, White Martins, Brasil), split 1:20, injeção de 1 µL da amostra na diluição de 5mg/mL de extrato em acetato de etila (Merck, 99,5% de pureza, lotes K30929523 229 e K31164223 236, Darmstadt, Alemanha), temperatura do injetor e detector foram 220 °C e 240 °C, respectivamente. Coluna capilar de sílica DB-5 (30m×0,25mm×0,25µm) (J & W Scientific, Folsom, EUA). A coluna foi aquecida de 60 °C a 246 °C, 3 °C/min (programa de Kovatz do Adams, 1995). A identificação foi feita por comparação do tempo de retenção com os tempos de retenção do CG/EM.

3.10 Atividade Antioxidante

A metodologia para determinar a atividade antioxidante dos extratos foi descrita por Leal *et al* (2003^a). O substrato de reação foi preparado usando 10 mg de β -caroteno (99%, Acros, lotes 723540-7 e 40415-0010, FW 536,88, Nova Jersey, EUA), 10 mL de clorofórmio (99,0 – 99,4%, Merck, K31503045 301, 1024451000, Darmstadt, Alemanha), 60 mg de ácido linolênico (99%, Sigma – Aldrich, L2376, 06K3727, St Louis, EUA) e 200 mg de Tween 80 (99%, Sigma – Aldrich, lotes L032K0104, St. Louis, EUA). Esta solução foi concentrada em rota-evaporador (Laborota, modelo 4001, Vietrieb, Alemanha) a 50°C e depois ressuspensa com 50 mL de água destilada. A reação foi conduzida usando o seguinte procedimento: para 1 mL de substrato foram adicionados 2 mL de água destilada e 0,05 mL de extrato diluído em etanol (99,8%, Merck, K31865683 312, Darmstadt, Alemanha) na concentração de 20 mg/mL. Os extratos aquosos de manjerição obtidos por SFE com 1% de água (v/v) não foram diluídos e os obtidos por SFE com 10 e 20% de água (v/v) foram diluídos em água destilada obedecendo a concentração de 20 mg/mL. A mistura foi mantida em banho (Tecnal, TE 159, Piracicaba, SP) a 40 °C e o produto de reação foi monitorado usando espectrofotômetro (Hitachi, U-3010, Tokyo, Japão) cujas leituras foram realizadas no início da reação e depois a cada 1 hora até completar 3 horas de reação. A leitura foi realizada na absorvância de 470 nm. A atividade antioxidante foi calculada através da Equação 3-3 (Skerget *et al*, 2005).

$$AA = 100 \times \left(1 - \frac{abs_{extrato}^{t=0} - abs_{extrato}^t}{abs_{controle}^{t=0} - abs_{controle}^t} \right) \quad \text{Eq. 3-3}$$

onde : AA: atividade antioxidante;

$abs_{extrato}^{t=0}$: absorbância do extrato no início da reação ($t = 0$);

$abs_{controle}^{t=0}$: absorbância do controle no início da reação ($t=0$);

$abs_{extrato}^{t=t}$: absorbância do extrato no tempo de reação t onde $t = 1, 2$ ou 3 horas;

$abs_{controle}^{t=t}$: absorbância do controle no tempo de reação t onde $t = 1, 2$ ou 3 horas;

3.11 Cálculos

O rendimento global de extração (X_o) foi calculado em base seca tanto para os extratos liofilizados (10 e 20% de co-solvente (v/v)) quanto para as frações oleosas (1% co-solvente (v/v)) conforme Equação 3-4.

$$X_o = 100 \times \left(\frac{m_{TOTAL_DE_EXTRATO_ou_DA_FASE_OLEOSA}}{m_{MATÉRIA-PRIMA_SECA}} \right) \quad \text{Eq. 3-4}$$

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste capítulo, os resultados e discussões estão apresentados separadamente: manjerição (*O. basilicum*) e macela (*A. alata* e *A. satureioides*).

4.1 Manjerição

4.1.1 Treinamento e ensaios preliminares: manjerição

Foi realizado treinamento na unidade extratora com co-solvente, a fim de estar apta a controlar o processo de extração. Durante o treinamento foram realizadas extrações com matéria-prima^{4.12} (manjerição) fresca e seca. Foi testada a metodologia de extração com CO₂ + co-solvente utilizando seis amostras^{4.13} de manjerição fresco e duas amostras secas^{4.14}.

Estes ensaios preliminares serviram como indicativo da temperatura que a válvula micrométrica da corrente de saída do extrato + CO₂ + H₂O deveria estar para manter a pressão do sistema estável em 250 bar com temperatura de 30 °C e 20% (m/m) do co-

^{4.12} Os lotes de manjerição utilizados para treinamento e testes preliminares não são os mesmos que foram utilizados para o desenvolvimento deste trabalho, devido a pequena quantidade de material disponível para a realização do mesmo.

^{4.13} As amostras de manjerição fresco foram colhidas matinalmente do dia 7 a 11 de julho de 2004 no IAC.

^{4.14} As amostras de manjerição seco fazem parte dos lotes colhidos entre os dias 7 e 11 de julho de 2004, que foram secadas durante 2 dias em sala climatizada (17 °C).

solvente água. A temperatura da válvula micrométrica avaliada em função da matéria-prima ser fresca ou seca é mostrada na Tabela 4.1.

Tabela 4. 1 Temperatura da válvula micrométrica e vazão mássica do dióxido de carbono na corrente de saída do extrator, com pressão de extração de 250 bar.

Manjeriço	Massa de alimentação, kg	Temperatura, ° C	Vazão mássica, kg/s
Fresco	15×10^{-3}	80	$6,5 \times 10^{-5}$
Fresco	15×10^{-3}	95	$6,7 \times 10^{-5}$
Fresco	15×10^{-3}	100	$6,0 \times 10^{-5}$
Fresco	15×10^{-3}	125*	$5,5 \times 10^{-5}$
Seco	5×10^{-3}	130	$5,5 \times 10^{-5}$
Seco	3×10^{-3}	135	$4,0 \times 10^{-5}$

* Ensaio realizado em triplicata.

É possível observar que nos ensaios em que a válvula micrométrica permaneceu com temperaturas inferiores a 125 °C, a pressão do sistema apresentou maior instabilidade (variação ± 5 bar) e como consequência, para evitar o aumento da pressão de operação, houve a necessidade de aumentar a vazão da corrente de saída. As vazões obtidas durante os ensaios com 80, 95 e 100 °C (temperatura da válvula micrométrica) foram muito altas o que gerava escoamento altamente turbulento do $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O} + \text{extrato}$ dentro do frasco de coleta. Deste modo, em alguns momentos durante a extração, o co-solvente água foi arrastado para a linha de saída do CO_2 (que possui o medidor de vazão de gases). Das temperaturas testadas para a válvula micrométrica, a de 125 °C favoreceu uma extração com excelente desempenho, sendo realizados três ensaios com a mesma temperatura. A vazão média do CO_2 foi de $5,5 \times 10^{-5}$ kg/s. Avaliou-se o comportamento do material seco e a temperatura da válvula micrométrica que possibilitou maior estabilidade na pressão do sistema sendo a temperatura de 135 °C a mais adequada dentre as estudadas, obtendo-se uma vazão de 4×10^{-5} kg/s.

A remoção do co-solvente H₂O se fez necessária para a obtenção do rendimento de sólidos solúveis totais extraídos. Usualmente a remoção do solvente é realizada através do rotaevaporador como é o caso de extratos que possuem etanol, isopropanol, metanol e outros, no entanto, mesmo aumentando o vácuo (até 72 mbar) o método não foi eficiente. Deste modo foram testadas outras formas de remoção da água dos extratos como centrifugação e liofilização. A liofilização foi o único método eficiente de remoção da água dos extratos obtidos por SFE.

Durante a remoção da água por liofilização, o vácuo é extremamente elevado e, portanto existe a possibilidade de haver perdas do óleo volátil. No entanto não se pode afirmar que realmente houve a perda destes compostos voláteis, pois as condições de extração associadas a 10 e 20% de co-solvente, como serão discutidas a seguir, não têm indicações da presença significativa de compostos apolares e mais especificamente óleo volátil. A liofilização é considerada um processo caro e, portanto em muitas situações é desaconselhável sua utilização, no entanto vale enfatizar que os extratos obtidos por SFE podem permanecer com a água desde que haja armazenamento adequadamente devido à alta atividade de água (refrigeração).

4.1.2 Extração

A matéria-prima (folhas moídas de manjeriço) que compuseram o leito de extração tinha densidade real de 1600 kg/m^3 , densidade aparente (da) de 139 kg/m^3 para os ensaios de extração com 10 e 20% (m/m) de co-solvente e 135 kg/m^3 para os ensaios de extração com 1% (m/m) de co-solvente. A porosidade total do leito e das partículas (ϵ) foi de 0,94 para os ensaios de extração com 1, 10, 20% (m/m) de co-solvente.

As curvas globais de extração (OEC)^{4.15} que serão apresentadas a seguir referem-se ao rendimento dos extratos secos em função do tempo de extração (massa acumulada). São mostrados na Figura 4.1 as OEC de ensaios realizados nas pressões de 100 a 300 bar, 30° C com 10 e 20% do co-solvente água. A extração realizada com 20% de água (m/m) a 300 bar apresentou melhor rendimento seguido pelas extrações realizadas nas pressões de 250, 100 e 150 bar. É possível observar que os ensaios de extração realizados com 10% do co-solvente água (Figura 4.1) que tiveram melhores rendimentos de extração foram com as pressões de 100 bar e 150 bar (com valores próximos) e com as pressões de 250 e 300 bar.

É válido observar que os ensaios de extração realizados com a pressão de 200 bar tiveram menor rendimento tanto com 10% de água como com 20%.

Nas extrações realizadas com 10 e 20% do co-solvente água, não foi constatado visualmente turbidez no extrato o que caracterizaria uma mistura de óleo + água. Verificou-

^{4.15} OEC = *overall extraction curves*

se diferença na coloração dos extratos em relação ao tempo de extração, sendo que os extratos obtidos durante os primeiros 15 minutos de extração e a fração obtida durante a despressurização do sistema (61 – 120 min) apresentaram coloração mais intensa (Figura 4.2) que as demais. Essa diferença na coloração pode ser explicada pela alta concentração de sólidos totais no extrato, conforme mostrado na Tabela 4.2. Em todas as pressões de extração, a maior parte dos sólidos foi extraída durante os primeiros 15 minutos de extração (Tabela 4.2).

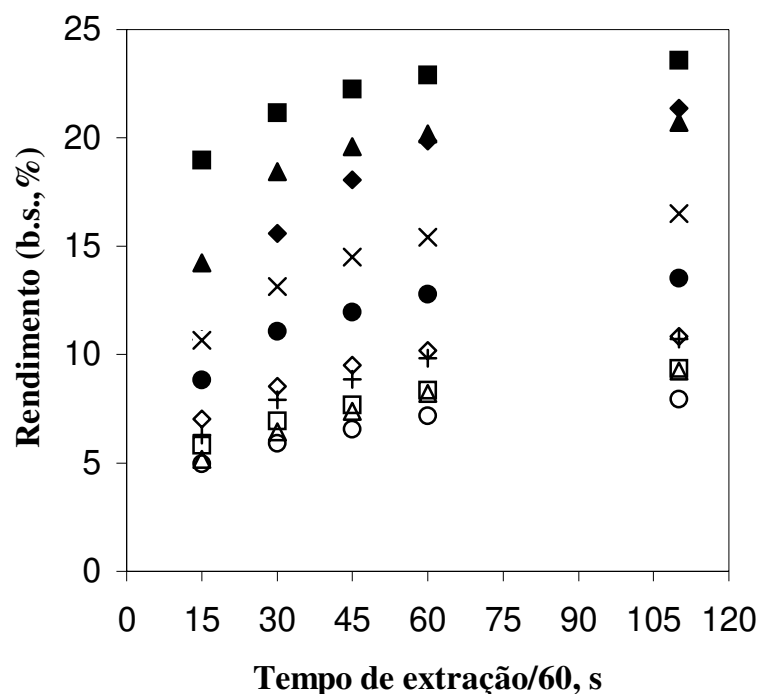


Figura 4. 1 Rendimento em extrato (base seca) obtido a 30 °C com 10% (m/m) de água nas pressões de 100 bar(◇), 150 bar(+), 200 bar(○), 250 bar(△) e 300 bar(□) e com 20% (m/m) de água nas pressões de 100 bar(♦), 150 bar(×), 200 bar(●), 250 bar (▲) e 300 bar(■) em função do tempo de extração.

Tabela 4. 2 Massa pontual (kg) do extrato de manjeriço (em base seca – b.s.) obtido por SFE a 300 bar, 30° C e 20% (m/m) do co-solvente água.

Tempo de extração/60, s	Massa pontual/10⁶ (b.s.), kg
15	543,8
30	51,3
45	28,6
60	14,5
Intervalo de despressurização do sistema (61-120)/60	15,8

Avaliando o rendimento total (X_o) de extração com 10 e 20% de água (m/m) conforme mostrado na Figura 4.3, observa-se que 20% de água favoreceu o aumento da extração de sólidos, essa condição pode ter favorecido a hidrólise de compostos, aumentando deste modo a quantidade de sólidos solúveis na matriz vegetal (Moreschi, 2004). O comportamento do rendimento apresenta mesma tendência para as duas porcentagens de co-solvente, em que se verifica o decréscimo do rendimento até 200 bar e em seguida o rendimento torna-se crescente até 300 bar.

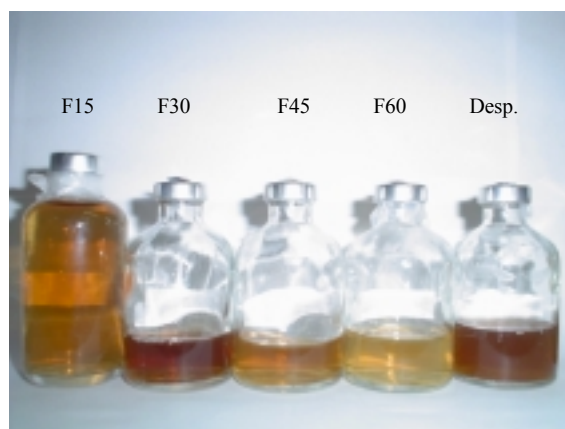


Figura 4. 2 Extratos de manjeriço coletados aos 15 (F15), 30 (F30), 45 (F45) e 60 min (F60) e durante a depressurização do sistema (Desp.)

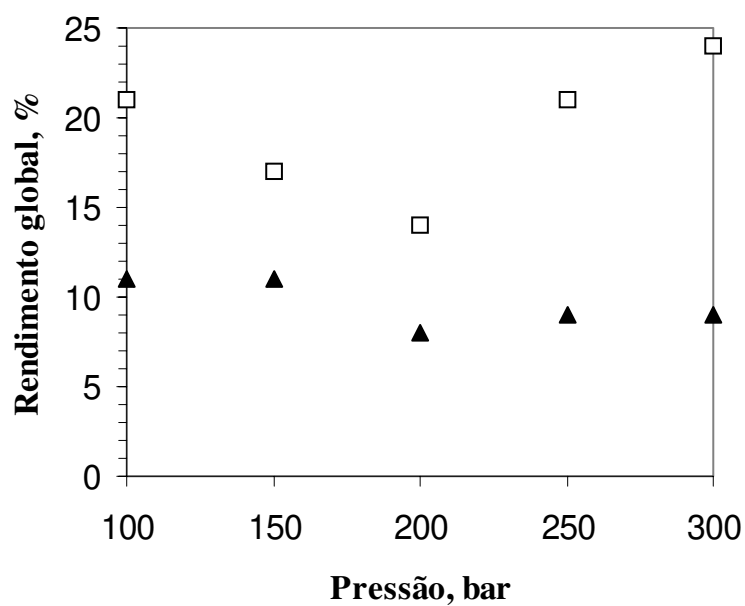


Figura 4. 3 Rendimento global de extração (X_o) de manjeriço em função da pressão de extração e porcentagem de co-solvente H₂O (m/m): 10% (▲) e 20% (□).

Nos ensaios de extração com 1% de água (m/m) pode ser facilmente verificado a extração de óleo, podendo ser constatado sua presença devido à turbidez do extrato. A Figura 4.4 mostra o rendimento global de extração em função da pressão e temperatura. Usando-se 1% de água como co-solvente (m/m), os maiores rendimentos em óleo foram obtidos a 30 °C e 100 bar e a 50 °C e 150 bar, sendo que em ambas as condições o rendimento de extração foi de aproximadamente 2% (em b.s.).

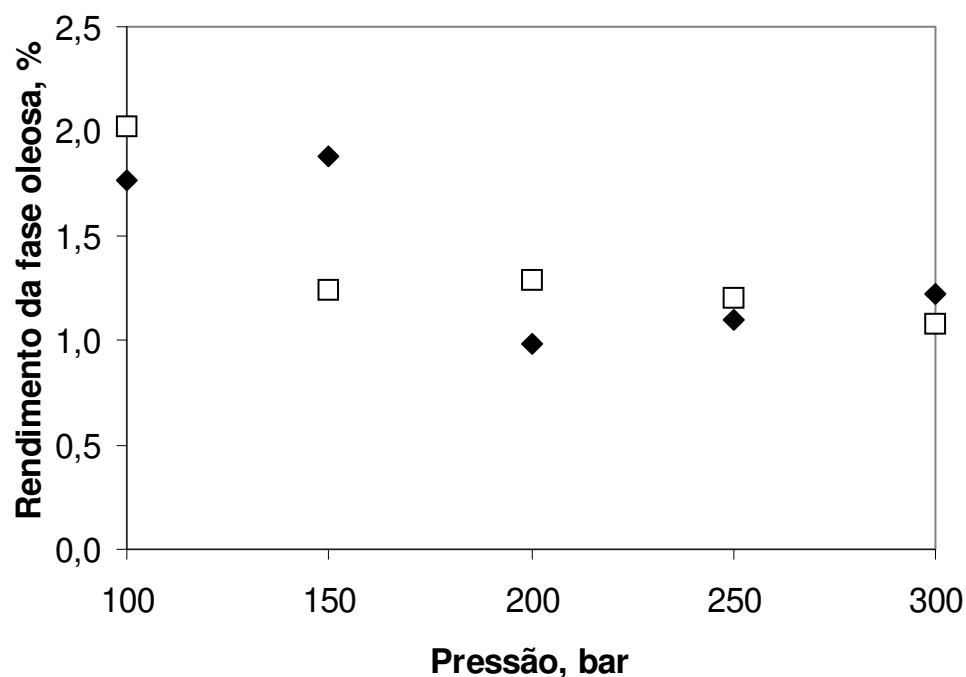


Figura 4. 4 Rendimento da fase oleosa do extrato de manjeriço obtido com 1% H₂O (m/m), como função da pressão nas temperaturas de 30 °C (□) e 50 °C (◆).

Comparativamente ao trabalho de Shyu *et al* (1997) que avaliou o equilíbrio de fases da mistura CO₂ + H₂O nas temperaturas de 5, 50, 250, 350° C e pressões de 0 a 1000

bar (Figuras 2.3 e 2.4 no Capítulo 2) é possível analisar os ensaios de extração realizados a 50 °C e 1% de co-solvente água (m/m) que corresponde a mistura CO₂:H₂O de 0,99:0,01^{4.16}. Nas cinco condições de pressão estudadas e, levando-se em conta o diagrama de Shyu *et al* (1997) presente na Figura 2.3, a mistura encontra-se na região de duas fases. É possível estimar a curva de equilíbrio para o sistema CO₂:H₂O (0,99:0,01) para a temperatura de 30° C e, do mesmo modo que na temperatura anterior, nas cinco pressões de operação, a mistura de solventes também se encontra na região de duas fases. É possível observar que as condições de extração que favoreceram maior rendimento em óleo, 100 bar e 30° C e 100 e 150 bar e 50 °C, estão localizados mais distantes da curva de saturação de vapor (ponto de bolha) que as demais pressões. Espera-se que quanto mais distante da curva de saturação de vapor, menos apropriadas são as características para o solvente, uma vez que gases são péssimos solventes por possuírem baixa densidade, apesar de possuírem alta difusividade. Os líquidos já possuem características que o tornam bons solventes por possuírem densidades maiores, alta viscosidade apesar de ser lenta a difusividade.

Como a condição de extração de 100 bar e 30 °C resultou em maior rendimento em óleo nos ensaios com 1% do co-solvente água, esta mesma condição de temperatura e pressão foi selecionada para extração com 5% do co-solvente (m/m). Através da OEC mostrada na Figura 4.5, verifica-se que o rendimento da fase oleosa (base seca) foi de aproximadamente 3 % (b.s). Sendo assim, o rendimento global em óleo foi de 2 para 3%

^{4.16} A fração mássica foi calculada sabendo-se a densidade dos respectivos solventes CO₂ e H₂O na temperatura e pressão de entrada na bomba (ρ CO₂ = 1002 kg/m³ (T = -10 °C, P = P_{cilindro} ± 60 bar) e ρ H₂O = 997 kg/ m³ (T_{ambiente} ± 24 °C, P = P_{atmosférica} = 0,950 bar) Cálculo no **ANEXO 8.7** .

(b.s) quando a porcentagem do co-solvente foi de 1 para 5%, mostrando um aumento de 50% no rendimento.

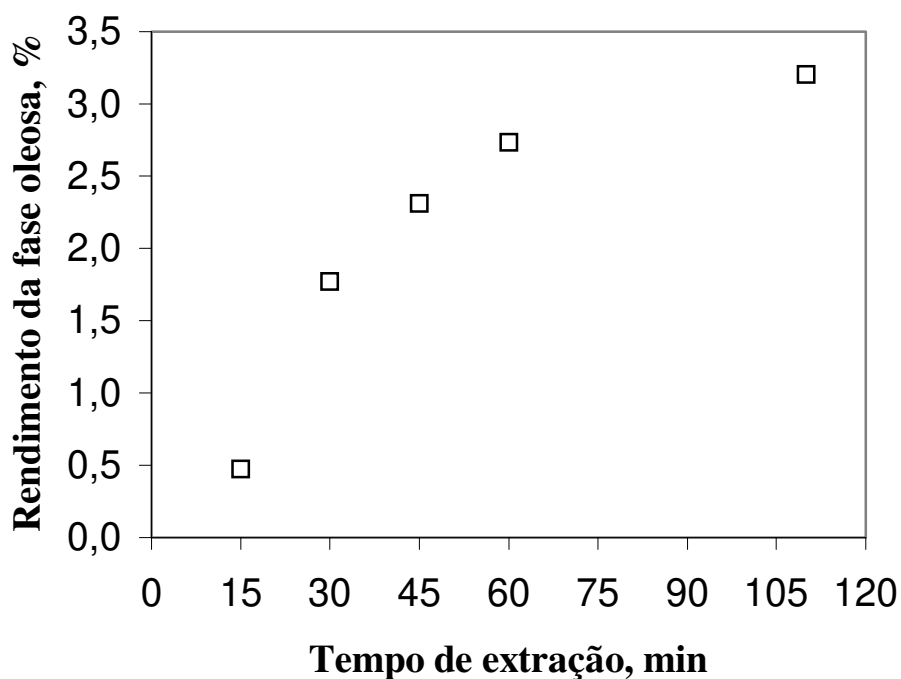


Figura 4. 5 Rendimento da fase oleosa do extrato de manjeriço obtido com 5% H₂O (m/m), em função do tempo de extração na pressão de 100 bar e 30 °C ().

O rendimento em óleo volátil de manjeriço obtido por HD^{4.17} foi de aproximadamente 1% (em b.s.) com tempo de extração de 65 minutos, em que o volume de óleo volátil depositado em coluna de vidro graduada, permaneceu constante.

^{4.17} HD = hidrodestilação

4.1.3 Composição química dos extratos de manjeriço

Os compostos identificados no óleo volátil de manjeriço estão apresentados na Tabela 4.3 e a Figura 4.6 mostra o cromatograma. Os compostos majoritários no óleo volátil (em % em área) obtidos por HD são linalol, 1-8 cineol, cânfora e eugenol. Dentre as espécies de *Ocimum*, o *O. basilicum* pertence ao quimiotipo cujo composto majoritário na parte volátil é o linalol.

Tabela 4. 3 Compostos identificados por CG-EM^{4.18} no óleo volátil de manjeriço obtido por HD.

t _R (min.)	IR	Identificação	área (%)
5,32	932	alfa-pineno	0,84
5,70	946	canfeno	0,62
6,35	971	sabineno	0,76
6,46	975	beta-pineno	1,57
6,83	989	beta-mirceno	0,68
8,20	1030	1,8-cineol	21,9
9,42	1065	PM = 154	0,47
10,21	1087	fenchona	0,94
10,82	1103	linalol	26,82
12,53	1144	cânfora	12,3
14,45	1190	alfa-terpineol	2,74
21,80	1358	eugenol	7,89
24,38	1417	trans- cariofileno	1,39
25,11	1435	alfa-bergamoteno	3,02
27,05	1481	germacreno D	7,35
28,01	1503	germacreno A	0,91
28,39	1513	gama-cadineno	1,73
32,44	1613	<1,10-DI-EPI->cubenol	0,67
33,52	1641	<EPI-alfa->cadinol	7,40

t_R : tempo de retenção

IR: índice de retenção

^{4.18} Análise realizada no CPQBA/UNICAMP.

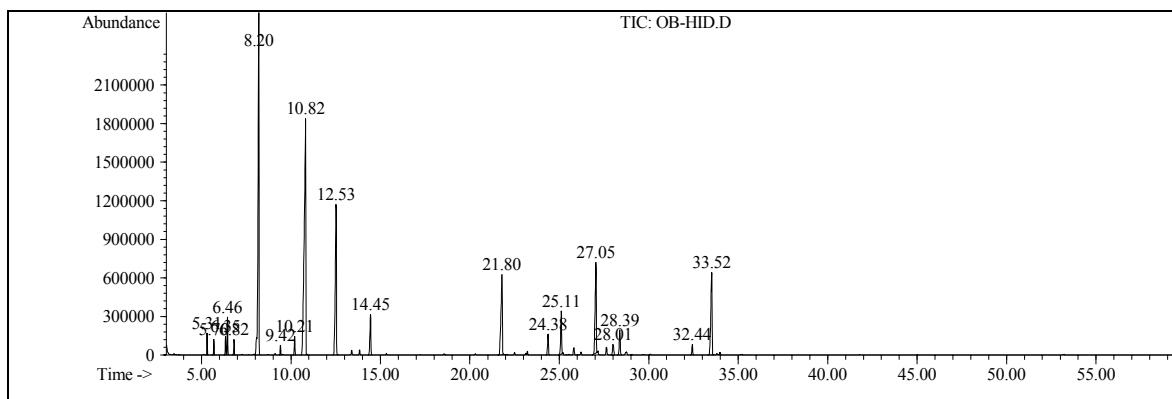


Figura 4. 6 Cromatograma do óleo volátil de manjerição obtido por HD.

Os compostos presentes no extrato obtido via SFE (1% de co-solvente) e detectados por CG-EM estão apresentados na Tabela 4.4^{4.19} e 4.20 e o cromatograma na Figura 4.7^{4.8}. Não foi possível identificar todos os compostos detectados como, por exemplo, o composto cujo tempo de retenção foi de 49,88 min.

Tabela 4. 4 Compostos identificados por CG-EM^{4.19} e 4.20 na fração oleosa dos extratos obtidos por SFE a 150 bar, 50° C e 1% do co-solvente água.

t_R (min.)	IR	Identificação
3,84	----	etilbenzeno
3,98	----	1,2-dimetilbenzeno
4,24	----	1,4-dimetilbenzeno / p-xilol
4,42	----	1,3-dimetilbenzeno
21,69	1355	eugenol
26,96	1478	germacreno D
33,43	1639	<EPI-alfa->cadinol
49,88	----	----
53,17	----	PM = 278

^{4.7} Análise realizada no CPQBA/UNICAMP.

^{4.19} Análise realizada na Central Analítica/Instituto de Química/UNICAMP.

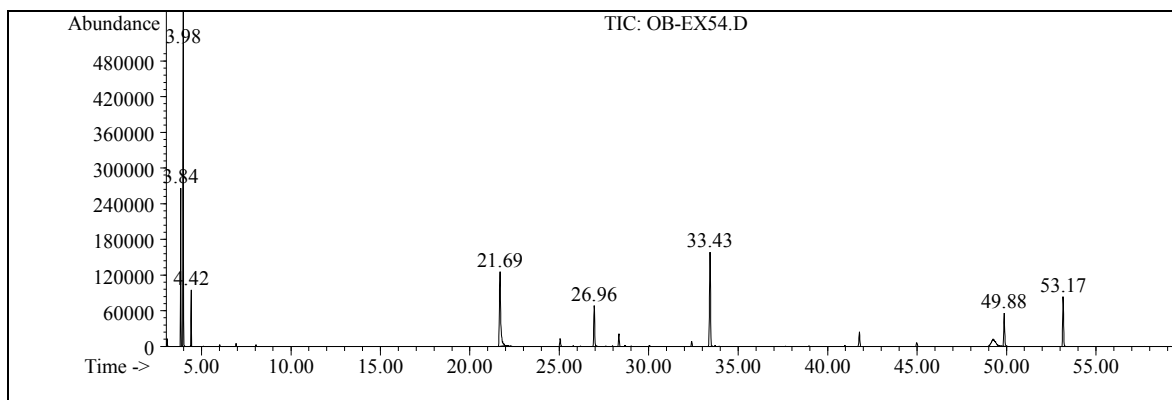


Figura 4. 7 Cromatograma do extrato do manjeriço obtido por SFE a 150 bar, 50° C e 1% de co-solvente água.

Comparando os resultados mostrados nas Tabelas 4.3 e 4.4, é possível concluir que o extrato obtido por HD apresenta uma maior gama de compostos classificados como óleo volátil, ou seja, óleo leve que pertence as classes de terpenos e sesquiterpenos. Sugere-se que o linalol presente na matriz vegetal tenha sido extraído e posteriormente perdido durante a etapa de expansão no frasco de coleta do extrato ou ainda, durante a etapa de concentração da fase oleosa com vácuo (± 75 mbar). Esta segunda hipótese parece ser a mais adequada, uma vez que, tanto compostos com maior quanto com menor massa molecular, em relação ao eugenol, não estão presentes no extrato. Neste caso, seria necessário desenvolver outra metodologia para a separação das fases aquosa/oleosa ou então tentar utilizar barreiras físicas para minimizar as perdas de compostos leves durante a extração (expansão) e durante a concentração. É importante observar que os extratos obtidos com alto teor de co-solvente (10 e 20% (m/m)) não apresentaram em sua composição óleo volátil (classe dos terpenos ou sesquiterpenos como eugenol, germacreno-D, linalol, etc.), no entanto, por CG-EM foram detectados alguns picos de compostos com

massa molecular maior (286 e 300), mas que não puderam ser identificados pela biblioteca eletrônica do Adams. O cromatograma^{4.7} e os espectros de massa^{4.7} de um dos extratos obtidos com alto teor do co-solvente água (10% v/v) é mostrado na Figura 8.36 a 8.38 (Capítulo 8: Anexos).

Através das Figuras 4.6 e 4.7 é possível verificar que a composição química do extrato obtido no primeiro caso por hidrodestilação e no segundo por extração supercrítica apresenta diferenças, sendo possível, observar que os compostos que foram detectados nos primeiros 15 min da corrida cromatográfica do extrato obtido via HD, não aparecem nos extratos obtidos por SFE. Além disso, é possível verificar que compostos que foram detectados após 40 min de corrida cromatográfica estão presentes apenas no extrato obtido por SFE. Esta diferença na composição química pode ser explicada pela afinidade do soluto na mistura solvente + co-solvente durante a extração supercrítica ou os compostos mais leves podem ter sido arrastados pelo dióxido de carbono durante o processo de expansão, na corrente de saída do extrator. A composição química dos demais extratos obtidos via SFE está apresentada na Tabela 4.5. Alguns compostos que foram detectados como etilbenzeno, 1,2-dimetilbenzeno, 1,4-dimetilbenzeno (p-xilol) e 1,3-dimetilbenzeno (presentes na Tabela 4.4) não serão apresentados na Tabela 4.5 uma vez que trata-se de traços de solvente resultante do processo de separação fase aquosa/fase oleosa utilizando xilol.

Tabela 4. 5 Composição (em % de área)^{4.21} da fração oleosa dos extratos de manjeriço obtidos por SFE a 100, 150, 200, 250 e 300 bar, 30 e 50° C e 1% (m/m) de água como co-solvente.

Composição do extrato, % em área										
Compostos	Pressão, bar									
	100		150		200		250		300	
	Temperatura, °C									
	30	50	30	50	30	50	30	50	30	50
Eugenol	13,0	14,6	8,2	13,2	7,9	9,9	3,9	11,8	2,4	5,9
Germacreno - D	6,0	5,6	3,5	5,4	3,4	3,9	tr	4,8	tr	2,4
Epi - α - cadinol	10,0	8,8	10,4	9,4	10,1	12,4	9,2	12,1	9,8	10,4
Fitol	3,7	tr	2,4	tr	2,3	2,23	tr	2,3	tr	1,8
Neofitadieno	7,0	4,7	6,9	5,4	6,7	6,7	5,9	5,2	6,7	4,8
n.i.	60,3	66,3	68,7	66,7	69,7	64,9	81,0	63,8	81,1	74,7

tr = traço ($\% \leq 2\%$); n.i.= não identificado.

A presença destes compostos nos extratos (em % em área) decresceram com a pressão de extração para as duas temperaturas de extração, exceto para a pressão de 250 bar e 50 °C. Extratos obtidos a 50 °C apresentaram maior teor de eugenol variando de 6 a 14% (em área).

^{4.21} Análise realizada através do CG-DIC no LASEFI/FEA/UNICAMP.

4.1.4 Atividade Antioxidante

A seguir, estão apresentados os valores de atividade antioxidante (AA) dos extratos obtidos com 1% de co-solvente água (m/m): fase oleosa e fase aquosa; dos extratos (Xo) obtidos com 10 e 20% de co-solvente; dos extratos obtidos com 10 e 20% de co-solvente em função do tempo de extração (15, 30, 45, 60 minutos e extrato de despressurização).

A Tabela 4.6 mostra a AA da fase oleosa e aquosa dos extratos de manjerição obtidos com 1% (m/m) de co-solvente e os extratos totais obtidos com 10 e 20% de co-solvente. Os traços significam que o extrato não possui AA ou a atividade é inferior a do beta-caroteno (controle).

Os extratos obtidos com 10 e 20% de água (m/m) apresentaram AA superiores aos extratos obtidos com 1% de água (m/m) na mesma temperatura (30 °C). Verifica-se um aumento na AA dos extratos obtidos com 1% H₂O a 50 °C em relação aos obtidos a 30 °C. A AA pouco varia com o tempo de reação de oxidação, podendo ser um indicativo de que os extratos de manjerição obtidos com 10 e 20% de H₂O, além de possuírem bons valores de AA, apresentam uma boa estabilidade. Portanto, os extratos de manjerição podem ser considerados um antioxidante natural com ação prolongada, podendo aumentar a vida de prateleira de um produto.

Entre as frações oleosa e aquosa dos extratos obtidos com 1% de H₂O, a primeira fração apresentou AA superior à segunda fração (aquosa), sendo que a maioria dos extratos

aquosos não apresentaram AA ou sua atividade foi inferior à do beta-caroteno (3 colunas da direita da Tabela 4.6). A AA dos extratos oleosos variam consideravelmente com o tempo de reação.

As maiores AA obtidas para o extrato de manjeriço foram de 68% de AA para o extrato obtido com 20% de H₂O a 30 °C e 200 bar; 51% de AA para os extratos obtidos com 10% de H₂O a 30 °C e 250 bar e 100% de AA para o extrato obtido com 1% de H₂O a 50 °C e 300 bar (fração oleosa).

Tabela 4. 6 Atividade antioxidante (%) dos extratos de manjerição em função da pressão de extração, temperatura de extração e porcentagem de co-solvente água (m/m).

		Tempo de reação, h											
		1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
		Porcentagem de co-solvente água (m/m)											
T °C	P bar	20			10			1					
		Extrato total (Xo)			Extrato total (Xo)			Fase oleosa			Fase aquosa		
30	100	50	50	48	47	48	46	41	-	31	2	6	5
	150	57	56	55	48	48	-	-	5	45	-	-	1
	200	67	68	67	48	49	47	48	50	42	-	-	1
	250	64	66	65	50	51	49	64	31	57	-	-	4
	300	58	58	56	49	50	48	54	57	62	-	-	5
50	100							90	96	24	42	45	37
	150							58	61	58	-	3	7
	200							61	62	52	-	-	6
	250							65	65	70	-	0	8
	300							100	63	100	-	1	6

AA = 0 significa que extrato possui atividade antioxidante igual à do β -caroteno.

Através das Figuras 4.8 e 4.9 e da Tabela 4.7, é possível observar a AA dos extratos em função do tempo de extração, observando-se diferentes comportamentos com as diferentes condições de pressão e temperatura de processo e % do co-solvente. Através da Figura 4.8 é possível visualizar que a AA não foi muito influenciada pelo tempo de reação.

Os três únicos extratos que tiveram em sua fração de despressurização valores máximos de AA, foram os obtidos nas condições de 100 bar e 250 bar, 10% H₂O (Figura 4.8-A e D) e 30 °C e 150 bar, 20% de água e 30 °C (Figura 4.9-B'), para os demais extratos, a AA cresce com o tempo de extração até os 60 minutos e decresce na despressurização.

Se compararmos o extrato obtido durante 46-60 minutos (F60) e os extratos totais (Tabela 4.6), é possível concluir que esta fração em especial, apresenta maior AA em relação ao extrato total e demais frações obtidas nos 15 (F15) e 30 min (F30) e na fração obtida durante a despressurização do sistema (Desp.), com exceção do extrato obtido a 200 bar, 20% de H₂O e 30° C (Figura 4.9-C').

Tabela 4. 7 Atividade antioxidante dos extratos de manjeriço em função da pressão de extração, porcentagem de co-solvente água (m/m) e tempo de extração.

		Tempo de reação, h														
		1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
		Tempo de extração, min														
Água, %	P	0 – 15 (F15)			16 – 30 (F30)			31 – 45 (F45)			46 – 60 (F60)			Depressurização (Desp.)		
10	100	52	53	51	48	48	46	64	65	64	62	65	64	61	63	61
	150	41	45	39	59	58	56	63	63	61	72	70	68	65	65	63
	200	60	58	54	70	68	66	70	70	68	70	68	66	64	61	57
	250	63	62	59	70	68	66	71	70	68	73	74	72	72	75	72
	300	42	41	37	56	55	53	57	58	58	62	66	66	53	55	52
20	100	56	55	52	61	60	57	70	67	65	69	70	68	66	68	66
	150	53	53	50	61	60	57	62	61	59	65	66	64	65	66	65
	200	60	56	53	72	68	64	59	58	55	62	58	55	55	52	53
	250	71	66	63	74	68	66	88	82	75	-	-	-	95	96	95
	300	73	69	66	74	68	66	68	63	63	82	91	99	80	84	85

Segundo a literatura, a atividade antioxidante dos extratos do manjeriço também pode ser atribuída aos compostos fenólicos, ao ácido rosmarínico e α -tocoferol. (Grayer *et al*, 1996, Javanmardi *et al*, 2003; Jayasinghe *et al*, 2003).

É possível concluir que o extrato de manjeriço possui boa atividade antioxidante, superior ao antioxidante controle beta-caroteno, para quase todas as amostras estudadas. É interessante enfatizar que os extratos sem óleo volátil (10 e 20% H₂O) apresentaram valores de AA similares aos extratos oleosos, indicando que não somente os compostos mais apolares como os terpenos e sesquiterpenos (que compõe o óleo volátil), possuem AA, mas também outras classes de compostos mais polares presentes no manjeriço.

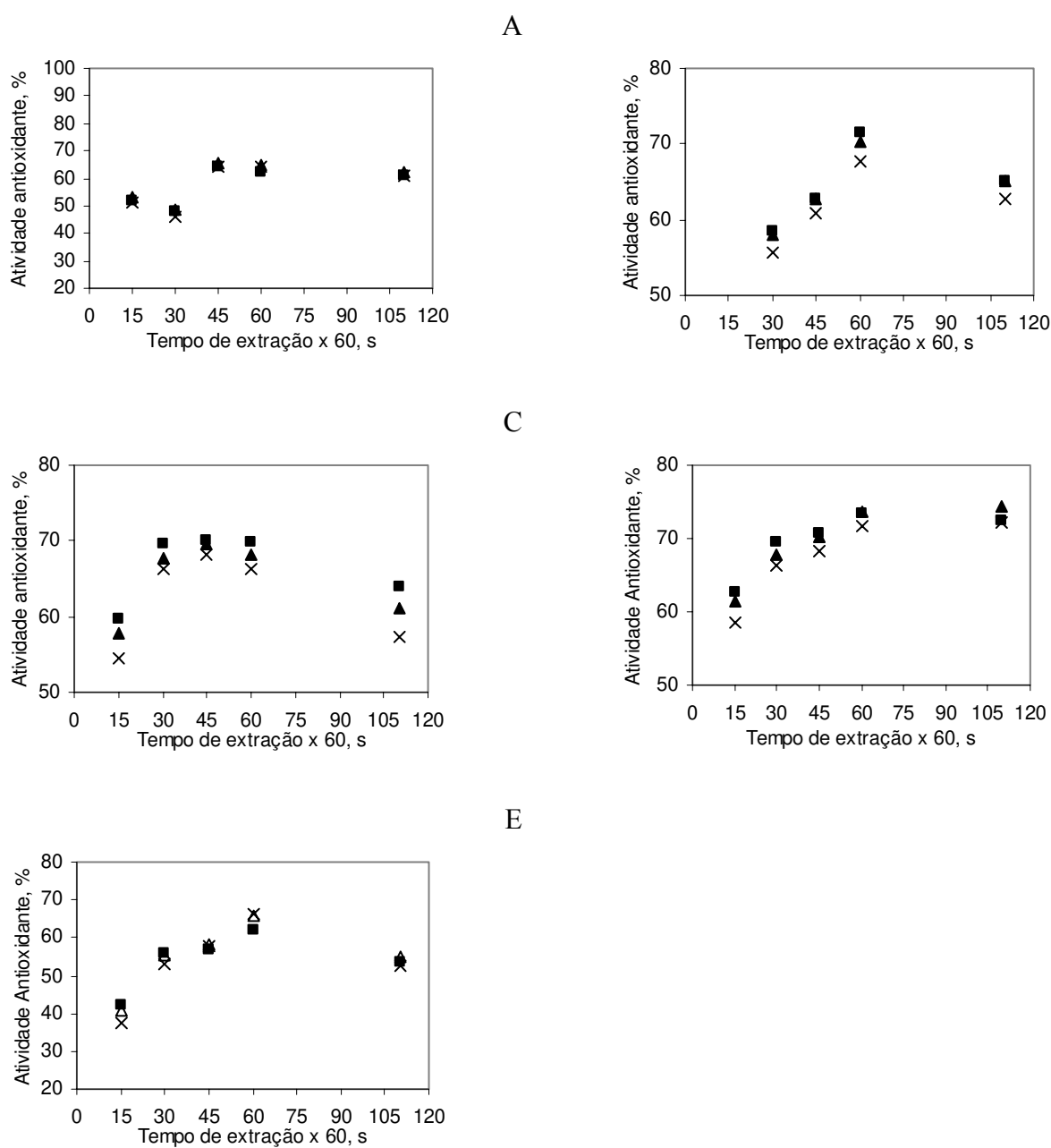


Figura 4. 8 Atividade antioxidante dos extratos de manjericão obtidos a 30° C, 10% de co-solvente e 100 bar (A), 150 bar (B), 200 bar (C), 250 bar (D), 300 bar (E); em função do tempo de extração e do tempo de reação oxidante 1h (■), 2h (▲) e 3h (×).

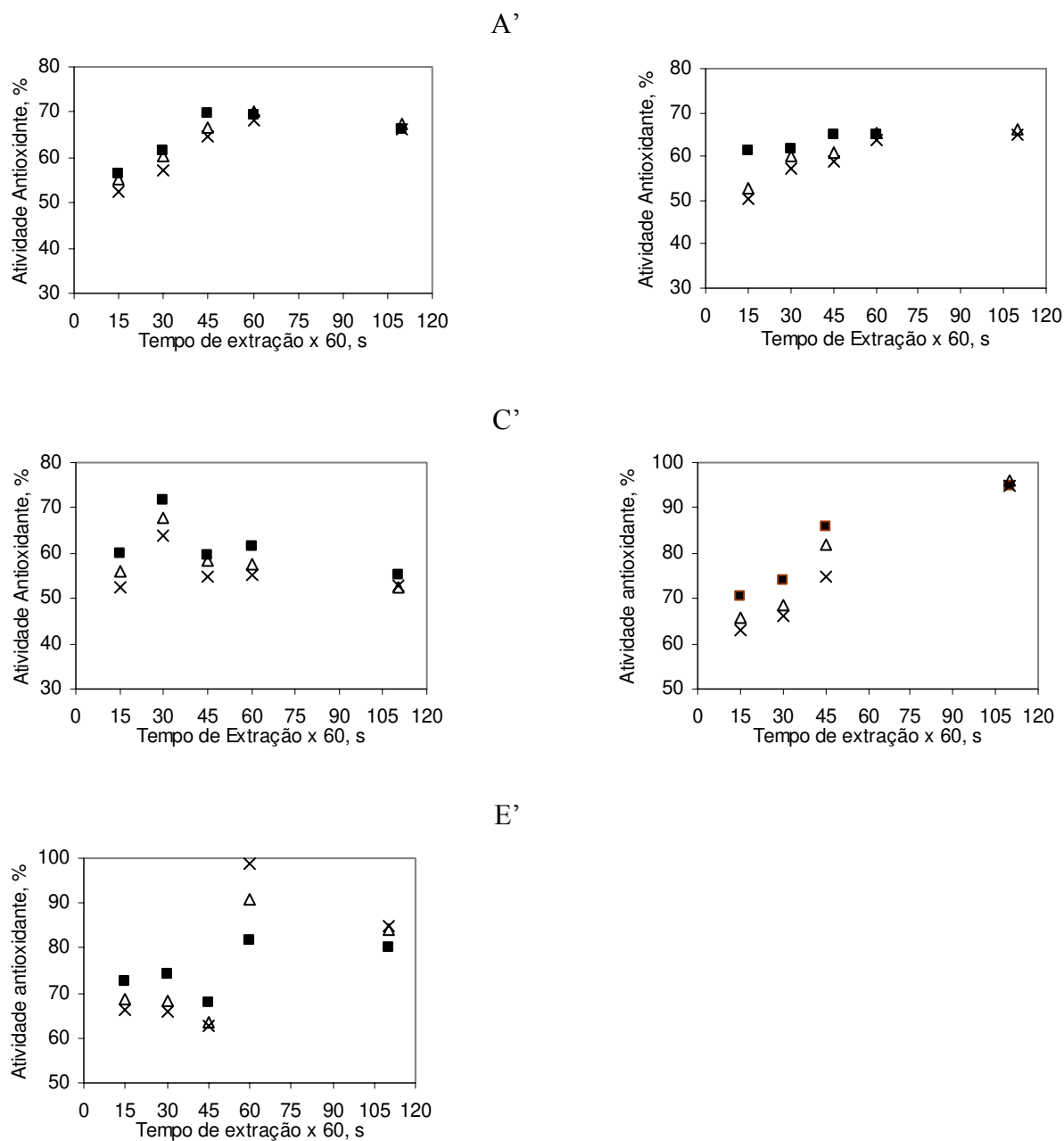


Figura 4. 9 Atividade antioxidante dos extratos de manjericão obtidos a 30° C, 20% de co-solvente e 100 bar (A'), 150 bar (B'), 200 bar (C'), 250 bar (D'), 300 bar (E'); em função do tempo de extração e do tempo de reação oxidante 1h (■), 2h (△) e 3h (×).

4.2 Macela_a e Macela_s

As umidades da macela_a (*A. alata*) e macela_s (*A. saturoioides*) foram respectivamente 10,1 e 10,2%. As densidades aparente das matéria-primas que alimentaram o extrator foram de 382 kg/m³ para macela_a e 366 kg/m³ para macela_s.

4.2.1 Extração

O rendimento global de extração para os sistemas macela_a + CO₂ e macela_s + CO₂ estão na Tabela 4.8. Ambos os sistemas mostram o mesmo comportamento, o máximo rendimento foi obtido a 30 °C e pressão de 200 bar. Os rendimentos globais de extração (*Xo*) da macela_a foram maiores que da macela_s. Para as condições de extração usadas, a pressão de inversão é um pouco acima de 250 bar como pode ser verificado nas Figuras 4.10 e 4.11.

Tabela 4. 8 Isoterma de rendimento global (% , m/m, base seca – b.s.) para os sistemas macela_a + CO₂ e macela_s + CO₂, a vazão do solvente foi de 7×10^{-5} kg/s.

Pressão, bar	$\rho_{CO_2}^*$, kg / m ³		<i>Xo</i>			
			<i>A. alata</i>		<i>A. saturoioides</i>	
	30 °C	40 °C	30 °C	40 °C	30 °C	40 °C
100	772	629	2,57	1,26	1,38	0,53
150	847	780	-	3,59	-	-
200	891	840	4,16	2,59	2,40	2,59
300	948	910	3,31	3,73	1,96	2,22

*Valores de densidade (ρ_{CO_2} , kg / m³) retirados do NIST – National Institute of Standards and Technology.

O rendimento global de extração está intimamente relacionado com a solubilidade do soluto (a mistura que forma o extrato) e solvente supercrítico (Rodrigues *et al*, 2003). Portanto, o efeito da densidade do solvente além da solubilidade do soluto no solvente será importante nas pressões próximas de 250 bar, em que, próximo a este valor, o efeito da pressão de vapor do soluto é predominante. Considerando o rendimento, a 30 °C a melhor pressão de extração foi de 200 bar e a 40 °C foi de 300 bar para ambos os sistemas macela_a + CO₂ e macela_s + CO₂. O rendimento para a extração a baixa pressão com etanol (LPSE) foi 2,9% (m/m, b.s.) para macela_s e 4,3% (m/m, b.s.) para macela_a. Devido à pequena massa de matéria-prima disponível para obtenção de óleo volátil de macela_a e macela_s por hidrodestilação, conforme descrito no item 3.7.2, não foi possível calcular o rendimento em óleo volátil.

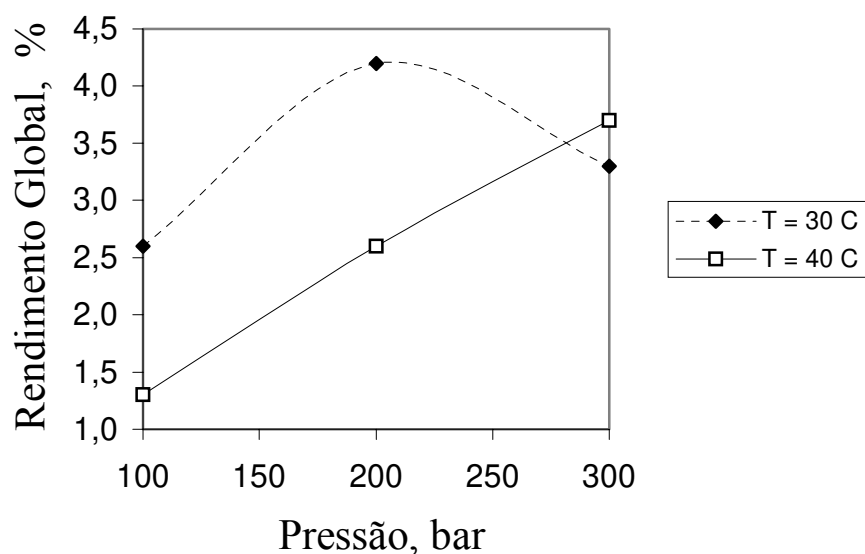


Figura 4. 10 Isotermas de rendimento global para o sistema macela_a + CO₂: 30 °C (- -♦- -) e 40 °C (- -□- -).

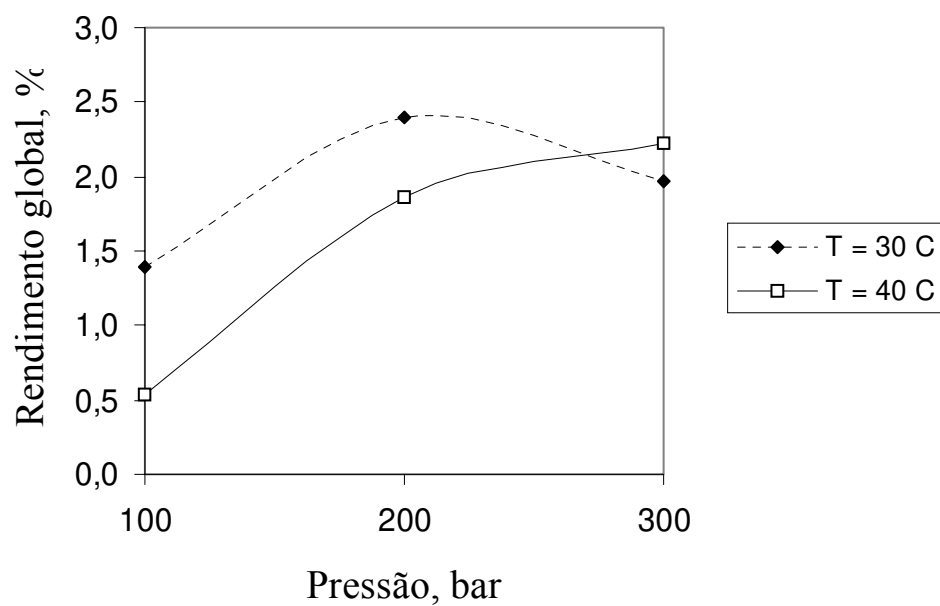


Figura 4. 11 Isoterma de rendimento global para o sistema macela_s + CO₂: 30 °C (- -♦ - -) e 40 °C (- -).

4.2.2 Composição química dos extratos de macela_a e macela_s

4.2.2.1 Cromatografia gasosa acoplado a espectro de massa (CG-EM)

Na Tabela 4.9 estão os compostos identificados por CG-EM (Leal et al, 2004) no óleo volátil obtido por HD e no extrato bruto obtido por LPSE da macela_a. Os compostos majoritários leves que compõe o extrato obtido por HD e LPSE são o trans-cariofileno (72,7 e 30,3% em área, respectivamente) e alfa-humuleno (8,5 e 3,9% em área, respectivamente).

Tabela 4. 9 Compostos detectados por CG-EM^{4.22} dos extratos de macela_a obtidos por HD e LPSE.

HD <i>t_r</i> × 60, s	LPSE <i>t_r</i> × 60, s	HD IR	LPSE IR	Composto Identificado	HD % área	LPSE % área
	9,86		1077	-	-	2,7
13,36		1164		borneol	0,8	-
14,44		1189		alfa-terpineol	0,8	-
22,54		1375		alfa-copaeno	2,4	-
24,72	24,37	1425	1417	trans cariofileno	72,7	30,3
25,95	25,78	1455	1450	alfa-humuleno	8,5	3,9
26,84		1476		gamma-muroleno	0,8	-
27,23		1485		PM 204	1,1	-
27,61		1494		alfa-selineno	1,1	-
27,83		1499		alfa-muroleno	0,8	-
28,40		1513		gamma-cadineno	0,7	-
28,82		1523		delta-cadineno	2,9	-
30,68		1569		cariofileno alcool	2,0	-
31,19		1582		Óxido de cariofileno	1,1	-
31,93		1600		PM 222	0,6	-
32,59		1617		PM 222	2,3	-
33,49		1640		epi-alpha cadinol	0,8	-
	56,83			-	-	55,6
	59,99			-	-	1,9

Pico 41,8 min = graxa; *t_r*: tempo de retenção; IR: índice de retenção

^{4.22} Análise de CG-EM realizado no CPQBA/UNICAMP.

Na Tabela 4.10 estão os compostos identificados no óleo volátil (obtido por HD) e no extrato bruto (obtido por LPSE) da macela_s. Os compostos majoritários leves que compõe o extrato obtido por HD e LPSE são o trans-cariofileno (27,7 e 3,0% em área, respectivamente), alfa-humuleno (9,5 e 3,0% em área, respectivamente). Nos extratos obtidos por HD também foram detectados borneol (8,2% área) e e alfa-terpineol (6,0% em área).

Tabela 4. 10 Compostos detectados por CG-EM^{4,19} dos extratos de macela_s obtidos por HD e LPSE.

HD <i>t_r</i> × 60, s	LPSE <i>t_r</i> × 60, s	HD IR	LPSE IR	Composto Identificado	HD % área	LPSE % área
8,18		1030		1,8 cineol	1,5	
	9,86		1077			1,6
13,37		1164		borneol	8,2	
14,44		1189		alfa-terpineol	6,0	
16,82		1244		-	4,3	
24,41	24,32	1418	1416	trans cariofileno	27,7	3,0
25,84	25,77	1452	1450	alfa-humuleno	9,5	3,0
28,79		1523		delta-cadineno	2,1	
30,65		1568		cariofileno alcool	2,5	
31,92		1600		PM 222	2,9	
32,54		1616		PM 222	3,6	
33,14		1631		-	1,3	
33,49		1640		epi-alfa-cadinol	2,8	
34,00		1654		alfa-cadinol	2,0	
	40,62				-	0,8
	41,80		1868	graxa	-	17,2
	44,99		1961	graxa	-	4,9
	45,90		1988	-	-	0,9
	54,52		-	-	-	5,9
	56,09		-	-	-	1,8
	56,81		-	-	-	59,8
	59,98		-	-	-	1,1

Pico 38,11 min detectado no óleo volátil obtido por HD = benzoato de benzila, possível resíduo da etapa de recuperação do óleo volátil da fração orgânica com diclorometano.

Para as duas espécies de macela, a extração por hidrodestilação mostrou-se mais interessante para obtenção de um extrato com maior % em área de trans-cariofileno e o alfa-humuleno em relação à extração com solvente orgânico (LPSE).

4.2.2.2 Cromatografia gasosa com detector de ionização chama (CG-DIC^{4.23})

A Tabela 4.11 relaciona o teor dos compostos trans-cariofileno e alfa-humuleno (em % em área) nos extratos de macela_a e macela_s em função da técnica de extração HD, LPSE e SFE nas diferentes condições de operação. O teor de trans-cariofileno presente nos extratos de macela_a obtidos por SFE a 30 °C cresce quando a pressão passa de 100 para 200 bar enquanto que a 40 °C cresce quando a pressão passa de 200 para 300 bar. Apenas traços de trans-cariofileno foram detectados nos extratos de macela_s obtidos via SFE, exceto a 30 °C e pressões de 200 e 300 bar. O alfa-humuleno não foi detectado nos extratos de macela_a e macela_s nas temperaturas de 30 e 40 °C e pressões de extração de 100 e 200 bar.

A partir dos resultados da Tabela 4.11 é possível concluir que para a obtenção de extrato com maior % em área de trans-cariofileno e alfa-humuleno, a extração por HD é a mais indicada tanto para macela_a quanto para macela_s em relação à SFE e LPSE. Os extratos obtidos por LPSE e SFE apresentaram em sua composição outros compostos que não estão presentes no extrato obtido por HD. Estes compostos não foram identificados neste trabalho, no entanto, como pode ser observado no item 4.2.3, eles podem estar conferindo maior atividade antioxidante aos extratos.

^{4.23} DIC = FID = *Flame ionization detector*

Tabela 4. 11 Teor (% em área) dos compostos trans-cariofileno e alfa-humuleno detectados por CG-DIC presentes nos extratos obtidos por SFE, HD e LPSE da macela_a (Aa) e macela_s (As).

Técnica de Extração		trans-cariofileno (% área)		α-humuleno (% área)		Compostos NI e com maior <i>tr</i> (% área)			
		Aa	As	Aa	As	Aa	As		
SFE						<i>t_r</i> =56,3	<i>t_r</i> =54,3	<i>t_r</i> =56,3	<i>t_r</i> =59,2
P, bar	T, °C								
100	30	12,3	tr	tr	tr	62,2	41,8	nd	18,3
100	40	24,4	tr	5,0	tr	29,0	nd	21,8	nd
200	30	25,7	4,2	1,9	4,4	50,8	27,1	60,0	nd
200	40	17,9	tr	tr	tr	39,4	nd	52,8	nd
300	30	18,9	9,5	4,2	6,7	53,1	16,1	51,4	nd
300	40	31,9	tr	6,6	tr	42,1	nd	67,3	nd
HD		72,7	27,6	8,5	9,5	nd	nd	nd	nd
LPSE		30,3	3,0	3,9	2,6	55,6	5,1	51,1	0,9

tr: traço ≤ 2,6% em área; NI: não identificado; nd: não detectado; *tr*: tempo de retenção.

4.2.3 Atividade Antioxidante dos extratos de macela_a e macela_s.

A Tabela 4.12 mostra a atividade antioxidante (AA) dos extratos de macela_a e macela_s em função das técnicas de extração (HD, LPSE e SFE) e do tempo de reação de oxidação. As Figuras 4.12 a 4.15 relacionam a AA dos extratos obtidos por SFE, condição de extração e teor de trans-cariofileno e alfa-humuleno (% em área).

Os extratos de macela obtidos por HD apresentaram menor AA em relação aos extratos obtidos por SFE e LPSE, portanto não foi observada relação direta entre atividade antioxidante e % em área de trans-cariofileno e alfa-humuleno. Talvez os compostos detectados nos extratos obtidos via SFE e LPSE com maior massa molecular e maior tempo de retenção, devem estar relacionados com a AA porque os valores de AA dos extratos obtidos via SFE e LPSE foram maiores que os obtidos por HD. Este é um indicativo de que os compostos voláteis têm AA (superior que o antioxidante beta-caroteno), no entanto, outros compostos podem estar contribuindo para aumentar a AA dos extratos de Macela.

Tabela 4. 12 Atividade antioxidante (%) dos extratos de macela_a (*Aa*) e macela_s (*As*) obtidos por HD, LPSE e SFE.

Técnica de Extração	Espécie					
	Aa			As		
	Tempo de reação, h					
	1	2	3	1	2	3
HD	35	28	25	14	12	12
LPSE	77	78	77	83	82	81
SFE 100 bar / 30 °C	74	70	65	72	71	67
SFE 200 bar / 30 °C	73	100	66	79	77	75
SFE 300 bar / 30 °C	76	74	70	96	94	89
SFE 100 bar / 40 °C	59	61	59	98	80	77
SFE 200 bar / 40 °C	92	66	83	83	82	76
SFE 300 bar / 40 °C	63	63	58	66	69	65

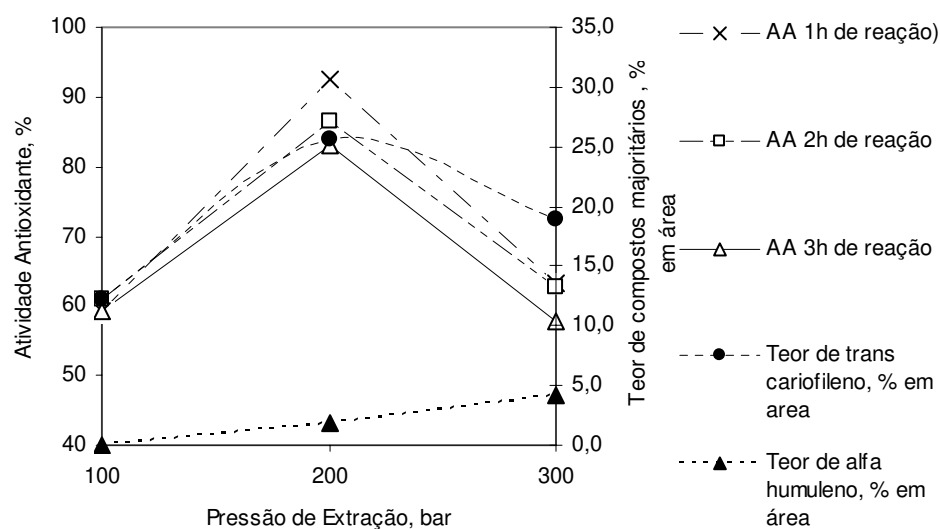


Figura 4. 12 Atividade antioxidante dos extratos de macela_a obtidos por SFE a 30°C usando CO₂ como solvente em função do teor de trans-cariofileno e alfa-humuleno no extrato.

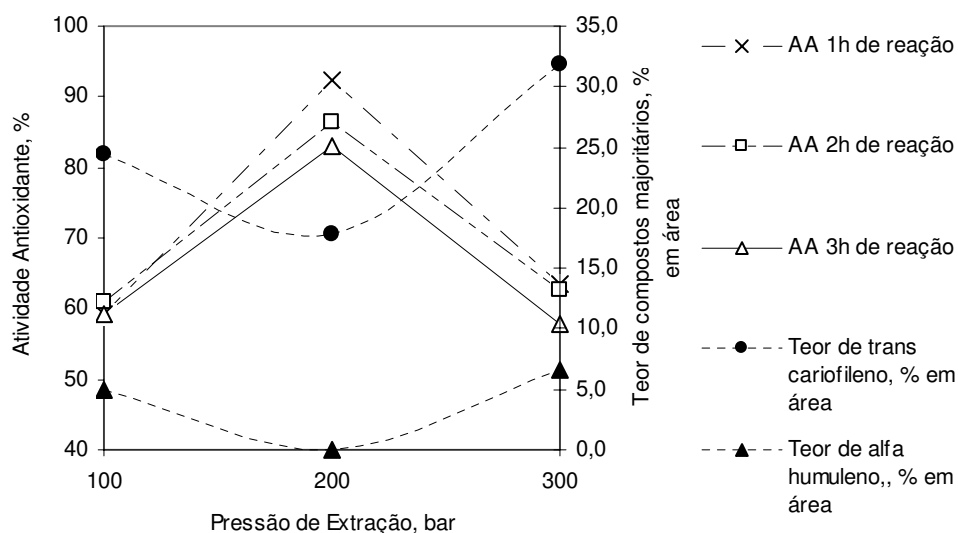


Figura 4. 13 Atividade antioxidante dos extratos de macela_a obtidos por SFE a 40°C usando CO₂ como solvente em função do teor de trans-cariofileno e alfa-humuleno no extrato.

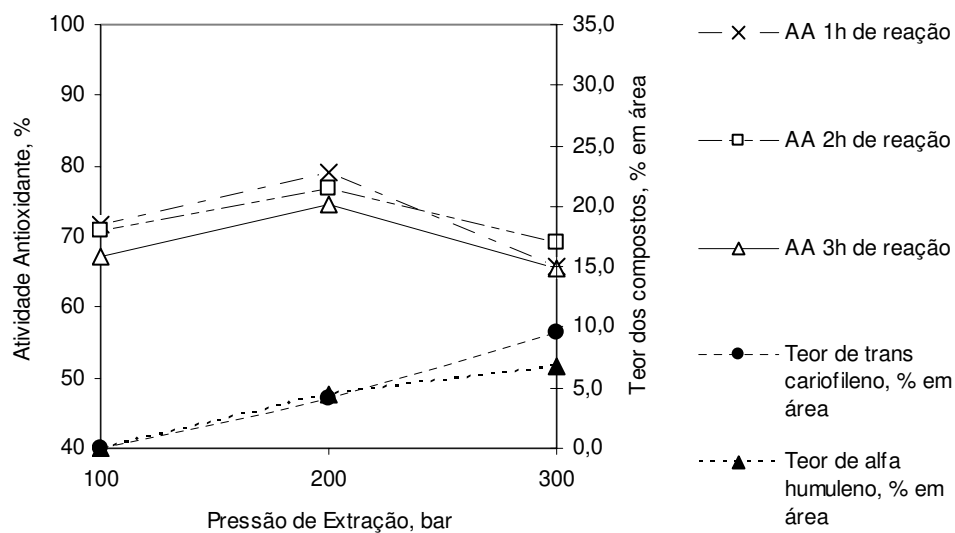


Figura 4. 14 Atividade antioxidante dos extratos de macela_s obtidos por SFE a 30°C usando CO₂ como solvente em função do teor de trans-cariofileno e alfa-humuleno nos extratos.

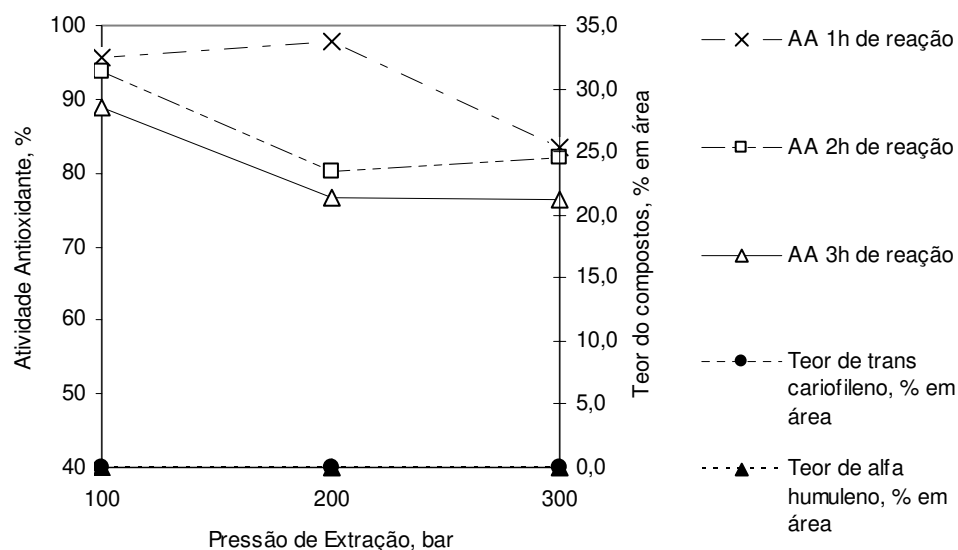


Figura 4. 15 Atividade antioxidante dos extratos de macela_s obtidos por SFE a 40°C usando CO₂ como solvente em função do teor de trans-cariofileno e alfa-humuleno no extrato.

5. CONCLUSÕES

O rendimento em óleo, dos extratos de manjerição obtidos com CO₂ + H₂O (1% v/v), variou de 1,1 a 2,0% (b.s). Os maiores rendimentos em extrato de manjerição foram obtidos na temperatura de extração de 30 °C e pressão de 100 bar (2,02%) e com a temperatura de 50 °C e pressões de 100 (1,77%) e 150 bar (1,88%).

Nos ensaios realizados com maiores teores do co-solvente (10 e 20% v/v) as condições que favoreceram o maior rendimento global (X_o) foram 300 bar e 30 °C (24%, extrato seco) seguida pelas condições de 100 e 250 bar e mesma temperatura (nas duas condições de pressão, o rendimento foi de 21%, base seca), com tempo de extração de 60 minutos e despressurização do sistema de 50 min. Analisando a massa pontual dos extratos, é possível concluir que 75 a 85% da massa total (seca) foi obtida durante os primeiros 15 min de extração.

O rendimento em óleo volátil de manjerição obtido por hidrodestilação foi de 1% (b.s).

Os compostos majoritários presentes nos extratos de manjerição obtidos com 1% de H₂O foram eugenol, germacreno – D, epi-alfa-cadinol, fitol e neofitadieno. Entre os ensaios de extração realizados com 1% de H₂O, a condição de pressão e temperatura que favoreceu a obtenção de um extrato com maior teor de eugenol foi 100 bar e 50 °C (14,6% em área). Dezenove (19) compostos voláteis (terpenos e sesquiterpenos) foram detectados no óleo

volátil de manjerição obtido por hidrodestilação, entre eles, linalol como majoritário (26,82% em área), 1-8 cineol (21,90% em área), cânfora (12,30% em área) e eugenol (7,89% em área).

Todos os extratos de manjerição obtidos com CO₂ + H₂O apresentam atividade antioxidante superior à do beta-caroteno, com exceção das fases aquosas dos extratos obtidos com 1% de co-solvente. De modo geral, os extratos obtidos com 20% (v/v) de H₂O, obtiveram valores de atividade antioxidante superiores aos extratos obtidos com 10% (v/v) de H₂O. A fração aquosa dos extratos de manjerição obtidos por SFE com 1% de H₂O e temperatura de 50 °C, apresentaram maior atividade antioxidante comparada a mesma fração, obtida a 30 °C.

O rendimento global de extração (X_o) em extrato de macela_a (*A. alata*) obtido por SFE variou de 1,3 a 4,2% (b.s) de acordo com as condições de extração (pressão e temperatura), sendo que a condição de extração, que favoreceu o maior rendimento foi 200 bar e 30° C. O rendimento do extrato obtido por LPSE foi de 4,3% (b.s).

O rendimento global de extração (X_o) em extrato de macela_s (*A. satureioides*) obtido por SFE variou de 0,5 a 2,42% (b.s) de acordo com as condições de extração (pressão e temperatura), sendo que a condição de extração, que favoreceu o maior rendimento também foi de 200 bar e 30 °C. O rendimento do extrato obtido por LPSE foi de 2,9% (b.s).

Para as duas espécies de *Achyrocline* (macela_a e macela_s), a composição química dos seus extratos variou muito com a técnica de extração (SFE, LPSE e HD). Mais de dez compostos voláteis (terpenos e sesquiterpenos) foram detectados no óleo volátil obtido por HD, tanto da macela_a como da macela_s, sendo que em ambos, o trans-cariofileno e o alfa-humuleno foram os compostos majoritários quando este método de extração foi utilizado. Nos extratos obtidos por SFE, foram detectados apenas dois compostos leves (baixa massa molecular), o trans-cariofileno e o alfa-humuleno, e outros compostos de maior massa molecular, no entanto não identificados (tempo de retenção de aproximadamente 56 min) que foram majoritários nos extratos. A presença de trans-cariofileno nos extratos obtidos por SFE de macela_s ficou restrita à algumas condições de extração e nas demais, foram detectados apenas traços deste composto e do alfa-humuleno.

Todos os extratos de macela obtidos pelas três técnicas de extração (LPSE, SFE e HD) apresentaram atividade antioxidante superiores à do beta-caroteno. O óleo volátil de macela_a e macela_s obtidos por HD apresentaram menores valores de atividade antioxidante em relação aos extratos obtidos por SFE e LPSE. Pode-se concluir que outros compostos que não pertencem a classe de terpenos e sesquiterpenos são responsáveis pela atividade antioxidante dos extratos. Não foi observada nenhuma relação entre a presença de trans-cariofileno e alfa-humuleno com a atividade antioxidante dos extratos, compostos majoritários observados na extração por HD.

6. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Adequação da metodologia para separação de fases (aquosa e oleosa) dos extratos obtidos com o co-solvente água, a fim de minimizar as perdas de voláteis (compostos mais leves) durante a evaporação do solvente orgânico.

Realizar coleta de extratos em frascos em série, para evitar a possível perda de voláteis durante o processo de expansão na corrente de saída do extrator.

Analisar a composição química dos extratos obtidos por SFE de modo mais amplo, usando outras técnicas para tentar entender a relação entre a composição dos extratos e suas propriedades biológicas, que superam em muitos casos, as propriedades dos extratos obtidos por técnicas convencionais. Com especial atenção aos flavonóides, flavonas agliconas, taninos, fitosteróis (em especial os sitosteróis) e outras classes de compostos que possuem atividade biológica e que não foram identificados pelas técnicas analíticas empregadas.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADAMS, R.P. *Identification of essential oil components by gas Chromatography/ Mass Spectroscopy*. 1st Ed, Allured Publishing Corporation: Carol Stream, IL, 1995, pp. 468.
- AGUIYI, J. C., OBI, C. I., GANG, S. S., IGWEH, A. G. Hypoglycemic activity of *Ocimum gratissimum* in rats. *Fitoterap.*, **2000**, 71, 444-446.
- ALMEIDA – DÓRIA, R. F., REGITANO – D'ARCE, A. B. Antioxidant activity of rosemary and oregano ethanol extracts in soybean oil under thermal oxidation. *Ciênt. Tecnol. Alim.* **2000**, 20 (2), 197-203.
- ANVISA, Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Desenvolvido pelo Governo Federal vinculado ao Ministério da Saúde, 1999, Apresenta Resoluções e Portarias de Alimentos. Disponível em < <http://www.anvisa.gov.br/anvisa.html> > acesso em agosto, 2002.
- AYISI, N., NYADEDZOR, C. Comparative in vitro effects of AZT and extracts of *Ocimum gratissimum*, *Ficus polita*, *Clausena anisata*, *Alchornea cordifolia* and *Elaeophorbia drupifera* against HIV-1 and HIV-2 infections. *Antiviral Res.* **2003**, 58, 25-33.
- AOAC – Association of Official Analytical Chemistry – Official Methods of Analysis, 14ed, Arlington: Association of Official Analytical Chemists, 1984, 1053p.
- BOBBIO, P. A., BOBBIO, F. O. Química do processamento de alimentos, 3^a Ed, São Paulo, Varela, 2001, pp.143.

- BOHLMANN, F.; ABRAHAM, W.-R.; ROBINSON, H.; KING, R. M. A new labdane derivative and geranylphloroglucinols from *Achyrocline alata*. *Phytochem.*, **1980**, *19*, 2475-2477.
- BRAGA, M. E. M., Extração supercrítica de curcuminóides de *Curcuma longa* L. usando como solvente CO₂ + etanol e/ou isopropanol: um estudo da cinética e das propriedades funcionais do extrato, 2002. 183p. Tese (Mestrado em Engenharia de Alimentos). Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas.
- BRAGA, M. E., LEAL, P. F., CARVALHO, J.E., MEIRELES, M. A. A., Comparison of Yield, Composition, and Antioxidant Activity of Turmeric (*Curcuma longa* L.) Extracts Obtained Using Various Techniques, *J. Agric. Food Chem.*, **2003**, *51*(22); p.6604-6611.
- BROUSSALIS, A. M.; FERRARO, G. E.; COUSSIO, J. D. Phenolic constituents of *Achyrocline alata*. *Biochem. Systemat. Ecol.*, **1993**, *21*, 306.
- BROUSSALIS, A. M.; FERRARO, G. E.; GURNI, A.; COUSSIO, J. D. Phenolic constituents of four *Achyrocline* species. *Biochem. Systemat. Ecol.*, **1988**, *16*, 401-402.
- BRUNNER, G. *Gas extraction: An introduction to fundamentals of supercritical fluids and the application to separation process*. Darmstadt, Germany, Steinkopff; New York; Springer, **1994**, pp.387.
- CARVALHO JUNIOR, R. N. Obtenção de extrato de alecrim (*Rosmarinus officinalis*) por extração supercrítica: determinação do rendimento global, de parâmetros cinéticos e de equilíbrio e outras variáveis do processo. 2004. 151p. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos). Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas.

- CHUN, K., SOHN, Y., KIM, O., PARK, K., LEE, J., MOON, A., LEE, S., SURH, Y. Anti-tumor promoting potential of naturally occurring diarylheptanoids structurally related to curcumin. *Mutat. Res.*, **1999**, 49-57.
- CRC, Handbook of medicinal herbs, James A. Duke, CRC press, Inc. Boca Raton, Florida, 2000, pp.677.
- DE SOUZA, K. C. B.; SCHAPOVAL, E. E. S.; BASSANI, V.L. Determination of flavonoids: separation of quercetin, luteolin and 3-O-methylquercetin in *Achyrocline satureioides* preparations. *J. Pharmac. Biomed. Analys.*, **2002**, 28, 771–777.
- FERRARO, G. E.; NORBED, C.; CUSSIO, J. D. Polyphenols from *Achyrocline satureioides* *Phytochem.* **1981**, 20, 2053-2054.
- FRANÇA, L. F, REBER, G., MEIRELES, M. A. A., MACHADO, N. T., BRUNNER, G. Supercritical extraction of carotenoids and lipids from bacuri (*Mauritia flexuosa*), a fruit from Amazon region. *J. Supercr. Fluid.* **1999**, 14, 247-256.
- GANG, D.R., WANG, J., DUDAREVA, N., NAM, H. K., SIMON, J.E. An investigation of the storage and biosynthesis of phenylpropenes in sweet basil. *Plant Physiol.*, **2001**, 125, 539-555.
- GRAYER, R. J. BRYAN, S. E. VEITCH, N. C., GOLDSTONE, F. J., PATON, A., WOLLENWEBER, E. External flavones in sweet basil, *Ocimum basilicum*, and related taxa. *Phytochem.*, **1996**, 43(5), 1041-1047.
- GUGLIUCCI, A.; MENINI, T. Three different pathways for human LDL oxidation are inhibited in vitro by water extracts of the medicinal herb *Achyrocline satureioides*. *Life Sci.* **2002^a**, 71, 693-705.

- GUGLIUCCI, A.; MENINI, T. The botanical extracts of *Achyrocline satureioides* and *Ilex paraguariensis* prevent methylglyoxal-induced inhibition of plasminogen and antithrombin III, *Life Sci.* **2002^b**, 72, 279-292.
- HARSH, P. B., WALKER, T.S., SCHWEIZER, H.P., VIVANCO, J.M. Root specific elicitation and antimicrobial activity of rosmarinic acid in hairy root culture of *Ocimum basilicum*. *Plant Physiol and Bioch*, **2002**, 983-995.
- HARTONEN, K, INKALA, K., KANGAS, M., RIEKKOLA, M. L. Extraction of polychlorinated biphenyls with water under subcritical conditions, *J. Chromatogr. A*, **1997**, 785, 219-226.
- HAWTHORNE, S.B., YANG, Y., MILLER, D.J. Extraction of organic pollutants from environmental solids with sub and supercritical water. *Anal. Chem.*, **1994**, 66, 2912-2920.
- JACOBS, M. The chemical analysis of food and food products. 3^a ed. Robert Krieger Publishing Co. inc., **1973**, p. 21-28.
- JAVANMARDI, J., STUSHNOFF, C., LOCKE, E., VIVANCO, J.M., Antioxidant activity and total phenolic content of Iranian *Ocimum* accessions, *Food Chem.*, **2003**, 83, 547-550.
- JAYASINGHE, C., GOTOH, N. AOKI, T., WADA, S. Phenolics Composition and Antioxidant Activity of Sweet Basil (*Ocimum basilicum* L.). *J. Agric. Food Chem.*, **2003**, 51, 4442-4449.
- KADARIAN C.; BROUSSALIS, A. M.; MINO, J.; LOPEZ, P.; GORZALCZANY, S.; FERRARO, G.; ACEVEDO, C. (2002), Hepatoprotective activity of *Achyrocline satureioides* (LAM) D.C., *Pharmacological Res.* **2002**, 45, 57-61.

- KIRAN, E., BRENNECKE, J. F. *Supercritical fluid engineering science: fundamentals and application*. Washington, ACS, **1993**, pp.410.
- KRONHOLM, J., KALPALA, J., HARTONEN, K., RIELLOLA, M.L., Pressurized hot water extraction coupled with supercritical water oxidation in remediation of sand and soil containing PAHs, *J. Supercr. Fluids*, **2002**, 23, 123-124.
- LAGADEC, A. J. M., MILLER, D. J., LILKE, A. V., HAWTHORNE, S. B. Pilot-Scale subcritical water remediation of polycyclic aromatic hydrocarbon and pesticide-contaminated soil. *Environ. Sci. Technol.* **2000**, 34, 1542-1548.
- LEAL, M. C. F., MOURA, L. S., CARVALHO JÚNIOR, R. N., MEIRELES, M. A. A. *Termofis*, **2002**, Software não registrado.
- LEAL, P. F.; BRAGA, M. E. M.; SATO, D. N.; CARVALHO, J. E.; MARQUES, M. O. M.; MEIRELES, M. A. A. Functional properties of spice extracts obtained via supercritical fluid extraction. *J. Agric. Food Chem.* **2003^a**, 51, 2520-2525.
- LEAL, P. F., SATO, D. N., CHAVES, F. C. M., MING, L. C., MARQUES, M. O. M., MEIRELES, M. A. A. Antioxidant and antimycobacterial activities of basil (*Ocimum gratissimum*) extracts obtained by SFE. In: PROCEEDINGS OF THE 6th INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON SUPERCRITICAL FLUIDS, TOME 1: Natural Products – Process & Equipament Development. Chairmen: G. Brunner, I. Kikic and M. Perrut. (28 A 30/04/2003), **2003^b**, Versailles, França. p.183-188.
- LEAL, P.F, QUEIROGA, C.L., RODRIGUES, M.V.N., MONTANARI, I.M.J., MEIRELES, M.A.A. Supercritical Extraction from *Achyrocline alata* and *Achyrocline satureioides*: Global Yields and Chemical Composition of the Extracts. In: V BRASILIAN MEETING ON SUPERCRITICAL FLUIDS (21 A 23/04/2004), **2004**, Florianópolis.

- LEE, S. J., UMANO, K., SHINBAMOTO, T., LEE, K. G. Identification of volatile components in basil (*Ocimum basilicum* L.) and thyme leaves (*Thymus vulgaris* L.) and their antioxidant properties. *Food Chem.* 2005, 91(1), 131-137.
- LIU, S., CUI, M., LUI, Z., ZONG, F. Structural analysis of saponin from medicinal herbs using electrospray ionization tandem mass spectrophotometry. *J. Am. Soc. Mass Spectro.* **2004**, 15, 133-141.
- MAIA, N.B., CARMELLO, Q.A.C, MARQUES, M.O.M. Sistema automático de fornecimento de soluções nutritivas para plantas cultivadas em vaso. *Sci. Agric.* **1999**, v.56, n.1, p.103-109.
- MEIRELES, M. A. A. Tecnologia supercrítica aplicada ao processamento de óleos essenciais, óleos vegetais, corantes e estévia. (Projeto Temático da FAPESP: 1999/01692-1), **1999**.
- MEIRELES, M. A. A. Supercritical extraction from solid process desing data (2001-2003), *Current Opinion in Solid State and Materials Science.* **2003**, 7, 321-330.
- MILLER D. J., HAWTHORNE S. B., GIZIR A. M., CLIFFORD A. A., Solubility of polycyclic aromatic hydrocarbons in subcritical water from 298 to 498 K, *J. Chem. Eng. Data* **1998**, 43, 1043-1047.
- MONTEIRO, A. R., MEIRELES, M. A. A., MARQUES, M. O., PETENATE, A. J. Extraction of the soluble material from the shells of bacuri fruit (*Platonia insignis* Mart) with pressurized CO₂ and other solvents. *J. Superc. Fluids*, **1997**, 11, 91-102.
- MORESCHI, S. R. M. Hidrólise, com água subcrítica e CO₂, do amido e celulose presente no resíduo de extração supercrítica de gengibre (*Zingiber officinale* Roscoe): produção de oligossacarídeos. 2004, 103p. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos). Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas.

- MOURA, L. S. Obtenção por extração supercrítica do extrato de funcho (*Foeniculum vulgare*): determinação das isotermas de rendimento global, de parâmetros cinéticos, e do equilíbrio de fases. 2004. 149p. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos). Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas.
- NAKATANI, N. Antioxidantive, antimicrobial constituents of herbs and spices. In *Herbs, Species and Edible Fungi*; Charalambous. G., Ed. Elsevier Science: Amsterdam, The Netherlands, **1994**, p.764.
- NISHIMOTO, N., NAKAI, S., TAKAGI, N., HAYASHI, S., TAKEMOTO, T., ODASHIMA, S., KIZU, H., WADA, Y. Pfaffosidios and nortriterpenoid saponins from *Pfaffia paniculata*. *Phytochem.* **1984**, 23, 139-142.
- NIST, The National Institute of Standards and Technology, Data from NIST Standard Reference Database 69 of March 2003, Disponível em NIST Chemistry WebBook, <<http://weebbook.nist.gov/cgi/fluid>> acesso em abril e novembro de 2004.
- NESS, A.R., POWLES, J.W. Fruit and vegetables and cardiovascular diseases: a review. *International Journal of Epidemiology*, **1997**, 26, 1-3.
- OFFIAH, V. N., CHIKWENDER, U.A. Antidiarrhoeal effects of *Ocimum gratissimum* leaf extract in experimental animals. *J. Ethnopharmacol.*, **1999**, 68, 327-330.
- OPALCHENOVA, G., OBRESHKOVA, D. Comparative studies on the activity of basil – an essential oil from *Ocimum basilicum* L. – against multidrug resistant clinical isolates of the genera *Staphylococcus*, *Enterococcus* and *Pseudomonas* by using different test methods. *J. Microbiol. Met.* **2003**, v.54, 105-110.
- PASQUEL – RUIZ, A. Extração dos glicosídeos da estêvia com fluidos pressurizados. 1999. 170p. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos). Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas.

- PELLERIN, P. Extraction of natural raw material for the flavor industry. *Perfumer & Flavorist*. **1991**, 56, 37-41.
- PEREZGUITIERREZ, R.M., PEREZGUTIERREZ, S., PEREZGONZALEZ, C., ZAVALA, M.A., PEREZ, C. Action of extracts from some Mexican plants on the cardiovascular-system. *Phyton-Inter. J. Exp. Bot.*, **1992**, 53(2), 111-116.
- PEREIRA, C. G. Extração de alcalóides indólicos de *Tabernaemontana catharinensis* (DC.) com dióxido de carbono supercrítico + etanol. 2002. 153p. Tese (Mestrado em Engenharia de Alimentos). Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas.
- PEREIRA, C.G., LEAL, P.F.; SATO, D.N., MEIRELES, M.A.A. SFE of Pharmacological Compounds from *Tabernaemontana catharinensis*: Analysis of the Antioxidant and Antimycobacterial Activities. In: PROCEEDINGS OF THE 6th INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON SUPERCRITICAL FLUIDS, TOME 1: Natural Products – Process & Equipament Development. Chairmen: G. Brunner, I. Kikic and M. Perrut. (28 A 30/04/2003), **2003**, Versailles, França. p.195-200.
- PERRUT, M. Supercritical fluid application: industrial development and economic issues, *Ind. Eng. Chem. Res.*, **2000**, 39, 4531-4535.
- PESEK, C.A., WILSON, L.A., Hammond, E.G., Spice quality: effect of cryogenic and ambient granging on volatile, *J. Food Sci*, **1985**, 50(3), 599-601.
- PUHLMANN, J.; KNAUS, U.; TUBARO, L.; SCHAEFER, W.; WAGNER, H. Immunologically active metallic ion-containing polysaccharides of *Achyrocline satureioides*. *Phytochem*. **1992**, 31, 2617-2621.
- QUISPE-CONDORI, S. Q. Avaliação de metodologias experimentais para a determinação do coeficiente de difusão efetivo na extração de óleos essenciais com fluidos

- supercríticos. 2002. 140p. Tese (Mestrado em Engenharia de Alimentos). Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas.
- RIZVI, S.S.H., *Supercritical Fluid Processing of Food and Biomaterials*, 1st Ed. *Blackie Academic & Professional, Chapman & Hall*, Glasgow, UK, **1994**.
- ROCHA, M. J. A.; FULGENCIO, S. F.; RABETTI, A. C.; NICOLAU, M.; POLI, A.; SIMÕES, C. M. O.; RIBEIRO-DO-VALLE, R. M. Effects of hydroalcoholic extracts of *Portulaca pilosa* and *Achyrocline satureioides* on urinary sodium and potassium excretion. *J. Ethnopharmacol* **1994**, 43, 179-183.
- RODRIGUES, R. A. F.; QUEIROGA, C. L.; RODRIGUES, M. V. N.; FOGLIO, M. A.; SARTORATTO, A.; MONTANARI JR, I. J. *Essent. Oil Res.* **2002**, 14(4), 280-281.
- RODRIGUES, V. M.; ROSA, P. T. V.; MARQUES, M. O. M.; PETENATE, A. J.; MEIRELES, M. A. A. Supercritical extraction of essential oil from aniseed (*Pimpinella anisum* L) using CO₂: solubility, kinetics, and composition data. *J. Agric. Food Chem.* **2003**, 51, 1518-1523.
- RUFFA, M. J.; FERRARO, G. E.; WAGNER, M. L.; CALCAGNO, M. L.; CAMPOS, R. H.; CAVALARO, L. Cytotoxic effect of Argentine medicinal plant extracts on human hepatocellular carcinoma cell line. *J. Ethnopharmacol*, **2002**, 79, 335–339.
- SANDLER, S. I. *Chemical and Engineering Thermodynamics*, 2^a Ed., Wiley Series, **1989**, pp.622.
- SBC, Sociedade Brasileira de Cardiologia, Desenvolvido pela Sociedade Brasileira de Cardiologia, vinculado ao Ministério da Saúde, **2004**, Apresenta Informações ao público e médicos. Disponível em < <http://www.prevenção.cardiol.br> > acesso em novembro, 2004.

- SHERWIN, E. R. Antioxidants for food, fats and oils. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **1972**, 49(8), 468.
- SHYU, G.S., HANIF, N. S. M., HALL, K. R., EUBANK, P. T., Carbon dioxide-water phase equilibria results from the Wong-Sandler combining rules, *Fluid Phase Equilib.* **1997**, 130, 73-85.
- SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; BAUER, L.; LANGELOH, A. pharmacological investigations on *Achyrocline satureioides* (LAM.) DC., Compositae, *J. Ethnopharmacol.* **1988**, 22, 281- 293.
- SKERGET M., Kotnik, P., Hadolin, M., Hräs, A. R., Simonic, M., Knez, Z., Phenols, proanthocyanidins, flavones and flavonols in some plant materials and their antioxidant activities, *Food Chem.*, **2005**, 89, 191-198.
- TAPIERO, H.; TOWNSEND, D. M.; TEW, K. D. Phytosterols in the prevention of human pathologies. *Biomed. & Pharmacot.* **2003**, 57, 321-325.
- VIEIRA, R. F.... [et al.], Estratégias para conservação e manejo de recursos genéticos de plantas medicinais e aromáticas: Resultados da 1ª Reunião Técnica, Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia / Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais renováveis (Ibama) / Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), **2002**.
- YAMASAKI, K. NAKANO, M. KAWAHATA, T., MORI, H., OTAKE, T., UEBA, N., OISHI, I., INAMI, R., YAMANE, M., NAKAMURA, M., MURATA, H., NAKANISHI, T. Anti-HIV-1 activity of herbs in Labiatae. *Biol. Pharm. Bull.*, **1998**, 21(8), 829-833.
- YODA, S. K. Estudo da cinética de extração dos glicosídeos da *Stevia reubadiana* Bertoni com mistura CO₂ + água. 2001. 202p. Tese (Mestrado em Engenharia de

Alimentos). Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas.

ZANCAN, K, C. Obtenção de extrato de gengibre (*Zingiber officinale* Roscoe) com dióxido de carbono supercrítico e co-solventes: um estudo da atividade biológica dos extratos. 2001. 107p. Tese (Mestrado em Engenharia de Alimentos). Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas.

ZANCAN, K. C.; MARQUES, M. O. M.; PETENATE, A. J.; MEIRELES, M. A. A. Extraction of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) oleoresin with CO₂ and co-solvents: a study of the antioxidant action of the extracts. *J. Supercrit. Fluids*. **2002**, 24, 57-76.

8. ANEXO

8.1 Lista de Produção Científica e Técnica (2003 a 2004)

8.1.1 Artigo Publicado em Periódico Indexado

LEAL, P. F., BRAGA, M. E., SATO, D. N., CARVALHO, J. E., MARQUES, O. M., MEIRELES, M. A. A., Functional properties of Spice Extracts Obtained via Supercritical Fluid Extraction, *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 2003;51(9); p.2520-2525.

Abstract:

Supercritical fluid extraction (SFE) has proved to produce extracts without organic residues; the process is considered to be environmentally friend. The process temperature can be kept relatively low (in general, below 40 °C for the majority of extracts from aromatic, medicinal, and spices plants), the extracts containing thermo sensitive substances may retain their bioactivity; thus, the extract quality is superior to extracts obtained by conventional methods such as steam distillation or organic solvent extraction. In the present work the functional properties of SFE extracts obtained from ginger (*Zingiber officinale* Roscoe), rosemary (*Rosmarinus officinalis*), and turmeric (*Curcuma longa* L.) were evaluated; the extracts were obtained using supercritical CO₂ with and without ethanol and/or isopropyl alcohol as cosolvent. The antioxidant power was assessed using the coupled reaction of β -carotene and linolenic acid, the bactericide activity against *M. tuberculosis* was measured by the MABA test; the chemiopreventive action was tested against nine human cancer ancestry: lung, breast, breast resistant, melanoma, colon, prostate, leukemia, and kidney.

8.1.2 Trabalhos Completos Publicados em Anais de Eventos Científicos

LEAL, P.F, MAIA, N.B., CARMELLO, Q.A.C., MEIRELES, M.A.A. Supercritical Extraction from *Ocimum basilicum* Using CO₂ and CO₂ + H₂O: Global Yields and Antioxidant Activity of the Extracts. In: V BRAZILIAN MEETING ON SUPERCRITICAL FLUIDS (21 A 23/04/2004), 2004, Florianópolis

Abstract:

The global yields isotherms for the system sweet basil + CO₂ + H₂O were obtained from hydroponics sweet basil cultivated in solutions with different content of nitrogen. Water was used as cosolvent (1%, v/v) at temperatures of 30 °C and 50 °C; at 30 °C the cosolvent was also used at 20 and 30% (v/v). The global yields were determined for pressures of 100, 150, 200, 250 and 300 bar; dried leaves were used. The antioxidant activities of extracts were determined by the coupled oxidation of linolenic acid and β -carotene.

LEAL, P.F, QUEIROGA, C.L., RODRIGUES, M.V.N., MONTANARI, I.M.J., MEIRELES, M.A.A. Supercritical Extraction from *Achyrocline alata* and *Achyrocline satureioides*: Global Yields and Chemical Composition of the Extracts. In: V BRAZILIAN MEETING ON SUPERCRITICAL FLUIDS (21 A 23/04/2004), 2004, Florianópolis.

Abstract:

The *Achyrocline* genus embodies several species widely spread in several Latin America countries. *A. alata* and *A. satureioides* are especially important because of the presence of flavones, flavonones, and flavonoides associated with several functional properties, such as antioxidant, anti-inflammatory, antiulcerative, antihepatotoxic, vasodilatory, antiviral, and antiplatelet activities. In the present work the global yields isotherms for the system *A. alata* and *A. satureioides* were determined using a SFE unit (Applied Separations) using 3 g of cut leaves. Leaves from *A. alata* and *A. satureioides* collected in the Experimental Field of CPQBA were used. The assays were done at pressures of 100, 200, and 300 bar and temperatures of 30 and 40 °C. The extraction time was 1 hour and the assays were replicated. The chemical constituents of the extract and volatile oil were identified by GC-MS (Hewlett Packard 5980/5971) equipped with HP-5 column (25 m $\times$ 0.2 mm $\times$ 0.33 μ m). The identification of the chemical constituents was based on the comparison of their retention indices and mass spectra with those obtained from authentic samples and NIST-98, Wiley libraries' spectra as well as with literature data. The quantification of the substances was done by GC-FID (Shimadzu, GC 17A) equipped with a capillary column DB-5 (30 m $\times$ 0.25 mm $\times$ 0.25 μ m, J&W Scientific) and split injector.

LEAL, P.F., SATO, D.N., CHAVES, F.C.M., MING, L.C., MARQUES, M.O.M., MEIRELES, M.A.A. Antioxidant and Antimycobacterial Activities of Basil (*Ocimum gratissimum*) Extracts Obtained by SFE. In: PROCEEDINGS OF THE 6TH INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON SUPERCRITICAL FLUIDS, TOME 1: Natural Products – Process & Equipment Development. Chairmen: G. Brunner, I. Kikic and M. Perrut. (28 A 30/04/2003), 2003, Versailles, França. p.183-188.

Abstract:

The effects of fertilization and harvesting time on the global yield, antioxidant activity, and antimycobacterial activity for the system basil (*Ocimum gratissimum*) + CO₂ was studied. The SFE extracts were obtained at 40° C and pressure of 100, 150, 200, 250 and 300 bar. The crude extracts were analyzed by Gás-chromatography/Mass-Spectrometry (GC-MS), and Gás-chromatography/Flame Ionization Detector (GC-FID). The antioxidant activity was assessed using the couple reaction of beta-carotene by Microplate Alamar Blue Assay (MABA) technique. The global yields varied with the fertilization and harvesting period, and were pressure dependent: at 200 bar the highest yield (1.6%) was obtained from plants cultivated with no fertilization: for plants cultivated with fertilization the global yield increase continuously with pressure from 0.6 to 2% (100 to 300 bar). The major compounds in the extracts were eugenol (61%, área), beta-selinene (10%, área), trans-caryophyllene (3%, área), 1,8 cineol (1.5%, área), and alpha-selinene (3%, área). The antioxidant activities were above 90% for all extracts. The lowest MIC (64µg/mL) as detected for the extract obtained at 250 bar.

8.1.3 Trabalhos Resumidos Publicados em Anais de Eventos

LEAL, P.F, MAIA, N.B., CARMELLO, Q.A.C., MEIRELES, M.A.A. Antioxidant activity of hydroponics sweet basil (*Ocimum basilicum*) extracts using supercritical carbon dioxide and water. 11TH INTERNATIONAL SYMPOSIUM & EXHIBIT ON SUPERCRITICAL FLUID CHROMATOGRAPHY, EXTRACTION, AND PROCESSING (29 A 05/08/2004), 2001, Pittsburg, USA. Final Program 11th International Symposium & Exhibit on Supercritical Fluid Chromatography, Extraction, and Processing. 2004. p.C-02.

Referências adicionais: Classificação do evento: Internacional; Estados Unidos/Inglês; Meio de divulgação: Impresso.

LEAL, P.F, TAKEUCHI, T.M., VASCONCELOS, C.M.C., MEIRELES, M.A.A., Enriched fractions of artemisinic acid and dihydroepideoxiartenuin B by column chromatography from *Artemisia annua* extracts obtained via different extraction methods. 11TH INTERNATIONAL SYMPOSIUM & EXHIBIT ON SUPERCRITICAL FLUID CHROMATOGRAPHY, EXTRACTION, AND PROCESSING (29 A 05/08/2004), 2004, Pittsburg, USA. Final Program 11th International Symposium & Exhibit on Supercritical Fluid Chromatography, Extraction, and Processing. 2004. p. C-05.

Referências adicionais: Classificação do evento: Internacional; Estados Unidos/Inglês; Meio de divulgação: Impresso.

LEAL, P. F., CHAVES, F. M., MARQUES, M. O. M., MING, L. C., MEIRELES, M. A. A. Influência da Dosagem de Adubo Orgânico na Composição dos Extratos de *Ocimum gratissimum* Obtidos pó ESC. In: IV CONGRESO IBEROAMERICANO DE INGENIERÍA DE ALIMENTOS (IV CIBIA): PROYECTANDO EL PROCESAMIENTO DE ALIMENTOS DESDE LA NANOTECNOLOGIA A LA INGENIERÍA CLÁSICA, (5 A 8/10/2003), 2003, Valparaíso, Chile, p.153.

Referências adicionais: Classificação do evento: Internacional; Chile/Português, Espanhol; Meio de divulgação: Impresso.

8.1.4 Produção em Co-autoria

8.1.4.1 Publicação em Periódico Indexado

BRAGA, M. E., LEAL, P. F., CARVALHO, J.E., MEIRELES, M. A. A., Comparison of Yield, Composition, and Antioxidant Activity of Turmeric (*Curcuma longa* L.) Extracts Obtained Using Various Techniques, Journal of Agriculture and Food Chemistry, 2003; 51(22); p.6604-6611.

Abstract:

Turmeric extracts were obtained from two lots of raw material (M and S) using various techniques: hydrodistillation, low pressure solvent extraction, Soxhlet, and supercritical extraction using carbon dioxide and cosolvents. The solvents and cosolvents tested were ethanol, isopropyl alcohol, and their mixture in equal proportions. The composition of the extracts was determined by gas chromatography-flame ionization detection (GC-FID) and UV. The largest yield (27%, weight) was obtained in the Soxhlet extraction (tumeric (S), ethanol = 1:100); the lowest yield was detected in the hydrodistillation process (2.1%). For the supercritical extraction, the best cosolvent was mixture of ethanol and isopropyl alcohol. Sixty percent of the light fraction of the extracts consisted of α -turmerone, (Z)- γ -atlantone, and (E)- α -atlantone were detected. The maximum amount of curcuminoids (8.43%) was obtained using Soxhlet extraction (ethanol/isopropyl alcohol). The Soxhlet and low pressure extracts exhibited the strongest antioxidant activities.

8.1.4.2 Trabalhos Completos Publicados em Anais de Eventos

PEREIRA, C.G., LEAL, P.F., SATO, D.N., MEIRELES, M.A.A. SFE of Pharmacological Compounds from *Tabernaemontana catharinensis*: Analysis of the Antioxidant and Antimycobacterial Activities. In: PROCEEDINGS OF THE 6TH INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON SUPERCRITICAL FLUIDS, TOME 1: Natural Products – Process & Equipament Development. Chairmen: G. Brunner, I. Kikic and M. Perrut. (28 A 30/04/2003), 2003, Versailles, França. p.195-200.

Abstract:

In the present work the pharmacological activities of SFE extracts from *T. catharinensis* were evaluated. The SFE extracts were obtained using supercritical CO₂ plus ethanol as cosolvent (4.6 and 9.2% m/m) at pressures of 250 and 300 bar temperatures of 35, 45, and 55°C. The crude extracts were solvent-fractionated (hexanic fraction, alkaloid, and aqueous fractions) and analyzed by Thin-layer chromatography (TLC), and Gas-chromatography/Flame Ionization Detector (GC/FID). The antioxidant activity was measured by the coupled reaction of limonene acid and β -carotene; the antimycobacterial activity against *M. tuberculosis* was measured by Microplate Alamar Blue Assay (MABA) technique. The results show that the minimum antioxidant activity was approximately 55% (after 3 h of reaction) while the maximum was 92% (at the first hour of reaction). The highest antimycobacterial activity was detected in the alkaloidal fraction (MIC = 128 μ g/mL) while the aqueous fraction had the lowest antimycobacterial activity (MIC > 512 μ g/mL).

8.1.4.3 Trabalhos Resumidos Publicados em Anais de Eventos

PEREIRA, C. G., LEAL, P.F., SATO, D.N. LEITE, C.Q.F., MEIRELES, M.A.A., Pharmacological Compounds from *Tabernaemontana catharinensis* Obtained by Supercritical, 11TH INTERNATIONAL SYMPOSIUM & EXHIBIT ON SUPERCRITICAL FLUID CHROMATOGRAPHY, EXTRACTION, AND PROCESSING (29 A 05/08/2004), 2004, Pittsburg, USA. Final Program 11th International Symposium & Exhibit on Supercritical Fluid Chromatography, Extraction, and Processing. 2004. p. C-03.

Referências adicionais: Classificação do evento: Internacional; Estados Unidos/Inglês; Meio de divulgação: Impresso.

SATO, D.N., PEREIRA, F.M., LEAL, P.F., BRAGA, M.E., M.EIRELES, M.A.A., LEITE, C.Q.F. Avaliação *in Vitro* da Atividade Antimicrobacteriana de Extratos de *Rosmarinus sp.*, *Eugenia sp.*, *Tabernaemontana sp.* E *Ocimum sp.* Utilizando um Método Bioluminescente. In: VI JORNADA PAULISTA DE PLANTAS MEDICINAIS: TECNOLOGIA E SAÚDE (26 A 29/10/2003), 2003, São Pedro/S.P.^{8.24}

Referências adicionais: Classificação do evento: Regional; Brasil/Português; Meio de divulgação: Impresso.

8.1.5 Co-orientação de Alunos de Iniciação Científica

Encarregada pelo treinamento, supervisão e co-orientação dos alunos de graduação da Faculdade de Engenharia de Alimentos Marina Bascherotto Kfoury (Registro Acadêmico N° 016889) e Fábio da Costa Alexandre (Registro Acadêmico N° 015992) desde janeiro de 2004. Ambos com Bolsa aprovada pelo SAE/UNICAMP em vigor de 01 de agosto de 2004 a 31 de julho de 2005.

Título dos Projetos:

“Estudo da ação antioxidante e análise da composição química de extratos de *Pfaffia glomerata* (ginseng brasileiro) obtidos por extração supercrítica com CO₂ e outras técnicas de extração.”

“Obtenção de extratos de ginseng brasileiro (*Pfaffia paniculata*) por extração supercrítica, extração com etanol e hidrodestilação: um estudo da composição química dos extratos e de sua ação antioxidante.”

^{8.24} Este trabalho recebeu prêmio “Prof. Dr. Francisco de Abreu Matos” como um dos melhores trabalhos apresentados na VI Jornada de Plantas Medicinais, realizada de 26 a 29 de Outubro de 2003, no Hotel Fonte Colina Verde, em São Pedro, SP.

8.2 Código dos experimentos de extração

Tabela 8. 1 Código dos experimentos de extração do manjeriço, *A. alata* (macela_a) e *A. saturioides* (macela_s).

Código	Matéria-prima	Pressão, bar	Temperatura, °C	Co-solvente água, % (v/v)
EX09	manjeriço	100	30	20
EX10	manjeriço	100	30	20
EX11	manjeriço	150	30	20
EX12	manjeriço	150	30	20
EX13	manjeriço	200	30	20
EX25	manjeriço	200	30	20
EX16	manjeriço	250	30	20
EX17	manjeriço	250	30	20
EX18	manjeriço	300	30	20
EX19	manjeriço	300	30	20
EX20	manjeriço	100	30	10
EX21	manjeriço	100	30	10
EX22	manjeriço	150	30	10
EX23	manjeriço	150	30	10
EX24	manjeriço	200	30	10
EX25	manjeriço	200	30	10
EX26	manjeriço	250	30	10
EX27	manjeriço	250	30	10
EX28	manjeriço	300	30	10
EX29	manjeriço	300	30	10
EX31	manjeriço	100	30	5
EX33	manjeriço	150	30	5
EX41	manjeriço	100	30	1
EX42	manjeriço	100	30	1
EX43	manjeriço	150	30	1
EX44	manjeriço	150	30	1
EX45	manjeriço	200	30	1
EX46	manjeriço	200	30	1
EX47	manjeriço	250	30	1
EX48	manjeriço	250	30	1
EX49	manjeriço	300	30	1
EX50	manjeriço	300	30	1
EX51	manjeriço	100	50	1
EX52	manjeriço	100	50	1
EX53	manjeriço	150	50	1
EX54	manjeriço	150	50	1
EX55	manjeriço	200	50	1
EX56	manjeriço	200	50	1

Continuação da Tabela 8.1.

Código	Matéria-prima	Pressão, bar	Temperatura, °C	Co-solvente água, % (v/v)
EX57	manjerição	250	50	1
EX58	manjerição	250	50	1
EX59	manjerição	300	50	1
EX60	manjerição	300	50	1
CPQBA01	<i>A alata</i>	100	40	0
CPQBA02	<i>A alata</i>	100	40	0
CPQBA05	<i>A alata</i>	200	40	0
CPQBA06	<i>A alata</i>	200	40	0
CPQBA07	<i>A alata</i>	300	40	0
CPQBA08	<i>A alata</i>	300	40	0
CPQBA09	<i>A alata</i>	100	30	0
CPQBA10	<i>A alata</i>	100	30	0
CPQBA11	<i>A alata</i>	200	30	0
CPQBA12	<i>A alata</i>	200	30	0
CPQBA13	<i>A alata</i>	300	30	0
CPQBA14	<i>A alata</i>	300	30	0
CPQBA15	<i>A satureioides</i>	100	30	0
CPQBA16	<i>A satureioides</i>	100	30	0
CPQBA17	<i>A satureioides</i>	200	30	0
CPQBA18	<i>A satureioides</i>	200	30	0
CPQBA27	<i>A satureioides</i>	300	30	0
CPQBA20	<i>A satureioides</i>	300	30	0
CPQBA28	<i>A satureioides</i>	100	40	0
CPQBA22	<i>A satureioides</i>	100	40	0
CPQBA23	<i>A satureioides</i>	200	40	0
CPQBA24	<i>A satureioides</i>	200	40	0
CPQBA25	<i>A satureioides</i>	300	40	0
CPQBA26	<i>A satureioides</i>	300	40	0

8.3 Resultado das extrações realizadas com diferentes condições de extração

8.3.1 Manjerição

Experimento 9

Tabela 8. 2 Experimento de extração de manjerição (EX09) realizada a 100 bar, 30 °C, 20% de co-solvente água, vazão de $6,35 \times 10^{-5}$ kg/s com massa inicial de matéria-prima de $3,03 \times 10^{-3}$ kg, $X_o = 21,4 \pm 0,2^{8.25}$ % (b.s.).

Tempo/60 (s)	Massa pontual/ 10^3 (b.s., kg)	Massa acumulada/ 10^3 (b.s., kg)
15	0,2908	0,2908
30	0,1335	0,4243
45	0,0675	0,4918
60	0,0495	0,5413
110	0,0412	0,5825

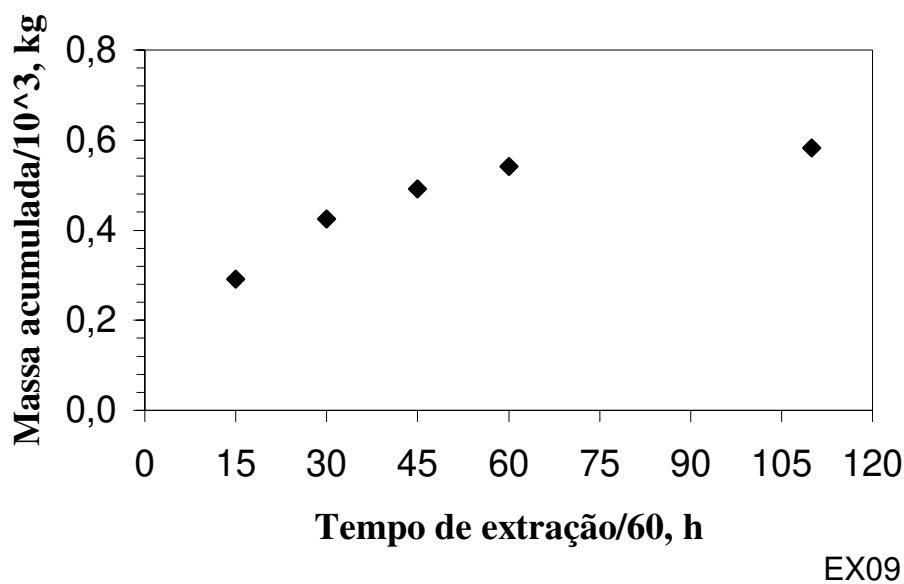


Figura 8. 1 Curva de extração do experimento 9.

^{8.25} Erro presumido. A planilha de cálculo encontra-se no **Anexo 8.8**.

Experimento 11

Tabela 8. 3 Experimento de extração de manjerição (EX11) realizada a 150 bar, 30 °C, 20% de co-solvente água, vazão de $5,82 \times 10^{-5}$ kg/s com massa inicial de matéria-prima de $3,01 \times 10^{-3}$ kg (b.u), $X_o = 17,9 \pm 0,2\%$ (b.s.).

Tempo/60 (s)	Massa pontual/ 10^3 (b.s., kg)	Massa acumulada/ 10^3 (b.s., kg)
15	0,3109	0,3109
30	0,0661	0,3770
45	0,0401	0,4171
60	0,0278	0,4449
110	0,0398	0,4847

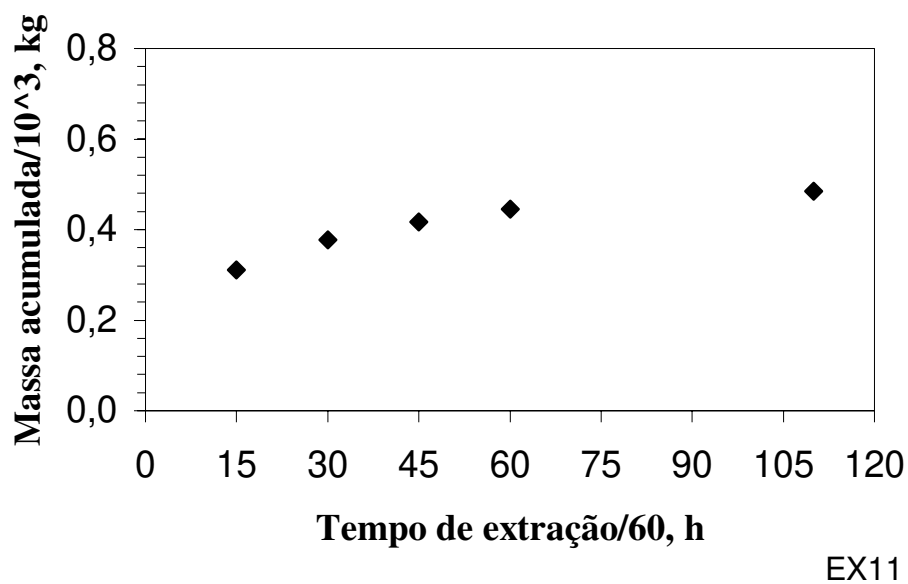


Figura 8. 2 Curva de extração do experimento 11.

Experimento 12

Tabela 8. 4 Experimento de extração de manjerição (EX12) realizada a 150 bar, 30 °C, 20% de co-solvente água, vazão de $5,85 \times 10^{-5}$ kg/s com massa inicial de matéria-prima de $3,01 \times 10^{-3}$ kg (b.u.), $X_o = 15,1 \pm 0,1\%$.

Tempo/60 (s)	Massa pontual/ 10^3 (b.s., kg)	Massa acumulada/ 10^3 (b.s., kg)
15	0,2656	0,2656
30	0,0677	0,3333
45	0,0340	0,3673
60	0,0214	0,3887
110	0,0200	0,4087

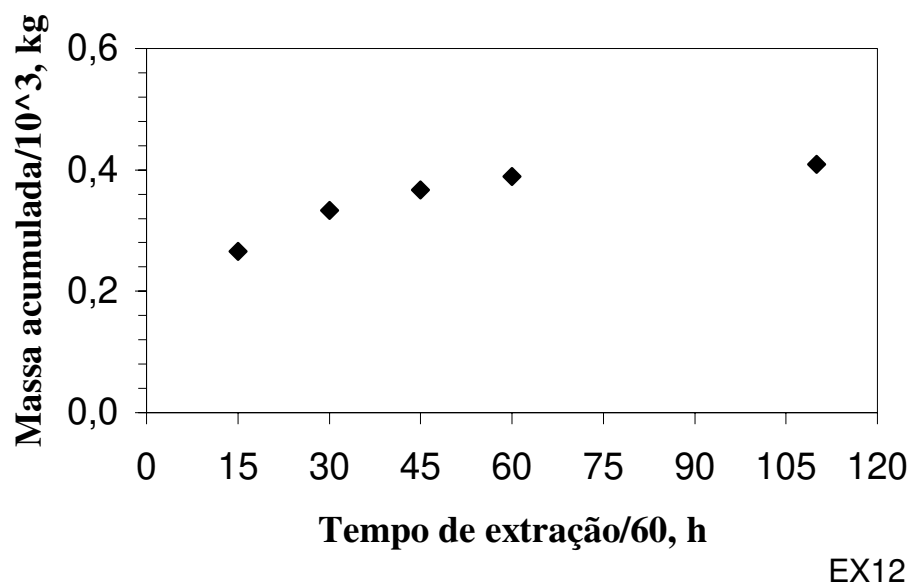


Figura 8. 3 Curva de extração do experimento 12.

Experimento 13

Tabela 8. 5 Experimento de extração de manjerição (EX13) realizada a 200 bar, 30 °C, 20% de co-solvente água, vazão de $5,58 \times 10^{-5}$ kg/s com massa inicial de matéria-prima de $3,00 \times 10^{-3}$ kg (b.u.), $X_o = 11,9 \pm 0,1\%$ (b.s.).

Tempo/60 (s)	Massa pontual/ 10^3 (b.s., kg)	Massa acumulada/ 10^3 (b.s., kg)
15	0,2194	0,2194
30	0,0421	0,2615
45	0,0226	0,2841
60	0,0151	0,2992
110	0,0212	0,3204

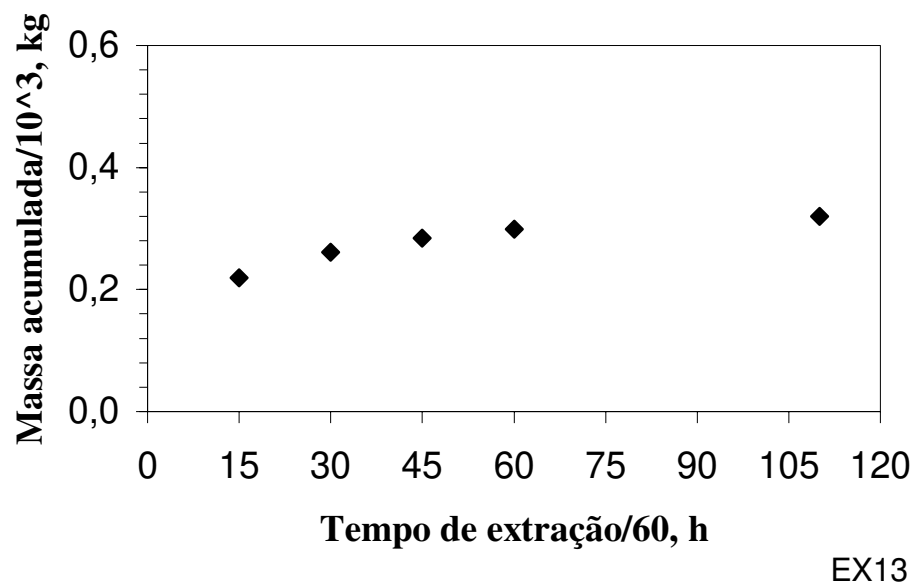


Figura 8. 4 Curva de extração do experimento 13.

Experimento 15

Tabela 8. 6 Experimento de extração de manjerição (EX15) realizada a 200 bar, 30 °C, 20% de co-solvente água, vazão de $5,63 \times 10^{-5}$ kg/s com massa inicial de matéria-prima de $3,03 \times 10^{-3}$ kg (b.u.), $X_o = 15,1 \pm 0,1\%$ (b.s).

Tempo/60 (s)	Massa pontual/ 10^3 (b.s., kg)	Massa acumulada/ 10^3 (b.s., kg)
15	0,2591	0,2591
30	0,0795	0,3386
45	0,0260	0,3646
60	0,0297	0,3943
110	0,0176	0,4119

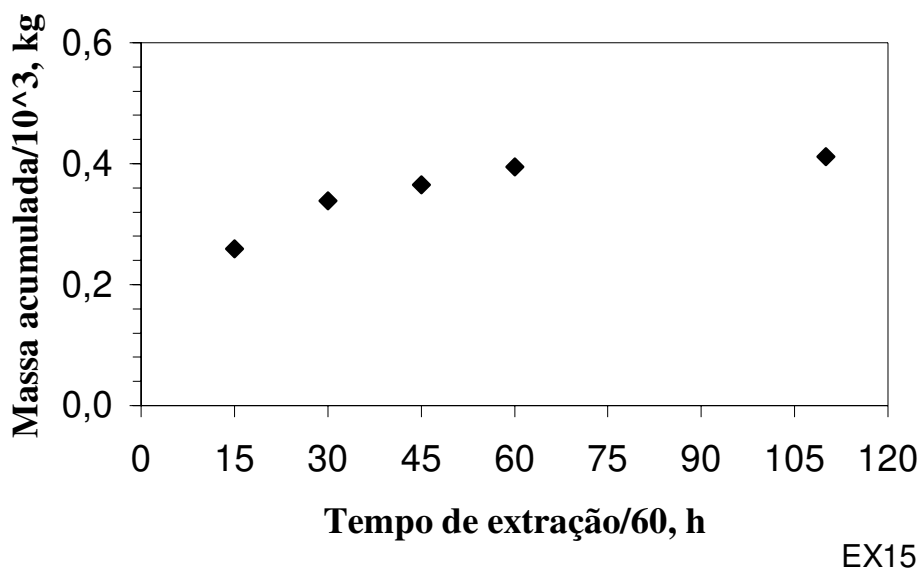


Figura 8. 5 Curva de extração do experimento 15.

Experimento 17

Tabela 8. 7 Experimento de extração de manjerição (EX17) realizada a 250 bar, 30 °C, 20% de co-solvente água, vazão de $5,87 \times 10^{-5}$ kg/s com massa inicial de matéria-prima de $3,00 \times 10^{-3}$ kg (b.u.), $X_o = 20,7 \pm 0,2\%$.

Tempo/60 (s)	Massa pontual/ 10^3 (b.s., kg)	Massa acumulada/ 10^3 (b.s., kg)
15	0,3833	0,3833
30	0,1142	0,4975
45	0,0307	0,5282
60	0,0163	0,5445
110	0,0145	0,5590

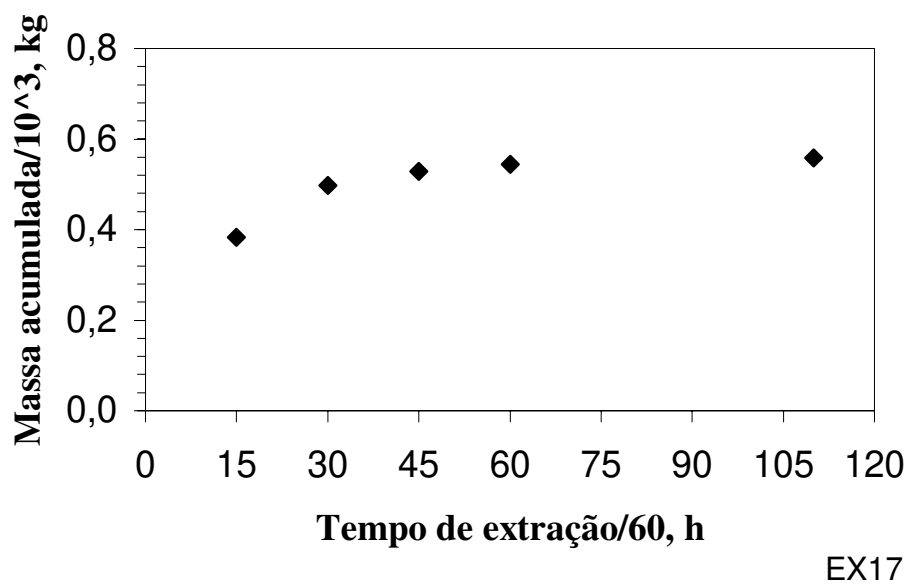


Figura 8. 6 Curva de extração do experimento 17.

Experimento 18

Tabela 8. 8 Experimento de extração de manjerição (EX18) realizada a 300 bar, 30 °C, 20% de co-solvente água, vazão de $5,77 \times 10^{-5}$ kg/s com massa inicial de matéria-prima de $3,00 \times 10^{-3}$ kg (b.u.), $X_o = 24,2 \pm 0,2\%$.

Tempo/60 (s)	Massa pontual/ 10^3 (b.s., kg)	Massa acumulada/ 10^3 (b.s., kg)
15	0,5438	0,56438
30	0,0513	0,5951
45	0,0286	0,6237
60	0,0145	0,6382
110	0,0158	0,6540

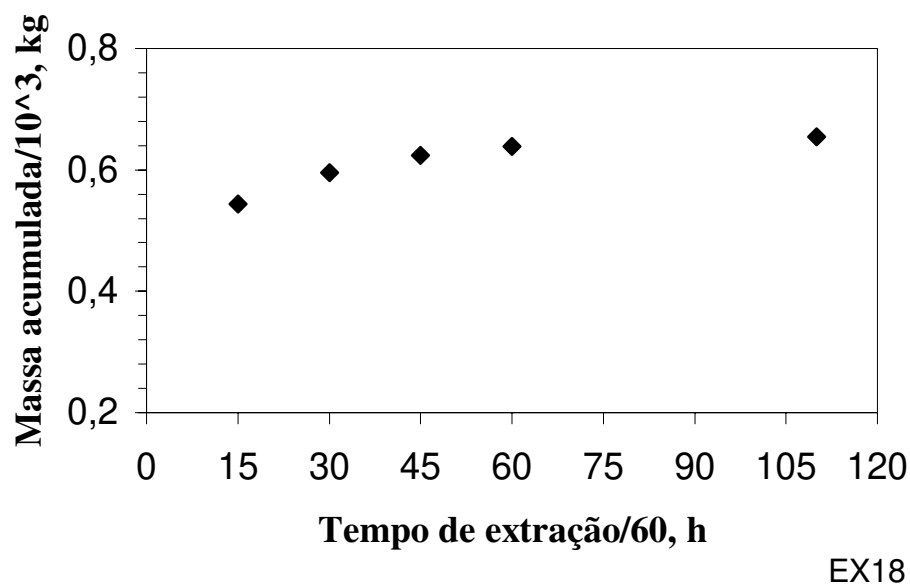


Figura 8. 7 Curva de extração do experimento 18.

Experimento 19

Tabela 8. 9 Experimento de extração de manjerição (EX19) realizada a 300 bar, 30 °C, 20% de co-solvente água, vazão de $5,30 \times 10^{-5}$ kg/s com massa inicial de matéria-prima de $3,03 \times 10^{-3}$ kg (b.u.), $X_o = 23,0 \pm 0,2\%$ (b.s.).

Tempo/60 (s)	Massa pontual/ 10^3 (b.s., kg)	Massa acumulada/ 10^3 (b.s., kg)
15	0,4844	0,4844
30	0,0671	0,5515
45	0,0314	0,5829
60	0,0206	0,6035
110	0,0208	0,6243

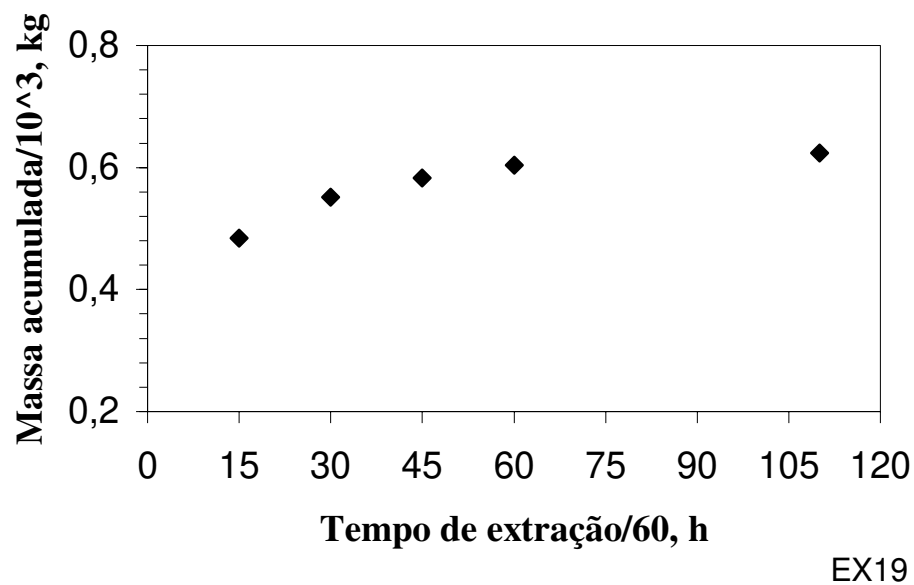


Figura 8. 8 Curva de extração do experimento 19.

Experimento 20

Tabela 8. 10 Experimento de extração de manjerição (EX20) realizada a 100 bar, 30 °C, 10% de co-solvente água, vazão de $6,76 \times 10^{-5}$ kg/s com massa inicial de matéria-prima de $2,99 \times 10^{-3}$ kg (b.u.), $X_o = 10,8 \pm 0,1\%$ (b.s.).

Tempo/60 (s)	Massa pontual/ 10^3 (b.s., kg)	Massa acumulada/ 10^3 (b.s., kg)
15	0,1892	0,1892
30	0,0404	0,2296
45	0,0260	0,2556
60	0,0183	0,2739
110	0,0170	0,2909

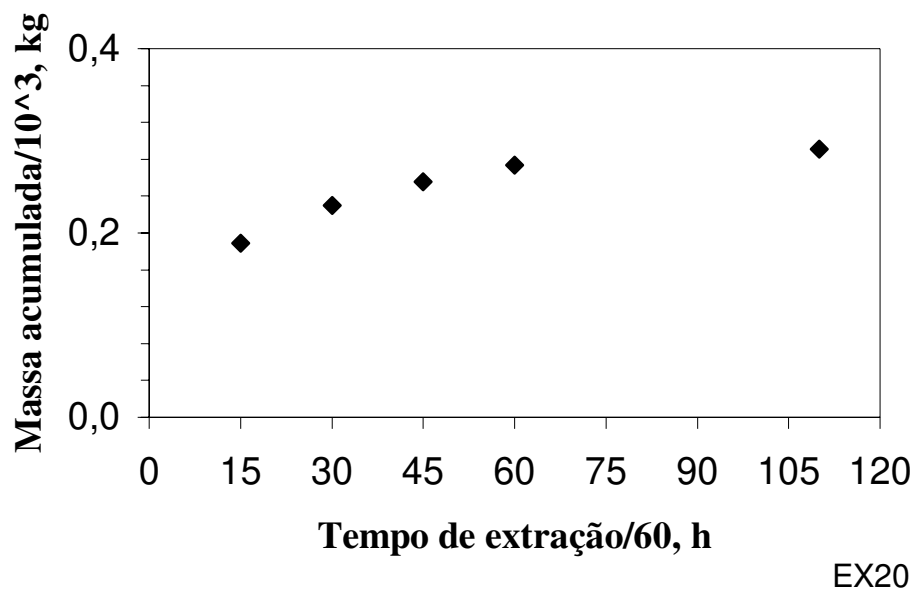


Figura 8. 9 Curva de extração do experimento 20.

Experimento 22

Tabela 8. 11 Experimento de extração de manjerição (EX22) realizada a 150 bar, 30 °C, 10% de co-solvente água, vazão de 6,58 kg/s com massa inicial de matéria-prima de $3,00 \times 10^{-3}$ kg (b.u.). $X_o = 9,2 \pm 0,2\%$ (b.s.).

Tempo/60 (s)	Massa pontual/ 10^3 (b.s., kg)	Massa acumulada/ 10^3 (b.s., kg)
15	0,1506	0,1506
30	0,0287	0,1793
45	0,0193	0,1986
60	0,0264	0,2250
110	0,0229	0,2479

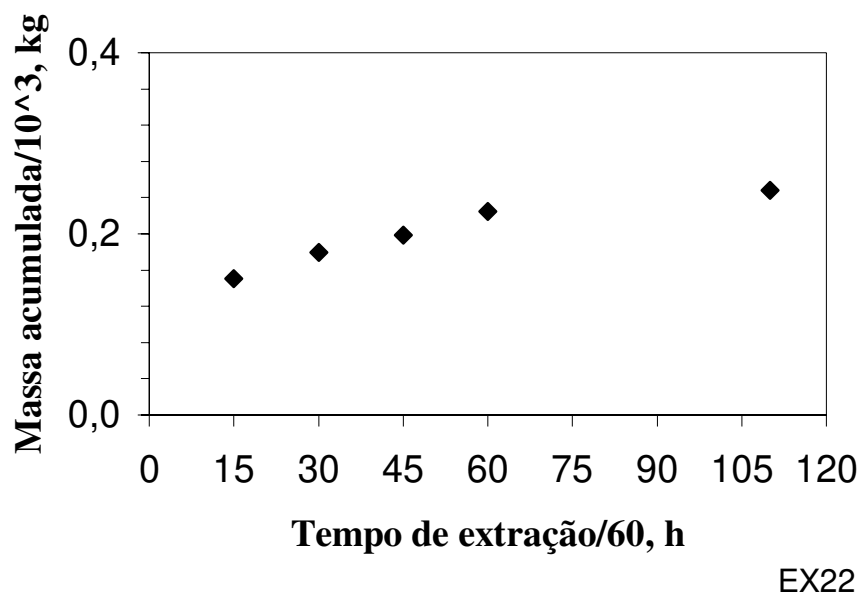


Figura 8. 10 Curva de extração do experimento 22.

Experimento 23

Tabela 8. 12 Experimento de extração de manjerição (EX23) realizada a 150 bar, 30 °C, 10% de co-solvente água, vazão de $6,80 \times 10^{-5}$ kg/s com massa inicial de matéria-prima de $3,01 \times 10^{-3}$ kg (b.u.), $X_o = 12,2 \pm 0,2\%$ (b.s).

Tempo/60 (s)	Massa pontual/ 10^3 (b.s., kg)	Massa acumulada/ 10^3 (b.s., kg)
15	0,1896	0,1896
30	0,0581	0,2477
45	0,0327	0,2804
60	0,0249	0,3053
110	0,0263	0,3316

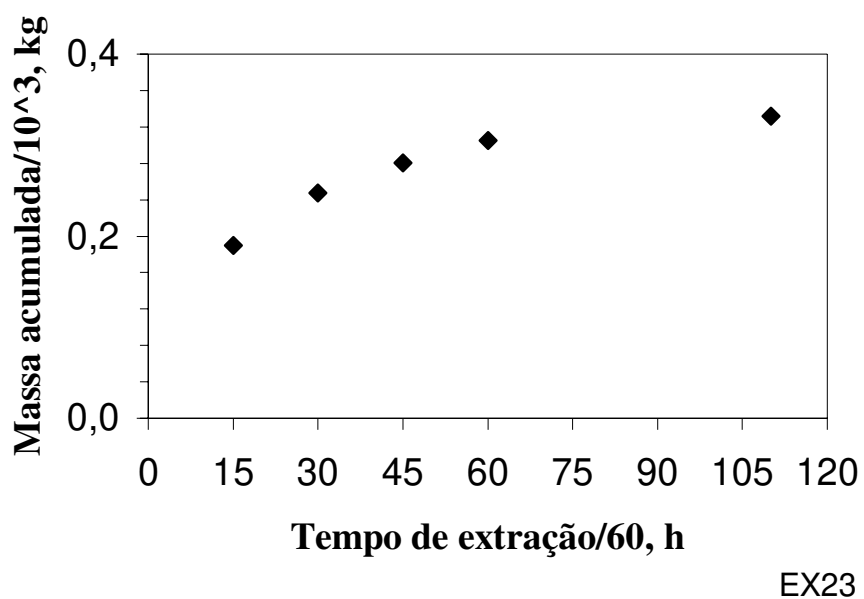


Figura 8. 11 Curva de extração do experimento 23.

Experimento 25

Tabela 8. 13 Experimento de extração de manjerição (EX25) realizada a 200 bar, 30 °C, 10% de co-solvente água, vazão de $6,20 \times 10^{-5}$ kg/s com massa inicial de matéria-prima de $2,98 \times 10^{-3}$ kg (b.u.), $X_o = 8,0 \pm 0,1\%$ (b.s.).

Tempo/60 (s)	Massa pontual/ 10^3 (b.s., kg)	Massa acumulada/ 10^3 (b.s., kg)
15	0,1331	0,1331
30	0,0252	0,1583
45	0,0179	0,1762
60	0,0165	0,1927
110	0,0209	0,2136

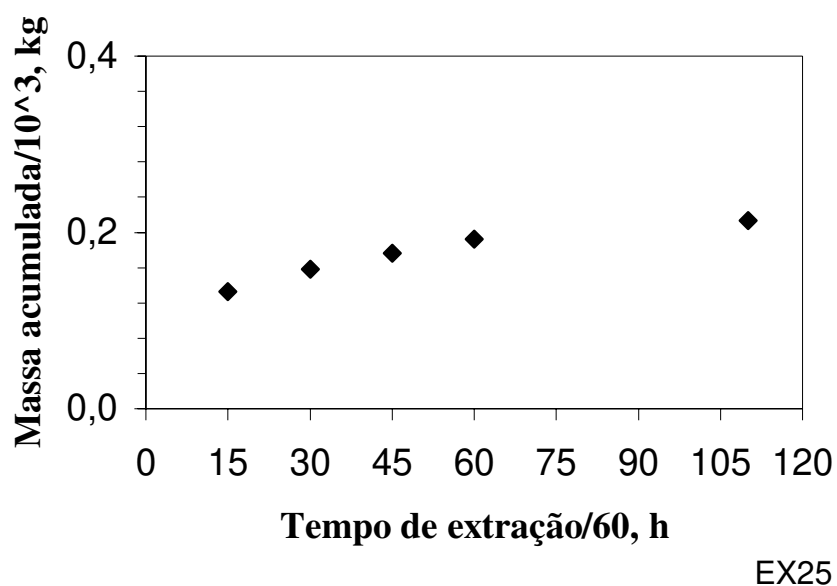


Figura 8. 12 Curva de extração do experimento 25.

Experimento 26

Tabela 8. 14 Experimento de extração de manjerição (EX26) realizada a 250 bar, 30 °C, 10% de co-solvente água, vazão de $4,47 \times 10^{-5}$ kg/s com massa inicial de matéria-prima de $3,03 \times 10^{-3}$ kg (b.u.), $X_o = 9,3 \pm 0,1\%$ (b.s.).

Tempo/60 (s)	Massa pontual/ 10^3 (b.s., kg)	Massa acumulada/ 10^3 (b.s., kg)
15	0,1249	0,1249
30	0,0429	0,1678
45	0,0274	0,1952
60	0,0271	0,2223
110	0,0295	0,2518

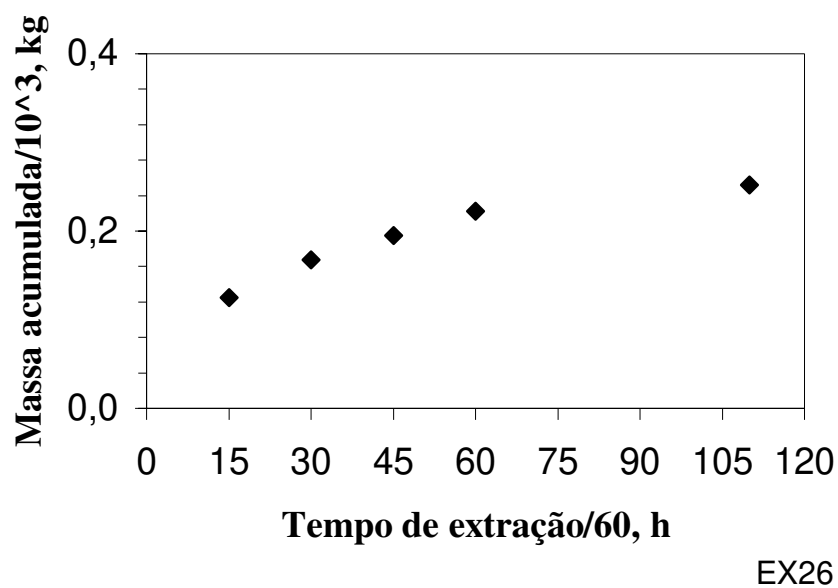


Figura 8. 13 Curva de extração do experimento 26.

Experimento 27

Tabela 8. 15 Experimento de extração de manjeriço (EX27) realizada a 250 bar, 30 °C, 10% de co-solvente água, vazão de $5,47 \times 10^{-5}$ kg/s com massa inicial de matéria-prima de $3,00 \times 10^{-3}$ kg (b.u.), $X_o = 9,2 \pm 0,1\%$ (b.s.).

Tempo/60 (s)	Massa pontual/ 10^3 (b.s., kg)	Massa acumulada/ 10^3 (b.s., kg)
15	0,1557	0,1557
30	0,0255	0,1812
45	0,0240	0,2052
60	0,0175	0,2227
110	0,0270	0,2497

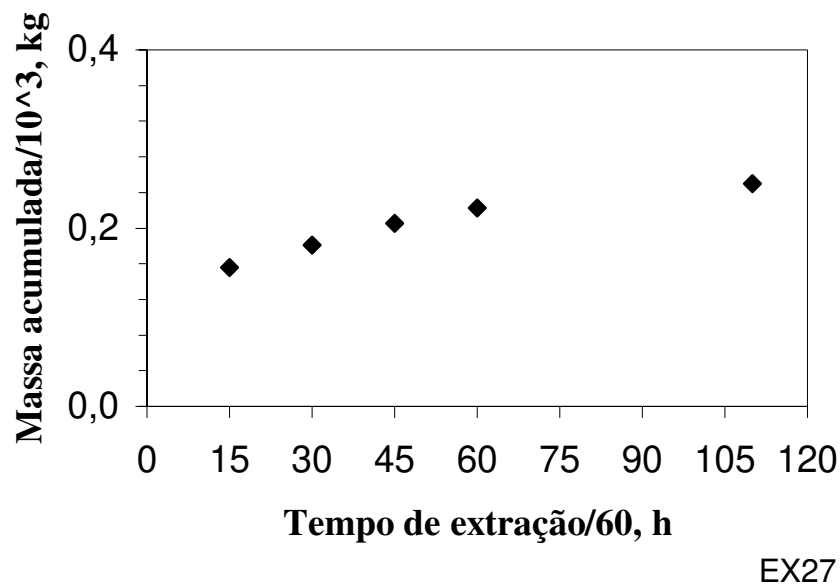
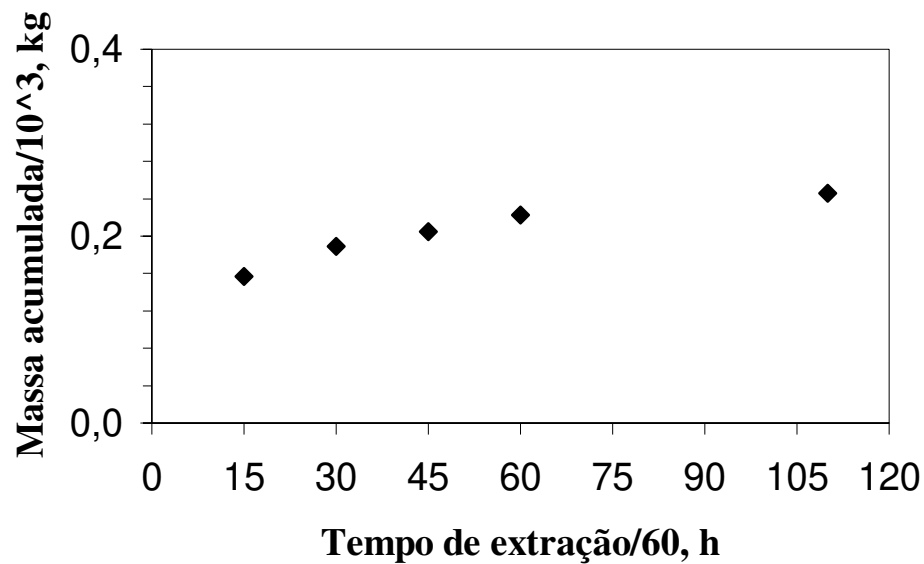


Figura 8. 14 Curva de extração do experimento 27.

Experimento 28

Tabela 8. 16 Experimento de extração de manjeriço (EX28) realizada a 300 bar, 30 °C, 10% de co-solvente água, vazão de $5,98 \times 10^{-5}$ kg/s com massa inicial de matéria-prima de $3,03 \times 10^{-3}$ kg (b.u.), $X_o = 9,0 \pm 0,1\%$ (b.s.).

Tempo/60 (s)	Massa pontual/ 10^3 (b.s., kg)	Massa acumulada/ 10^3 (b.s., kg)
15	0,1566	0,1566
30	0,0326	0,1892
45	0,0154	0,2046
60	0,0181	0,2227
110	0,0229	0,2456



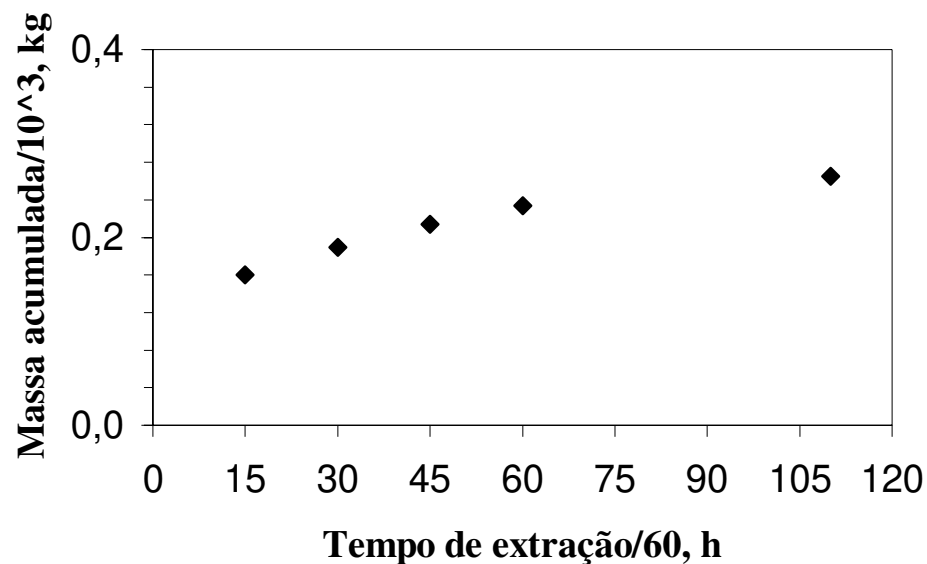
EX28

Figura 8. 15 Curva de extração do experimento 28.

Experimento 29

Tabela 8. 17 Experimento de extração de manjerição (EX29) realizada a 300 bar, 30 °C, 10% de co-solvente água, vazão de $5,95 \times 10^{-5}$ kg/s com massa inicial de matéria-prima de $3,04 \times 10^{-3}$ kg (b.u.), $X_o = 9,8 \pm 0,1\%$ (b.s.).

Tempo/60 (s)	Massa pontual/ 10^3 (b.s., kg)	Massa acumulada/ 10^3 (b.s., kg)
15	0,1602	0,1602
30	0,0290	0,1892
45	0,0248	0,2140
60	0,0196	0,2336
110	0,0318	0,2654



EX29

Figura 8. 16 Curva de extração do experimento 29.

Experimento 31

Tabela 8. 18 Experimento de extração de manjeriço (EX31) realizada a 100 bar, 30 °C, 5% de co-solvente água, vazão de $7,59 \times 10^{-5}$ kg/s com massa inicial de matéria-prima de $3,02 \times 10^{-3}$ kg (b.u.), $X_o = 3,2 \pm 0,1\%$ (b.s.).

Tempo/60 (s)	Massa pontual/ 10^3 (b.s., kg)	Massa acumulada/ 10^3 (b.s., kg)
15	0,0129	0,0129
30	0,0353	0,0482
45	0,0147	0,0629
60	0,0116	0,0745
110	0,0128	0,0873

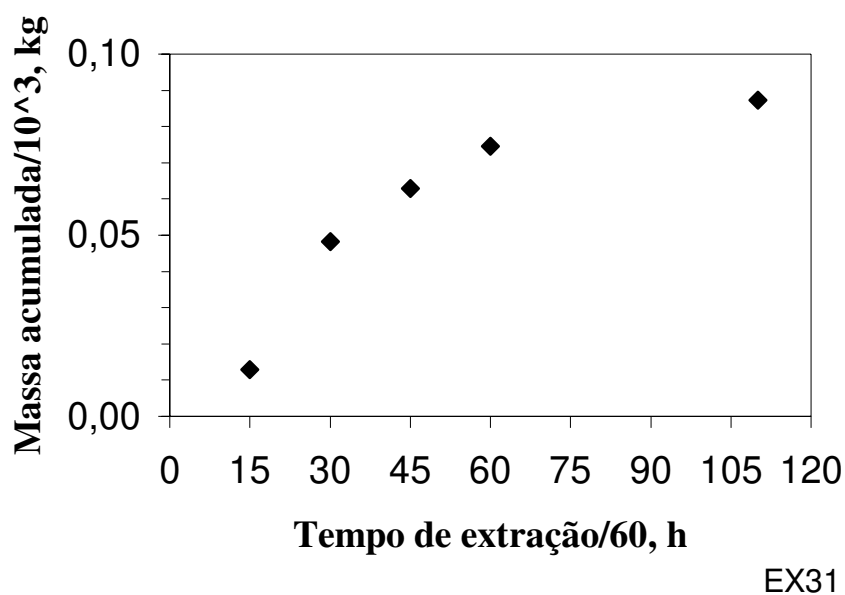


Figura 8. 17 Curva de extração do experimento 31.

Experimento 33

Tabela 8. 19 Experimento de extração de manjerição (EX33) realizada a 150 bar, 30 °C, 5% de co-solvente água, vazão de $7,15 \times 10^{-5}$ kg/s com massa inicial de matéria-prima de $3,03 \times 10^{-3}$ kg, $X_o = 2,4 \pm 0,1\%$.

Tempo/60 (s)	Massa pontual/ 10^{-3} (b.s., kg)	Massa acumulada/ 10^{-3} (b.s., kg)
15	0,0089	0,0089
30	0,0103	0,0192
45	0,0262	0,0454
60	0,0107	0,0561
110	0,0101	0,0662

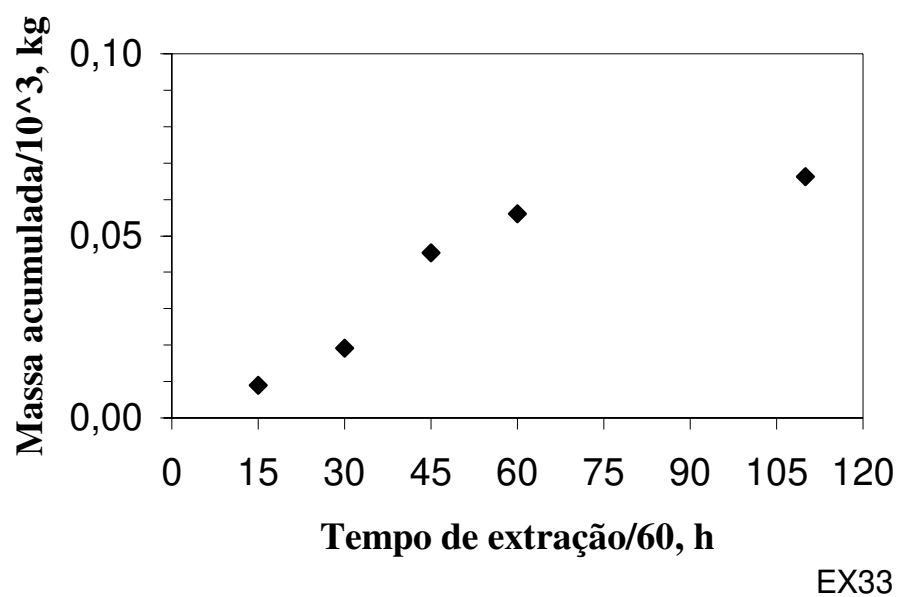


Figura 8. 18 Curva de extração do experimento 33.

Tabela 8. 20 Experimentos de extração de manjeriço realizada com 1% de co-solvente água e vazão de 8×10^{-5} kg/s e massa inicial (base úmida – b.u.) de matéria-prima de $2,50 \times 10^{-3}$ kg.

Experimento	Temperatura (°C)	Pressão (bar)	Massa pontual/ 10^6 (b.s., kg)	Rendimento FO*, (b.s., %)
EX42	30	100	45,4	$2,02 \pm 0,03^{8.26}$
EX44		150	27,9	$1,24 \pm 0,02$
EX46		200	29,1	$1,29 \pm 0,02$
EX47		250	27,0	$1,20 \pm 0,02$
EX49		300	24,3	$1,08 \pm 0,02$
EX52	50	100	39,8	$1,77 \pm 0,02$
EX54		150	42,4	$1,88 \pm 0,02$
EX56		200	22,0	$0,98 \pm 0,02$
EX58		250	24,7	$1,10 \pm 0,02$
EX59		300	27,4	$1,22 \pm 0,02$

* FO: Fase oleosa.

^{8.26} Erro presumido. Planilha de cálculo no Anexo 8.8.

8.3.2 Macelas

Tabela 8. 21 Experimento de extração de Macela_a (*Achyrocline alata*) realizada com dióxido de carbono e vazão de 7×10^{-5} kg/s.

Experimento	Temperatura (°C)	Pressão (bar)	Massa inicial MP*/10 ³ (b.u., kg)	Massa extrato/10 ⁶ (b.s., kg)
CPQBA01	40	100	2,52	30,1
CPQBA02		100	2,49	26,6
CPQBA05		200	2,61	74,0
CPQBA06		200	2,26	41,3
CPQBA07		300	2,33	69,9
CPQBA08		300	2,30	85,3
CPQBA09	30	100	2,24	55,6
CPQBA10		100	2,24	47,9
CPQBA11		200	2,24	84,7
CPQBA12		200	2,24	82,9
CPQBA13		300	2,29	67,5
CPQBA14		300	2,28	68,4

* MP: matéria-prima de alimentação.

Tabela 8. 22 Experimento de extração de Macela_s (*Achyrocline satureioides*) realizada com dióxido de carbono e vazão de 7×10^{-5} kg/s.

Experimento	Temperatura (°C)	Pressão (bar)	Massa inicial MP*/10 ³ (b.u., kg)	Massa extrato/10 ⁶ (b.s., kg)
CPQBA22	40	100	2,34	8,7
CPQBA28		100	2,25	13,1
CPQBA29		200	2,44	58,2
CPQBA24		200	2,29	51,7
CPQBA25		300	2,24	44,3
CPQBA27		300	2,41	48,5
CPQBA15	30	100	2,34	32,7
CPQBA16		100	2,33	25,5
CPQBA17		200	2,32	54,2
CPQBA18		200	2,30	45,6
CPQBA20		300	3,32	41,6
CPQBA27		300	2,21	38,3

* MP: matéria-prima de alimentação.

8.4 Cromatogramas dos extratos obtidos em diferentes condições de processo

A seguir será mostrado apenas o cromatograma de um extrato por condição de extração.

8.4.1 Manjerição

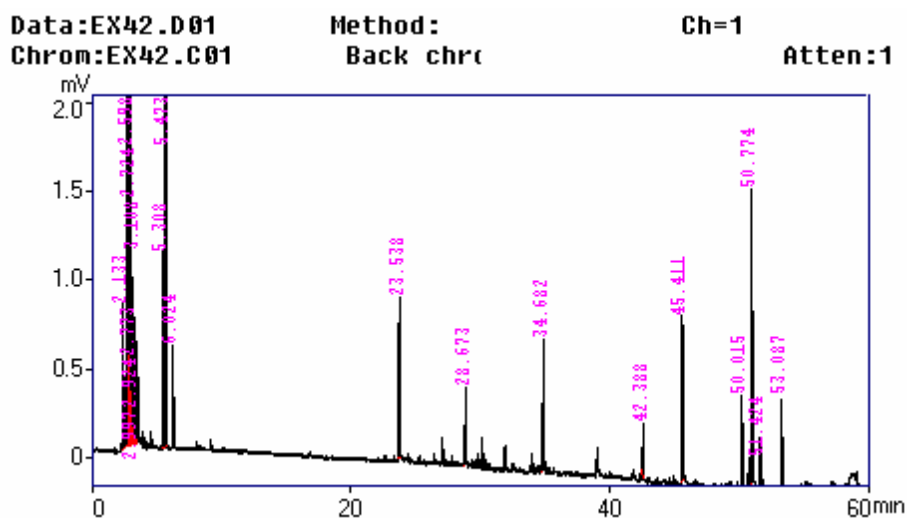


Figura 8. 19 Cromatograma do extrato obtido na condição de 100 bar, 30 °C e 1% de co-solvente água (EX42).

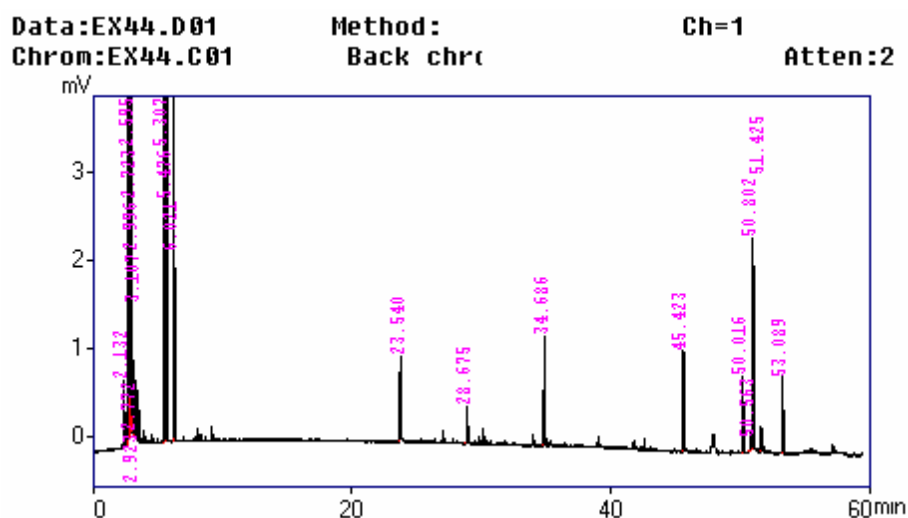


Figura 8. 20 Cromatograma do extrato obtido na condição de 150 bar, 30 °C e 1% de co-solvente água (EX44).

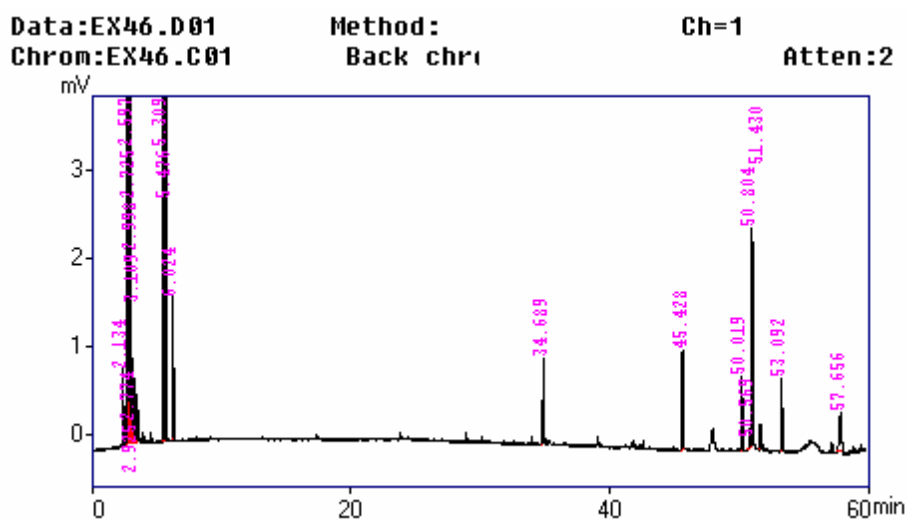


Figura 8. 21 Cromatograma do extrato obtido na condição de 200 bar, 30 °C e 1% de co-solvente água (EX46).

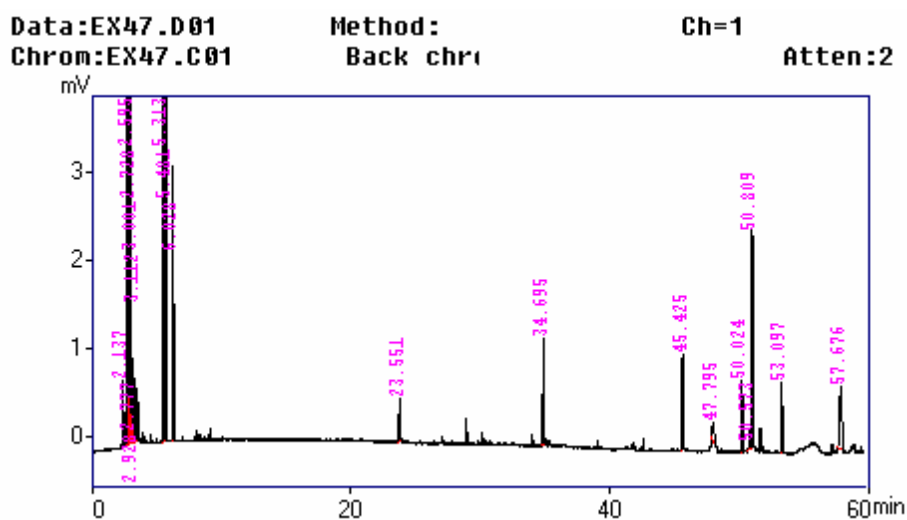


Figura 8. 22 Cromatograma do extrato obtido na condição de 250 bar, 30 °C e 1% de co-solvente água (EX47).

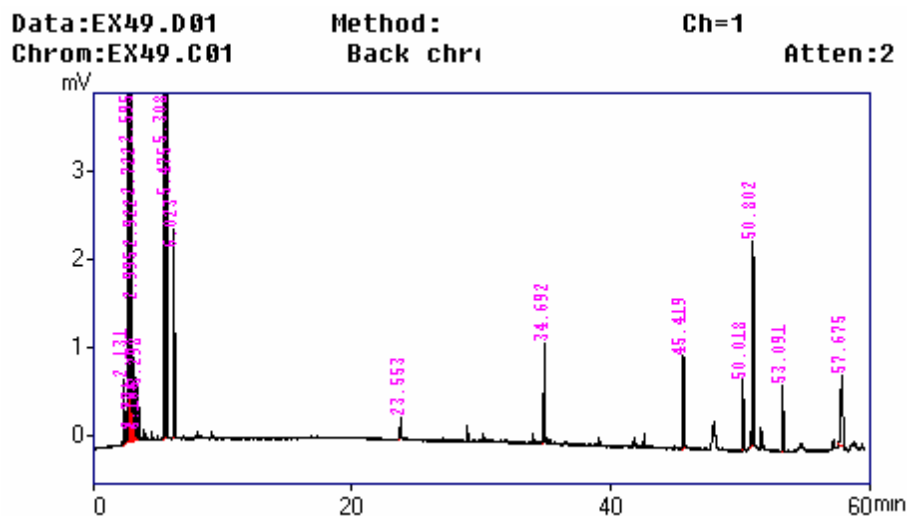


Figura 8. 23 Cromatograma do extrato obtido na condição de 300 bar, 30 °C e 1% de co-solvente água (EX49).

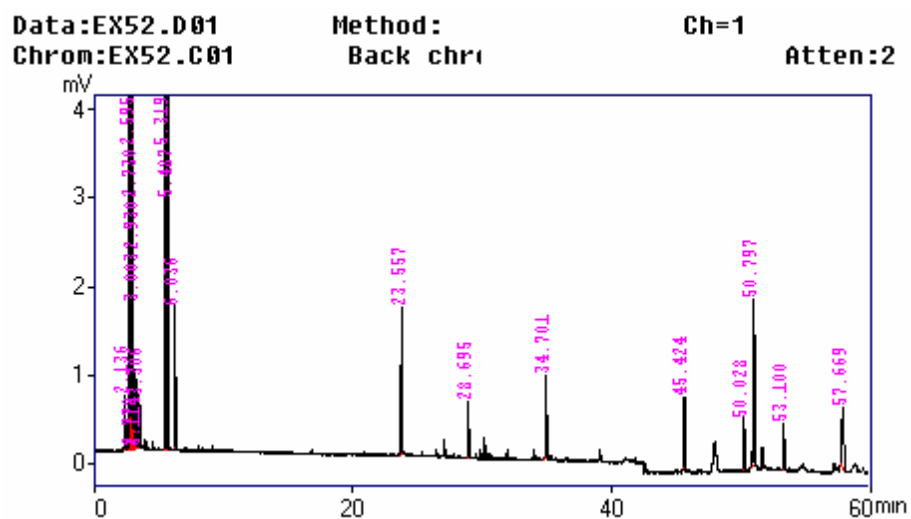


Figura 8. 24 Cromatograma do extrato obtido na condição de 100 bar, 50 °C e 1% de co-solvente água (EX52).

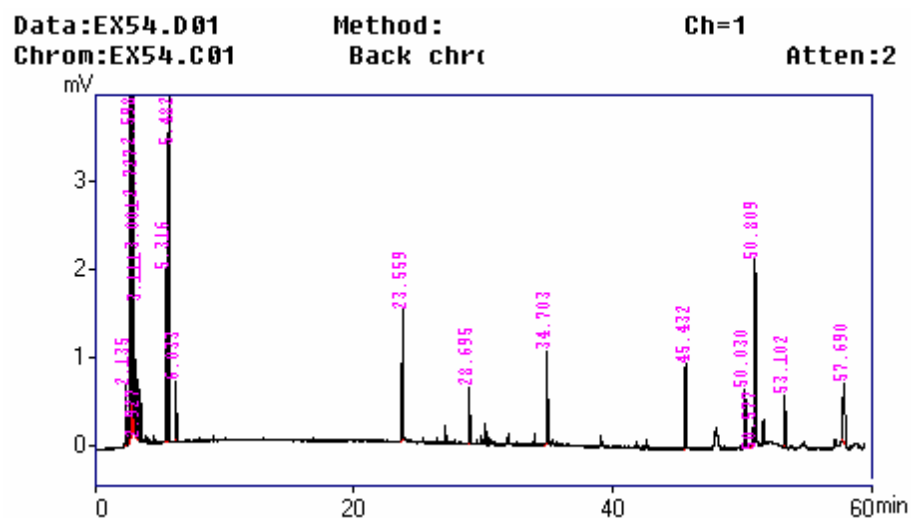
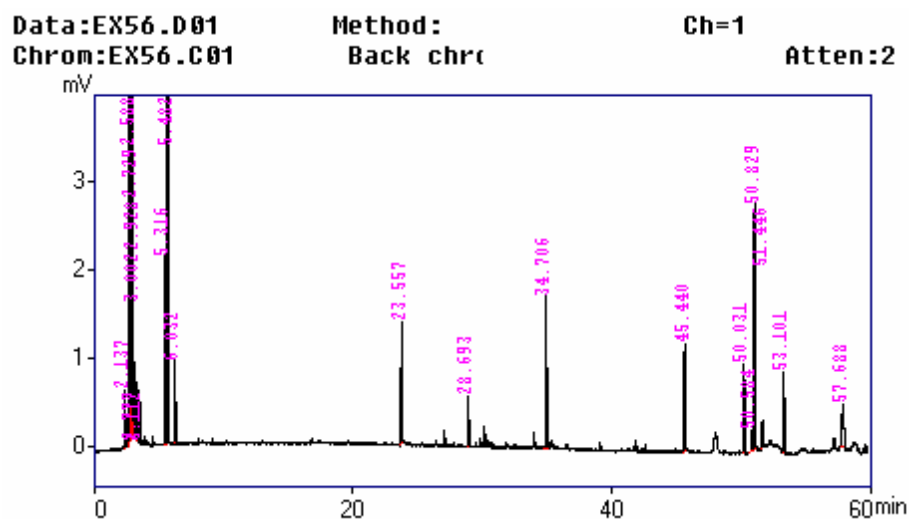


Figura 8. 25 Cromatograma do extrato obtido na condição de 150 bar, 50 °C e 1% de co-solvente água (EX54).



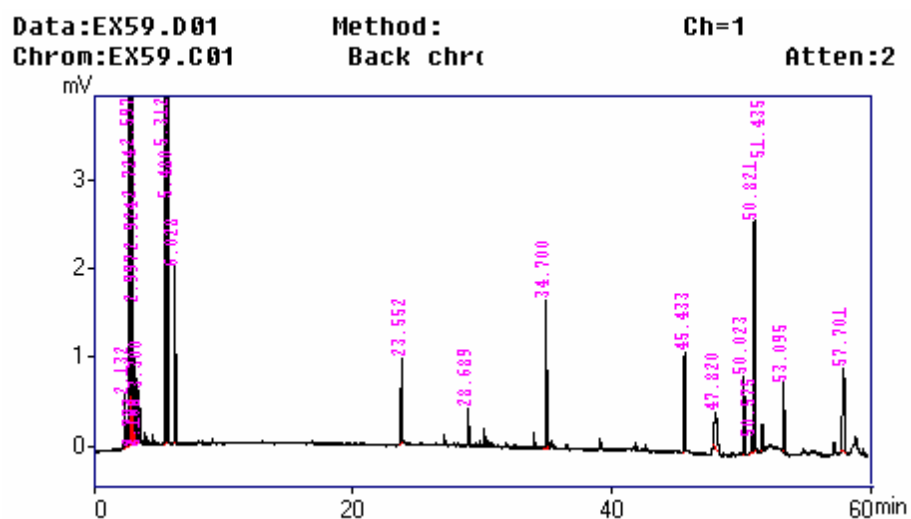


Figura 8. 28 Cromatograma do extrato obtido na condição de 300 bar, 30 °C e 1% de co-solvente água (EX59).

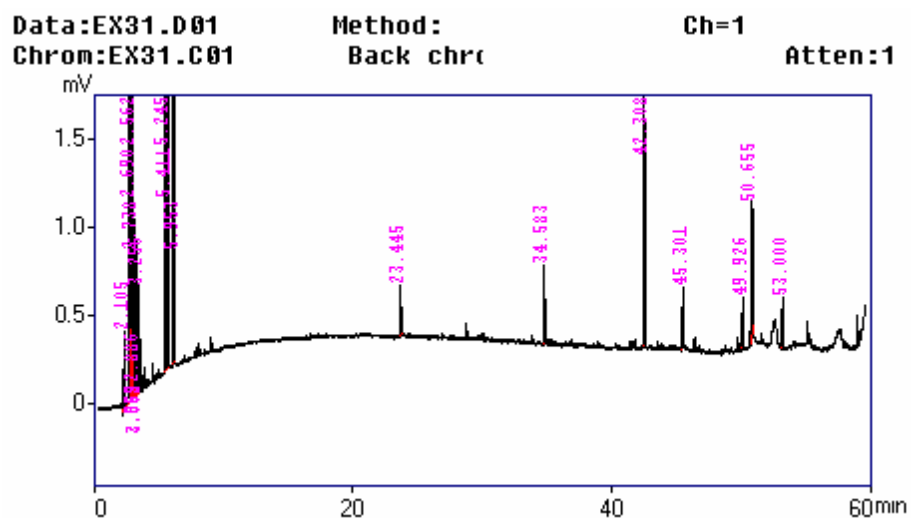


Figura 8. 29 Cromatograma do extrato obtido na condição de 100 bar, 30 °C e 5% de co-solvente água (EX31).

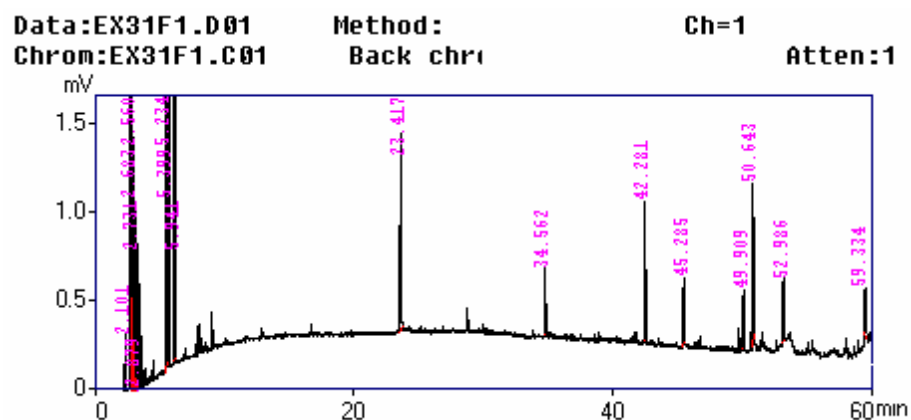


Figura 8. 30 Cromatograma do extrato obtido nos primeiros 15 min (Frasco 1) de ensaio realizado na condição de 100 bar, 30 °C e 5% de co-solvente água (EX31F1).

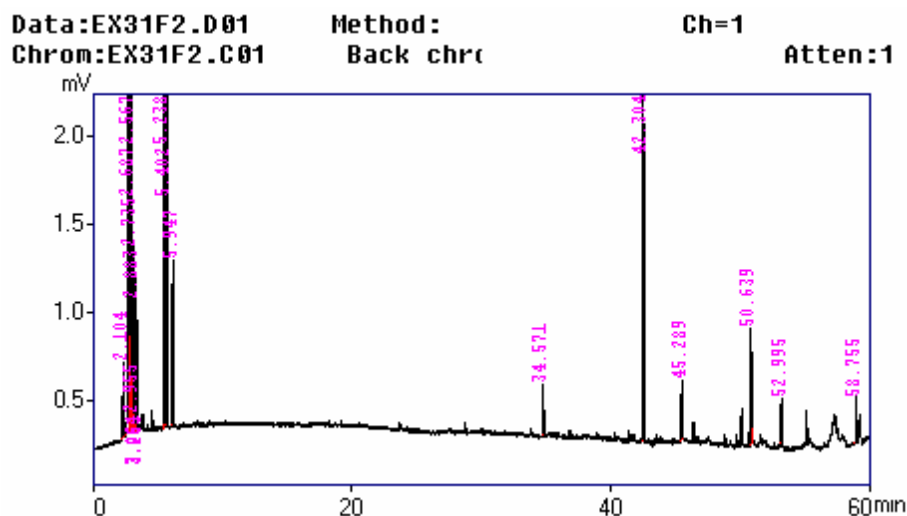


Figura 8. 31 Cromatograma do extrato obtido entre 15 e 30 min (Frasco 2) de ensaio realizado na condição de 100 bar, 30 °C e 5% de co-solvente água (EX31F2).

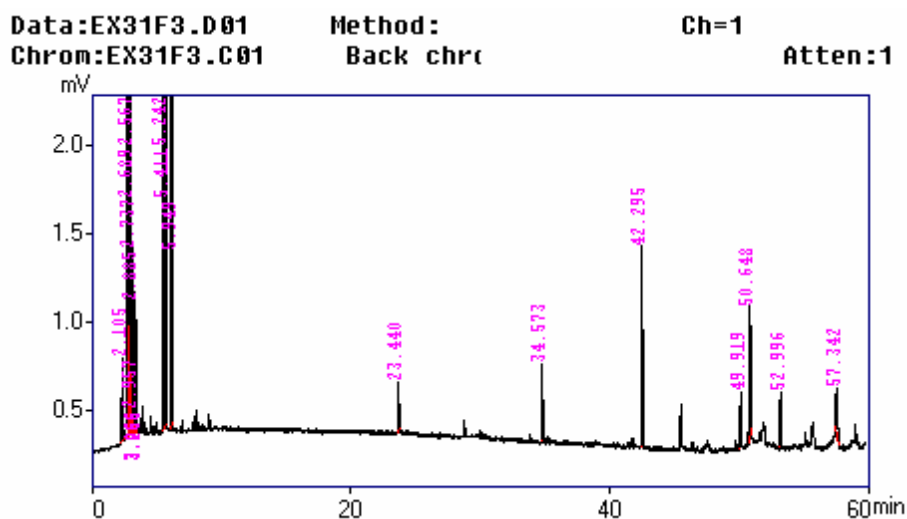


Figura 8. 32. Cromatograma do extrato obtido entre 30 e 45 min (Frasco 3) de ensaio realizado na condição de 100 bar, 30 °C e 5% de co-solvente água (EX31F3).

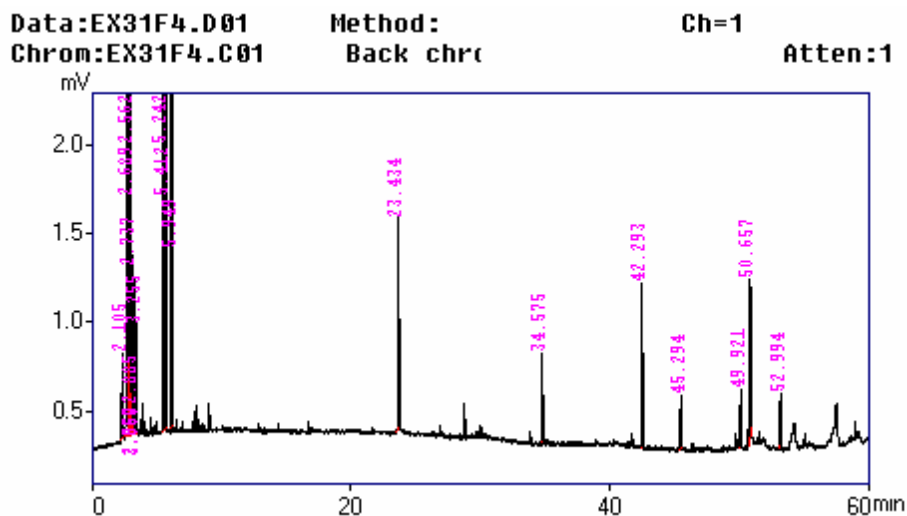


Figura 8. 33 Cromatograma do extrato obtido entre 45 e 60 min (Frasco 4) de ensaio realizado na condição de 100 bar, 30 °C e 5% de co-solvente água (EX31F4).

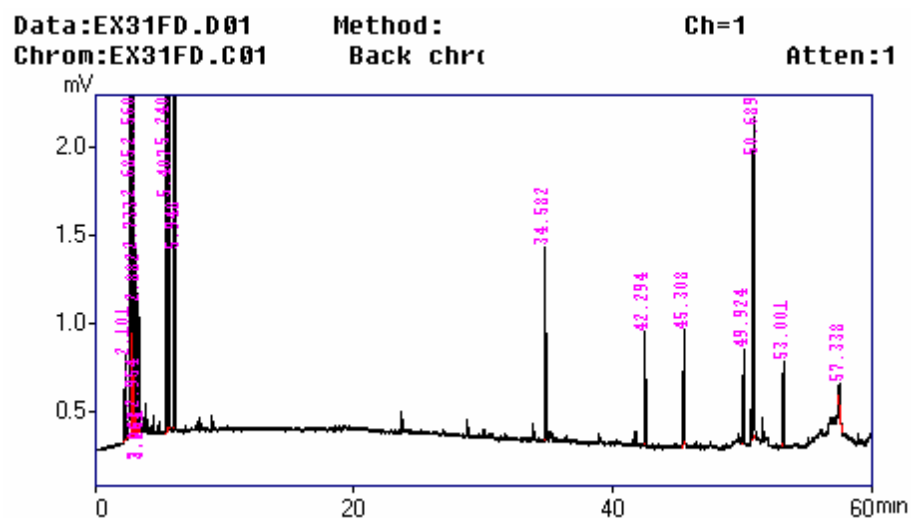


Figura 8. 34 Cromatograma do extrato obtido durante a despressurização do sistema (Frasco D) de ensaio realizado na condição de 100 bar, 30 °C e 5% de co-solvente água (EX31FD).

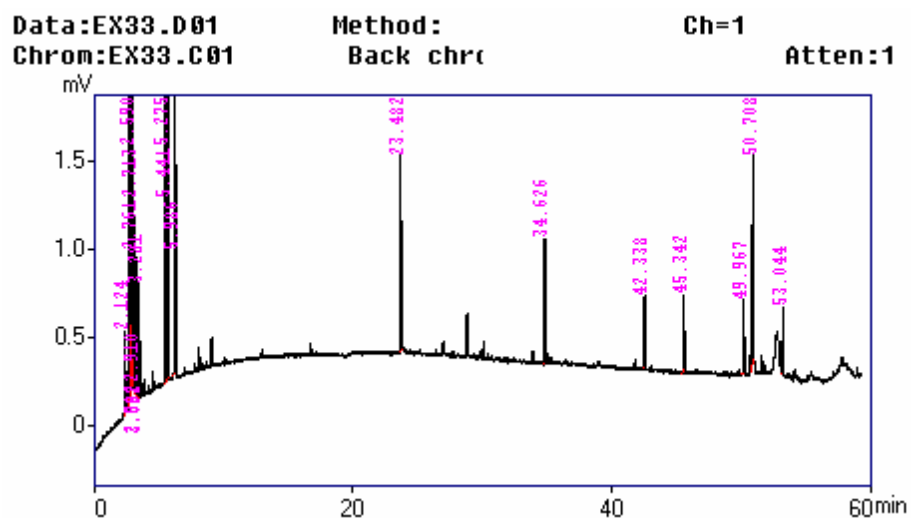


Figura 8. 35 Cromatograma do extrato obtido na condição de 150 bar, 30 °C e 5% de co-solvente água (EX33).

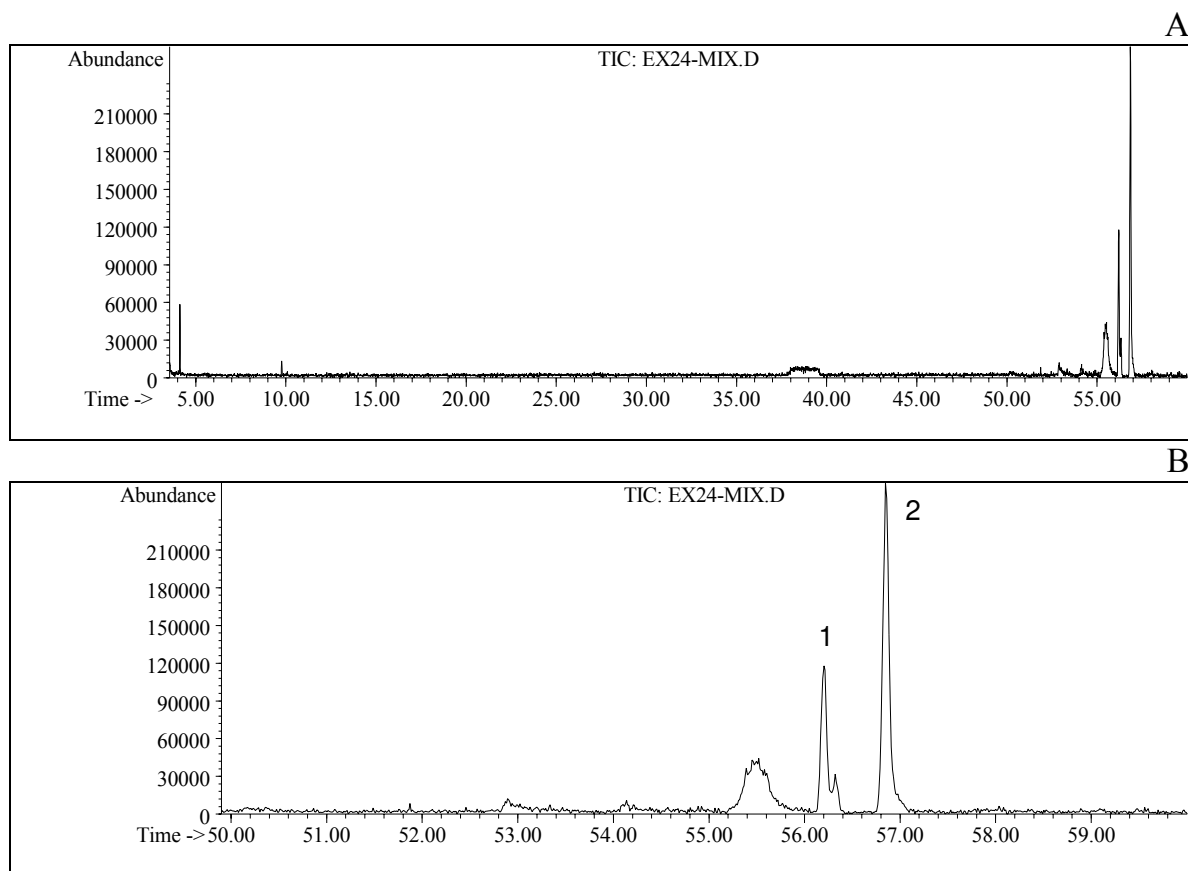


Figura 8. 36 Cromatograma do extrato total (Xo) obtido na condição de 200 bar, 30 °C e 10% de co-solvente água (A) e o cromatograma expandido 50-60 min (B).

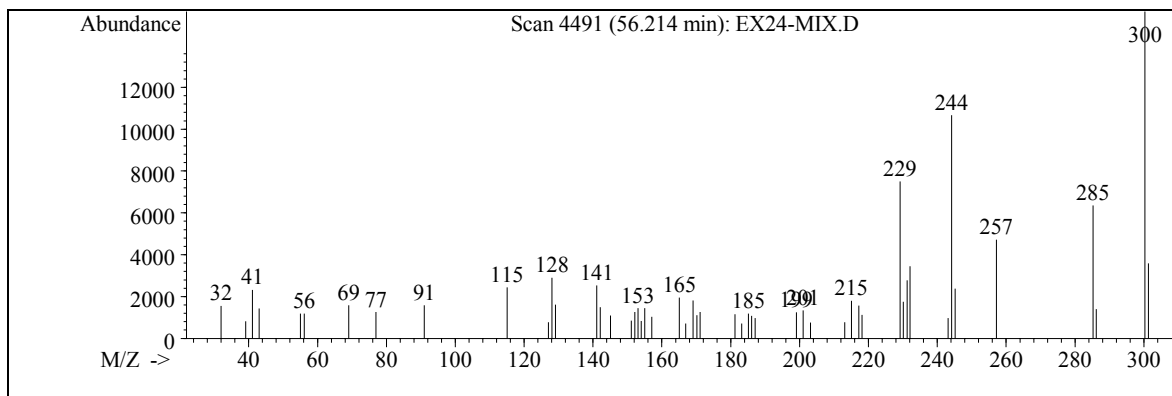


Figura 8. 37 Espectro de massa do pico 1.

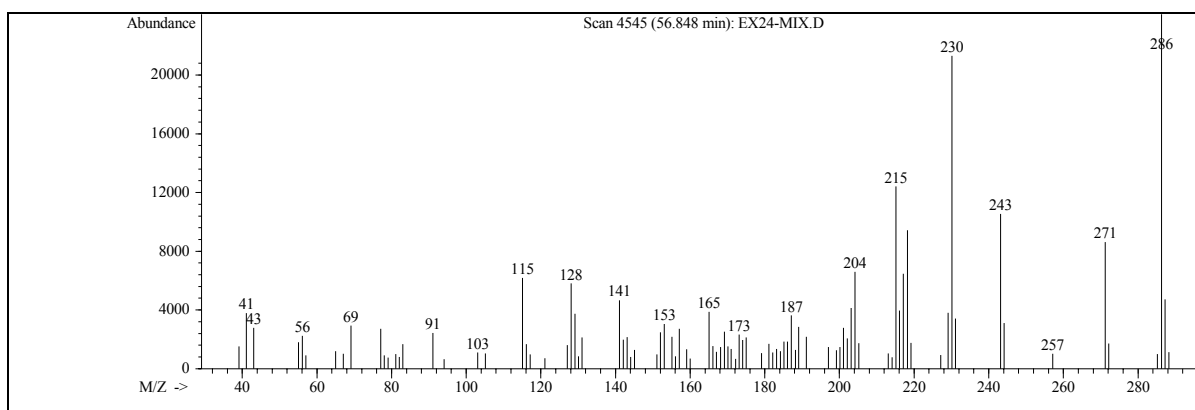


Figura 8. 38 Espectro de massa do pico 2.

8.4.2 Macelas

8.4.2.1 *Achyrocline alata*

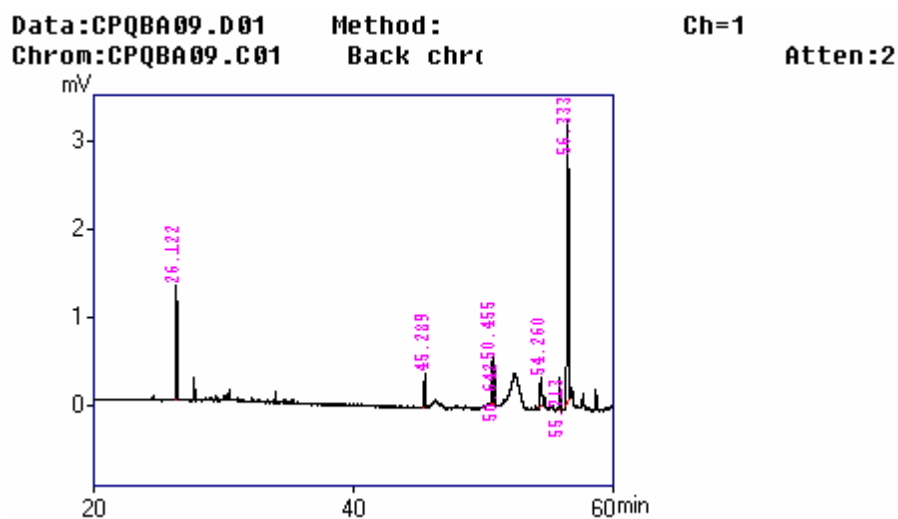


Figura 8. 39 Cromatograma do extrato de macela_a obtido na condição de 100 bar, 30 °C (CPQBA09).

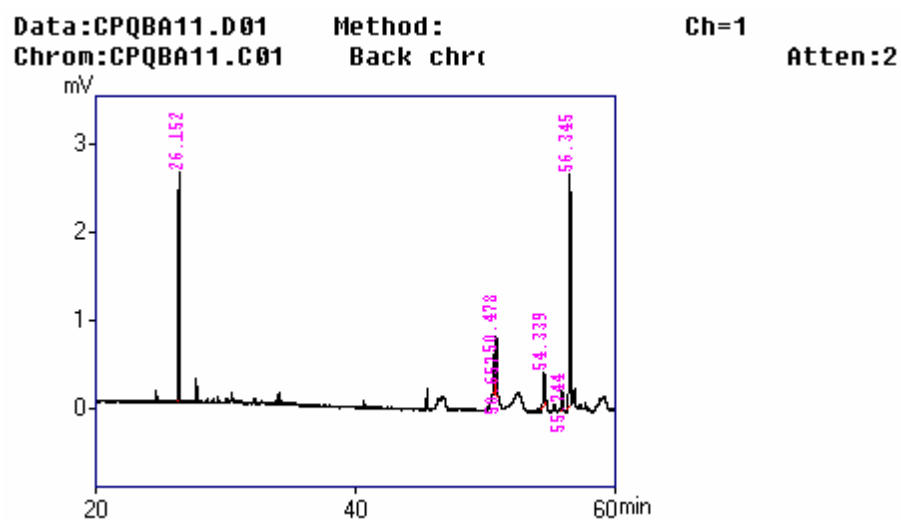


Figura 8. 40 Cromatograma do extrato de macela_a obtido na condição de 200 bar, 30 °C (CPQBA11).

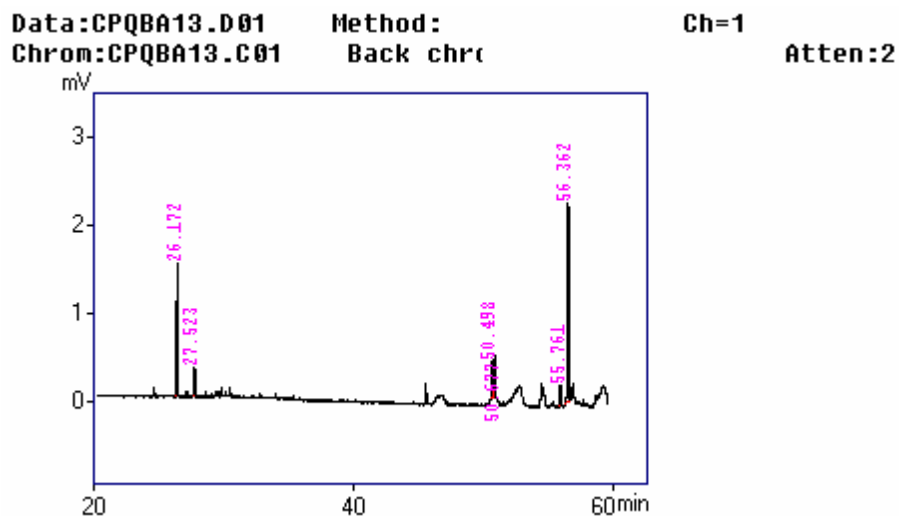


Figura 8. 41 Cromatograma do extrato de macela_a obtido na condição de 300 bar, 30 °C (CPQBA13).

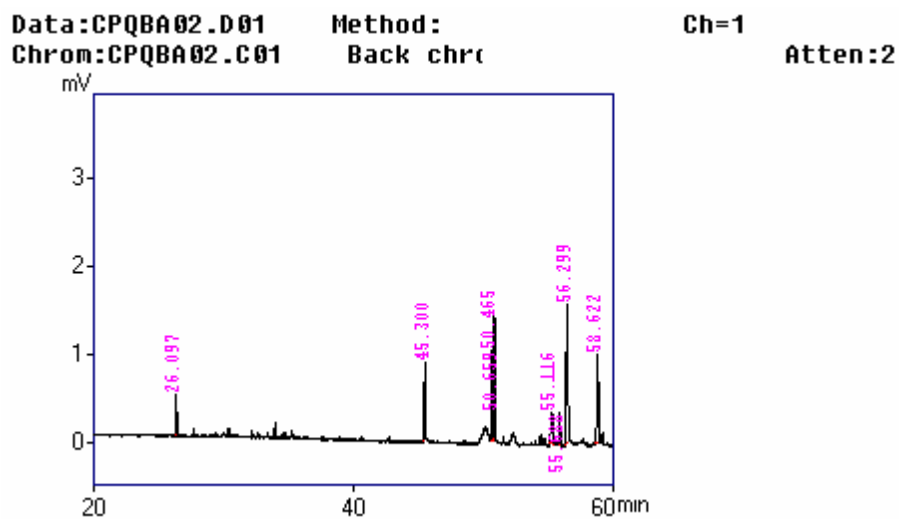


Figura 8. 42Cromatograma do extrato de macela_a obtido na condição de 100 bar, 40 °C (CPQBA02).

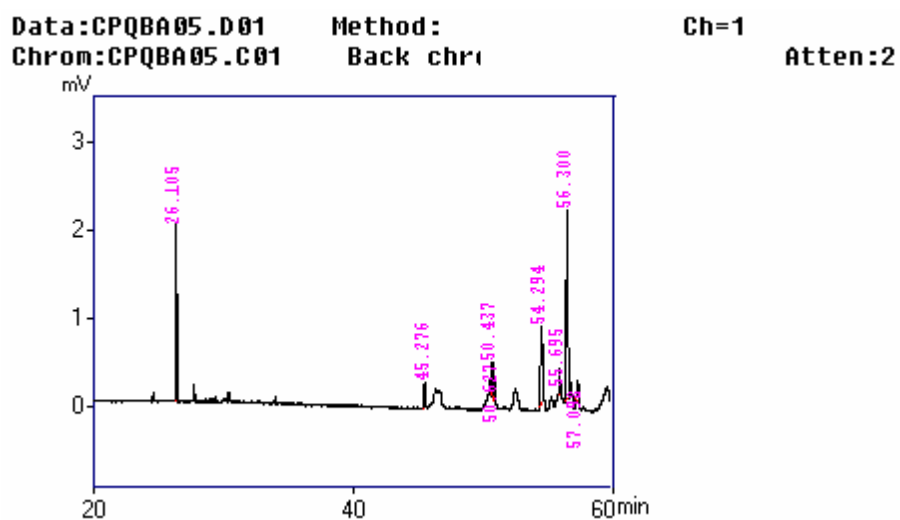


Figura 8. 43 Cromatograma do extrato de macela_a obtido na condição de 200 bar, 40 °C (CPQBA05).

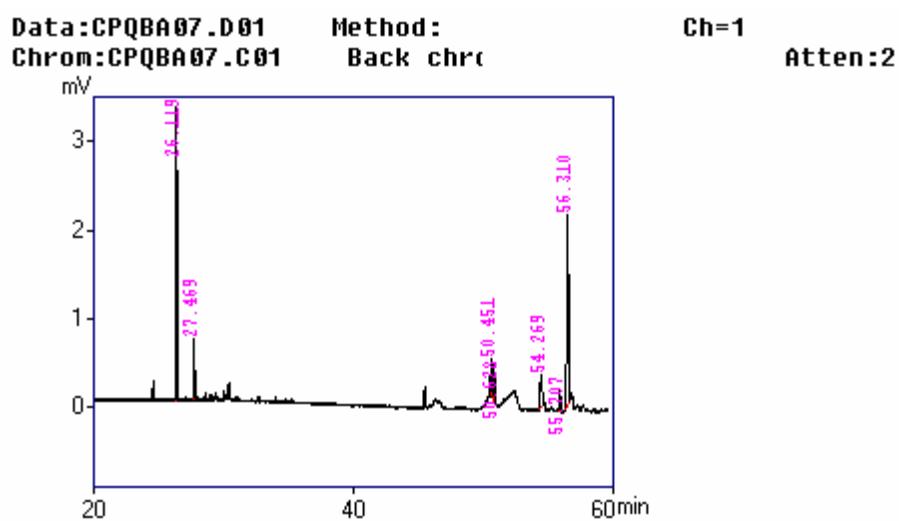


Figura 8. 44. Cromatograma do extrato de macela_a obtido na condição de 300 bar, 40 °C (CPQBA07).

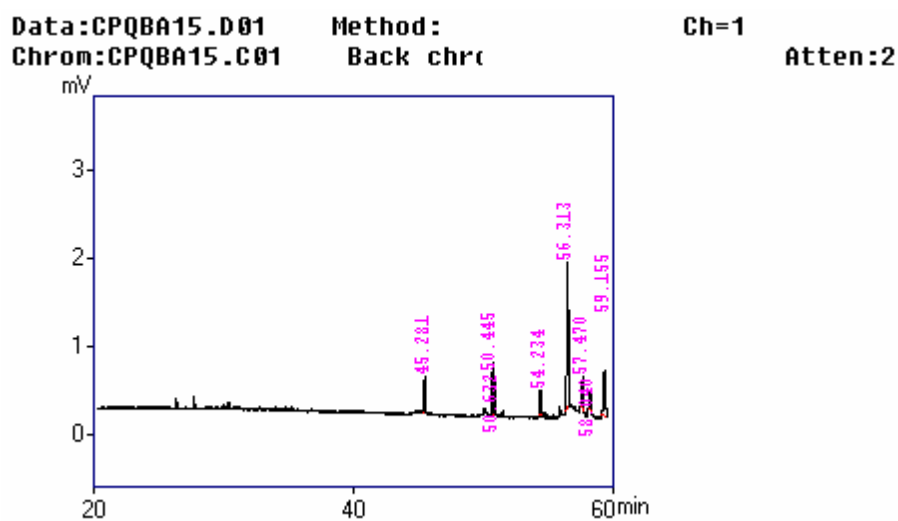
8.4.2.2 *Achyrocline satureioides*

Figura 8. 45 Cromatograma do extrato de macela_s obtido na condição de 100 bar, 30 °C (CPQBA15).

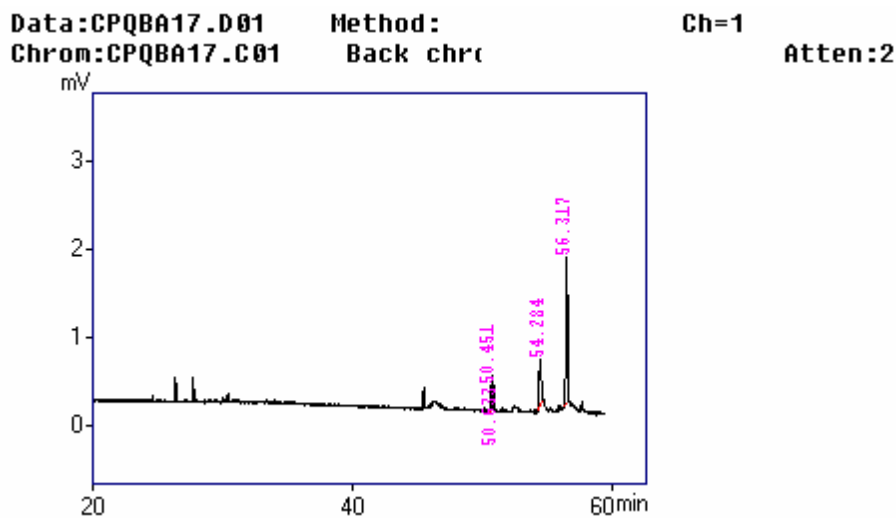


Figura 8. 46. Cromatograma do extrato de macela_s obtido na condição de 200 bar, 30 °C (CPQBA17).

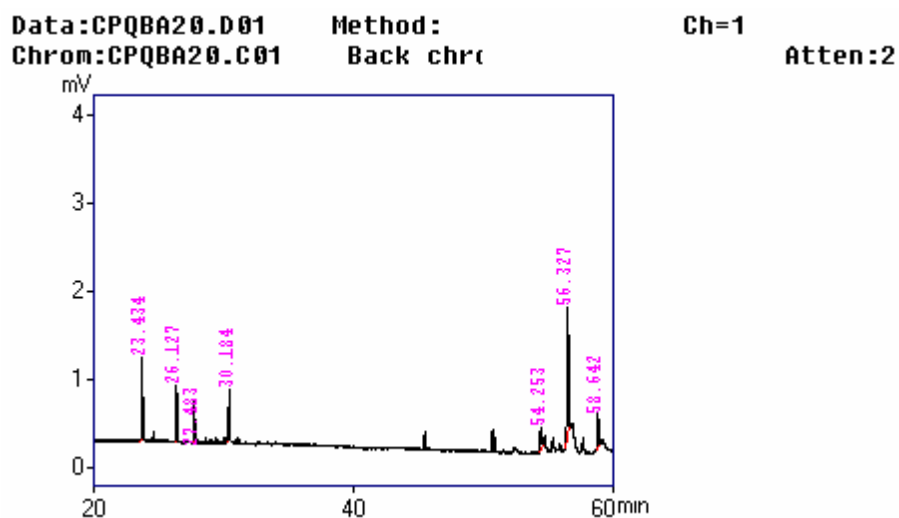


Figura 8. 47 Cromatograma do extrato de macela_s obtido na condição de 300 bar, 30 °C (CPQBA20).

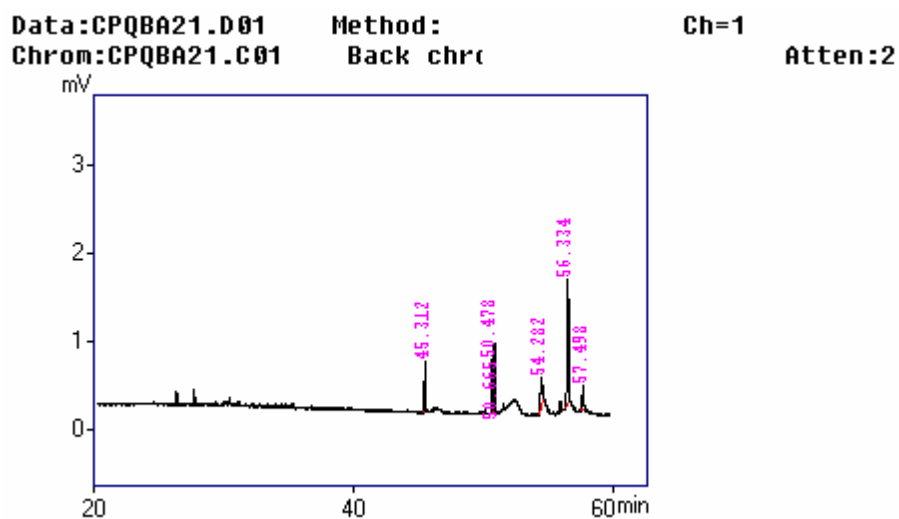


Figura 8. 48. Cromatograma do extrato de macela_s obtido na condição de 100 bar, 40 °C (CPQBA21).

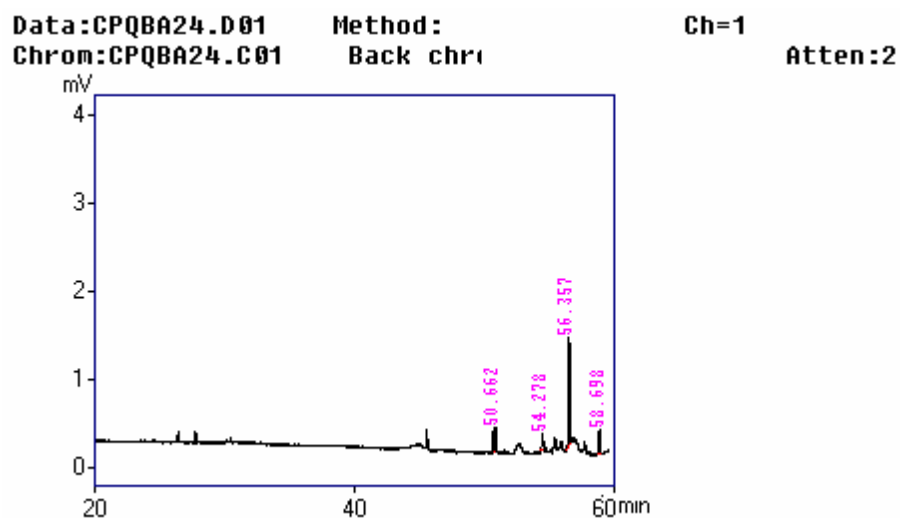


Figura 8. 49 Cromatograma do extrato de macela_s obtido na condição de 200 bar, 40 °C (CPQBA24).

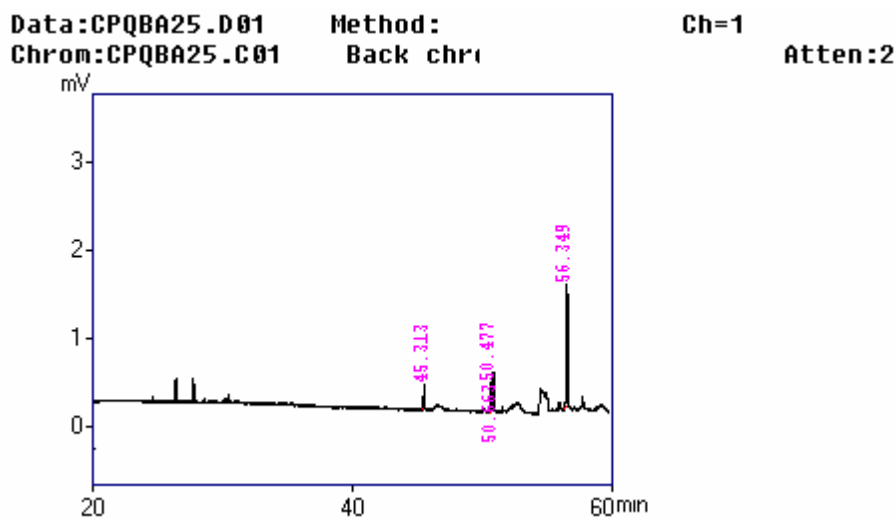


Figura 8. 50 Cromatograma do extrato de macela_s obtido na condição de 300 bar, 40 °C (CPQBA25).

8.5. Atividade Antioxidante

A seguir serão apresentadas as planilhas (excel) com os valores de absorbância obtidos pelo espectrofotômetro (Hitachi, U-3010, Tokyo, Japão) no comprimento de onda de 470 nm.

**LABORATÓRIO DE SEPARAÇÕES FÍSICAS**

Patrícia F. Leal

ATUALIZADO DIA 21 DE SETEMBRO DE 2004

22/2/2004 PAG 01

Atividade Antioxidante da fase oleosa dos extratos de Ocimum basilicum obtidos a 30 e 50°C com 1% de água (v/v)

Absorbância

Código das amostras		tempo = 0h		tempo = 1h		tempo = 2h		tempo = 3h	
controle	B-caroteno	2,1814	2,2790	1,6835	1,6459	1,4162	1,3818	1,1987	1,1987
EX42	100/30	4,4724	3,7894	3,5996	4,0000	3,4306	3,0789	2,3731	2,8147
EX44	150/30	3,2952	3,2952	2,8460	2,4550	2,6712	2,3423	2,2375	2,2375
EX46	200/30	2,7604	2,4329	2,4180	2,1835	2,2718	2,0956	2,0960	1,9674
EX47	250/30	2,3914	2,5378	2,1179	2,3998	1,9918	1,7902	1,8664	1,8664
EX49	300/30	2,6664	2,6664	2,4068	2,4068	2,3066	2,3066	2,2195	2,2195
EX52	100/50	2,3195	2,3195	2,7460	1,7849	2,8548	1,7110	2,2001	1,6562
EX54	150/50	2,0178	2,0178	1,8081	1,7561	1,6901	1,6901	1,2289	1,2289
EX56	200/50	2,9367	2,7302	2,6716	2,5586	2,5539	2,4769	2,4021	2,3920
EX58	250/50	2,1781	2,3229	1,9678	2,1317	1,8628	2,0547	1,7510	1,7510
EX59	300/50	4,0000	4,0000	4,0000	4,0000	3,6910	3,6910	3,6910	3,6910

Médias das absorbâncias

Código das amostras		t=0h	t=1h	t=2h	t=3h
controle	B-caroteno	2,2302	1,6647	1,3990	1,1987
EX42	100/30	4,1309	3,7998	3,2548	2,5939
EX44	150/30	3,2952	2,6505	2,5068	2,2375
EX46	200/30	2,5967	2,3008	2,1837	2,0317
EX47	250/30	2,4646	2,2589	1,8910	1,8664
EX49	300/30	2,6664	2,4068	2,3066	2,2195
EX52	100/50	2,3195	2,2655	2,2829	1,9282
EX54	150/50	2,0178	1,7821	1,6901	1,2289
EX56	200/50	2,8335	2,6151	2,5154	2,3971
EX58	250/50	2,2505	2,0498	1,9588	1,7510
EX59	300/50	4,0000	4,0000	3,6910	3,6910

RASTREABILIDADE:

Caderno de laboratório página 44;

Arquivo: D:\Documento\Patricia\Ms - O_basilicum\Atividade Antioxidante 1% agua_26_02_04

**AMOSTRAS:***Ocimum basilicum*

PATRÍCIA FRANCO LEAL

ATUALIZADO DIA 21 DE SETEMBRO DE 2004

29/4/2004 PAG 01

OBJETIVO:*Análise da ação antioxidante dos extratos de ^a basilicum obtidos por ESC com 1% de cosolvente água FASE AQUOSA.***RASTREABILIDADE:***Caderno de laboratório página 58 e Arquivo: D:/Documentos/Patricia/Ms-O_basilicum/O_basilicum_1%_FA_29_04_04.exe***RESPONSÁVEL:***Patrícia Franco Leal*

Absorbância

Código	t=0h (TRIPLICATA)			t=1h			t=2h			t=3h		
Controle	1,0395	1,1245	1,1956	0,7169	0,8073	0,8640	0,5268	0,6067	0,6607	0,4401	0,5048	0,5547
EX42	1,3387	1,3883	1,3895	1,0323	1,0688	1,0678	0,8581	0,8940	0,8945	0,7652	0,7914	0,7909
EX44	1,2124	1,2181	1,2062	0,8364	0,8634	0,8700	0,6683	0,6880	0,6938	0,5884	0,6047	0,6093
EX46	1,1695	1,0854	1,1194	0,7785	0,7093	0,7246	0,5966	0,5559	0,5711	0,5250	0,5007	0,5138
EX47	1,0742	1,0988	1,0869	0,6977	0,7247	0,7181	0,5377	0,5558	0,5626	0,4776	0,4926	0,5048
EX49	1,0535	1,0595	1,0883	0,6701	0,6672	0,6930	0,5231	0,5231	0,5424	0,4625	0,4729	0,4918
EX52	1,1982	1,2805	1,2747	1,0041	1,0955	1,0949	0,9018	0,9937	0,9918	0,8354	0,9263	0,8248
EX54	1,1129	1,0940	1,1035	0,7592	0,7532	0,7536	0,5988	0,6001	0,6000	0,5247	0,5268	0,5278
EX56	1,0267	1,0887	1,0747	0,6470	0,6846	0,6798	0,5099	0,5446	0,5387	0,4553	0,4918	0,4856
EX58	1,0248	1,0679	0,9618	0,6286	0,6486	0,6115	0,4961	0,5173	0,4759	0,4464	0,4699	0,4247
EX59	1,0150	1,0568	1,0969	0,6659	0,6919	0,7321	0,5144	0,5346	0,5675	0,4497	0,4719	0,4995
Código	t=0h	t=1h	t=2h	t=3h								
Controle	1,1199	0,7961	0,5981	0,4999								
EX42	1,3722	1,0563	0,8822	0,7825								
EX44	1,2122	0,8566	0,6834	0,6008								
EX46	1,1248	0,7375	0,5745	0,5132								
EX47	1,0866	0,7135	0,5520	0,4917								
EX49	1,0671	0,6768	0,5295	0,4757								
EX52	1,2511	1,0648	0,9624	0,8622								
EX54	1,1035	0,7553	0,5996	0,5264								
EX56	1,0634	0,6705	0,5311	0,4776								
EX58	1,0182	0,6296	0,4964	0,4470								
EX59	1,0562	0,6966	0,5388	0,4737								

**AMOSTRAS:***Ocimum basilicum*

PATRÍCIA FRANCO LEAL

3/5/2004 PAG 01

OBJETIVO:*Análise da ação antioxidante dos extratos de O basilicum obtidos por ESC com 10 e 20% de co-solvente água extratos liofilizados.***RASTREABILIDADE:***Caderno de laboratório página 61; Arquivo: D:\Documento\Patricia\Ms - Ocimum_basilicum\O_basilicum_03_05_04_português***RESPONSÁVEL:***Patrícia Franco Leal*

Absorbância

Código	t=0h (TRIPLICATA)			t=1h			t=2h			t=3h		
Controle	2,7257	2,5205	2,3557	1,8587	1,7083	1,6226	1,3113	1,2019	1,1517	0,9890	0,9467	0,9062
EX10	2,2121	2,1076	2,0887	1,7808	1,7184	1,6992	1,5063	1,4784	1,4601	1,3119	1,3271	1,3077
EX12	2,0257	1,8440	2,2460	1,6809	1,5495	1,8532	1,4536	1,3576	1,5896	1,3014	1,2435	1,4299
EX15	1,9243	1,9751	1,9864	1,6535	1,7101	1,7143	1,4842	1,5642	1,5638	1,3857	1,4741	1,4768
EX16	1,9376	1,9831	1,9443	1,6564	1,6586	1,6915	1,5039	1,4727	1,5507	1,4059	1,3535	1,4598
EX19	2,0217	2,0064	2,0494	1,6869	1,6706	1,7051	1,4644	1,4709	1,4879	1,3171	1,3310	1,3476
EX21	2,3104	2,5057	2,4147	1,9151	2,0694	1,9621	1,6859	1,8213	1,6896	1,5165	1,6382	1,4907
EX22	2,2902	2,2267	2,5783	1,8310	1,8658	2,1390	1,5305	1,6455	1,8885	1,3239	1,4896	1,7129
EX24	2,1314	2,2356	2,0676	1,7070	1,7822	1,6837	1,4525	1,5210	1,4571	1,2707	1,3357	1,2957
EX26	2,2032	2,4937	2,1296	1,7995	2,0393	1,7914	1,5453	1,7570	1,6052	1,3610	1,5632	1,4755
EX28	2,1209	2,2168	2,2107	1,7231	1,8028	1,7938	1,4860	1,5627	1,5485	1,3090	1,3893	1,3768
EX20F1	2,0250	2,0411	1,8850	1,6183	1,6392	1,5333	1,3688	1,4046	1,3385	1,1961	1,2379	1,2041
EX20F2	2,0007	1,9870	1,8325	1,6981	1,6966	1,5639	1,5262	1,5244	1,4112	1,4042	1,4081	1,3052
EX20F3	2,0090	1,9732	1,8246	1,6828	1,6722	1,5445	1,5170	1,5158	1,3997	1,3974	1,4036	1,3006
EX20F4	1,9364	1,9361	1,7686	1,6105	1,6176	1,4781	1,4372	1,4571	1,3325	1,3126	1,3504	1,2322
EX20D	2,1242	2,0285	1,9037	1,7846	1,7207	1,6168	1,5830	1,5426	1,4575	1,4480	1,4204	1,3431

As 10 primeiras amostras da coluna acima são Xo ou seja é o extrato total da extração.

**AMOSTRAS:***Ocimum basilicum*

PATRÍCIA FRANCO LEAL

4/5/2004 PAG 01

CÁLCULO ATUALIZADO DIA 21 DE SETEMBRO DE 2004

OBJETIVO:*Análise da ação antioxidante dos extratos de O basilicum obtidos por ESC com 10 e 20% de cosolvente água extratos liofilizados.***RASTREABILIDADE:***Caderno de laboratório página 63; arquivo: D:\Documento\Patricia\Ms – Ocimum basilicum\O_basilicum_04_05_04_portugues***RESPONSÁVEL:***Patrícia Franco Leal*

Absorbância (leitura 470 nm)

Código	t=0h (TRIPLICATA)			t=1h			t=2h			t=3h		
Controle	1,6888	1,6715	1,6614	1,2360	1,2751	1,2434	0,9073	0,9534	0,9249	0,7666	0,8219	0,8049
EX23 F1	1,6047	1,6107	1,6149	1,4141	1,3499	1,3176	1,1894	1,1982	1,2080	1,0601	1,0756	1,0919
EX23 F2	1,6085	1,5201	1,4724	1,4040	1,3504	1,3213	1,2553	1,2127	1,1942	1,1710	1,1355	1,1271
EX23 F3	1,4962	1,4882	1,5124	1,3351	1,3412	1,3478	1,2175	1,2322	1,2133	1,1549	1,1753	1,1404
EX23 F4	1,4502	1,2917	1,3368	1,3107	1,1925	1,2146	1,1988	1,1053	1,1092	1,1312	1,0547	1,0450
EX23 D	1,3748	1,3713	1,3649	1,2359	1,2257	1,2080	1,1329	1,1156	1,0818	1,0696	1,0585	1,0060
EX25 F1	1,2913	1,2801	1,3162	1,1039	1,1196	1,1542	0,9435	0,9766	1,0227	0,8480	0,8927	0,9483
EX25 F2	1,3114	1,3190	1,3212	1,1863	1,1928	1,1877	1,0957	1,0665	1,0688	1,0227	1,0279	1,0153
EX25 F3	1,3302	1,2883	1,2855	1,2000	1,1628	1,1630	1,0855	1,0710	1,0671	1,0315	1,0165	1,0184
EX25 F4	1,3138	1,2986	1,2951	1,1887	1,1725	1,1656	1,0439	1,0821	1,0684	1,0111	1,0070	1,0065
EX25 D	1,3320	1,3231	1,3194	1,1759	1,1716	1,1701	1,0400	1,0342	1,0325	0,9454	0,9554	0,9549
EX27 F1	1,2323	1,2344	1,2426	1,0689	1,0752	1,0937	0,9364	0,9476	0,9655	0,8526	0,8762	0,8920
EX27 F2	1,2316	1,2389	1,2470	1,1001	1,1214	1,1237	0,9962	1,0273	1,0279	0,9310	0,9820	0,9714
EX27 F3	1,2417	1,2462	1,2455	1,1277	1,1371	1,1306	1,0438	1,0581	1,0438	0,9953	1,0054	0,9904
EX27 F4	1,2086	1,2252	1,2304	1,0779	1,1054	1,1141	0,9902	1,0211	1,0201	0,9342	0,9758	0,9732
EX27 D	1,2452	1,2578	1,2240	1,1238	1,1419	1,1111	1,0428	1,0644	1,0497	0,9710	1,0234	0,9997

**AMOSTRAS:***Ocimum basilicum*

PATRÍCIA FRANCO LEAL

ATUALIZADO DIA 21 DE SETEMBRO DE 2004

6/5/2004 PAG 01

OBJETIVO:*Análise da ação antioxidante dos extratos de O basilicum obtidos por ESC com 10 e 20% de cosolvente água extratos liofilizados (cinética).***RASTREABILIDADE:***Caderno de laboratório página 66; Arquivo: D:\Documento\Patricia\Ms - Ocimum basilicum\O_basilicum_06_05_04_português***RESPONSÁVEL:***Patrícia Franco Leal*

Absorbância

Código	t=0h (TRIPLICATA)			t=1h			t=2h			t=3h		
Controle	1,8897	2,0152	1,9364	1,3082	1,4794	1,3969	0,9512	1,1143	1,0423	0,7767	0,9287	0,8777
EX29 F1	1,9384	1,8539	1,9183	1,6112	1,5463	1,5974	1,3839	1,3391	1,3734	1,2358	1,2029	1,2324
EX29 F2	1,7527	1,7876	1,7106	1,5094	1,5397	1,4724	1,3421	1,3772	1,3103	1,2361	1,2712	1,2134
EX29 F3	1,7216	1,7308	1,7243	1,4661	1,5041	1,4954	1,3122	1,3707	1,3565	1,2173	1,3038	1,2786
EX29 F4	1,7484	1,7353	1,6967	1,5362	1,5294	1,4869	1,4166	1,4359	1,3994	1,3565	1,3783	1,3522
EX29 D	1,6158	1,7413	1,6597	1,3515	1,4758	1,4173	1,2007	1,3274	1,2634	1,0953	1,2143	1,1594
EX9 F1	1,5016	1,5812	1,5663	1,2616	1,3303	1,3323	1,0867	1,1670	1,1701	0,9822	1,0539	1,0634
EX9 F2	1,4935	1,5384	1,5835	1,2904	1,3208	1,3647	1,1460	1,1748	1,2081	1,0466	1,0739	1,1040
EX9 F3	1,4561	1,5185	1,5103	1,3313	1,3286	1,3237	1,1535	1,2142	1,2067	1,0673	1,1335	1,1288
EX9 F4	1,5064	1,4883	1,4647	1,3263	1,3258	1,2976	1,2106	1,2343	1,2027	1,1284	1,1656	1,1336
EX9 D	1,5011	1,5205	1,5325	1,3109	1,3432	1,3398	1,1966	1,2420	1,2282	1,1214	1,1719	1,1625
EX11 F1	1,3949	1,4040	1,4240	1,1269	1,1484	1,1743	0,9489	0,9797	1,0050	0,8336	0,8682	0,8983
EX11 F2	1,4337	1,4291	1,4478	1,2224	1,2176	1,2342	1,0737	1,0794	1,0933	0,9856	0,9837	1,0060
EX11 F3	1,4286	1,4447	1,4547	1,2477	1,2395	1,2585	1,1238	1,1252	1,1378	1,0344	1,0479	1,0603
EX11 F4	1,4547	1,4432	1,4542	1,2502	1,2660	1,2798	1,1065	1,1569	1,1609	1,0377	1,0858	1,0872
EX11 D	1,5084	1,5347	1,5288	1,3203	1,3442	1,3266	1,2022	1,2352	1,2063	1,1237	1,1642	1,1380

**AMOSTRAS:***Ocimum basilicum*

PATRÍCIA FRANCO LEAL

Atualizado dia 13/11/04

2/6/2004 PAG 01

**SUBSTITUIÇÃO DOS DADOS DAS AMOSTRAS: EX17F3, EX17DESP e EX18DESP
pelos dados realizados no dia 13/11/04**

OBJETIVO:

Análise da ação antioxidante dos extratos de O basilicum obtidos por ESC com 10 e 20% de cosolvente água extratos liofilizados (cinética).

RASTREABILIDADE:

Caderno de laboratório página 68; Arquivo atualizado: D:\Documentos\Patricia\Ms - Ocimum basilicum\O_basilicum_02_06_04_ATUALIZADO_13_11_04_português

RESPONSÁVEL:

Patrícia Franco Leal

Absorbância

Código	t=0h (TRIPLICATA)			t=1h			t=2h			t=3h		
Controle	0,8731	0,9166	0,9203	0,5700	0,6105	0,6176	0,4668	0,5189	0,5266	0,4280	0,4869	0,4956
EX13 F1	0,9118	0,9097	0,9033	0,7889	0,7825	0,7862	0,7257	0,7348	0,7376	0,6919	0,7053	0,7115
EX13 F2	0,9281	0,9196	0,9194	0,8256	0,8350	0,8488	0,7770	0,7980	0,8044	0,7467	0,7700	0,7823
EX13 F3	0,9242	0,9200	0,9208	0,7617	0,8115	0,8210	0,7065	0,7853	0,7753	0,6710	0,7556	0,7511
EX13 F4	0,9283	0,9267	0,9068	0,7946	0,8352	0,7823	0,7365	0,7876	0,7288	0,7131	0,7611	0,7072
EX13 D	0,9199	0,9318	0,9466	0,7773	0,8043	0,8079	0,7346	0,7510	0,7420	0,7085	0,7465	0,7297
EX17 F1	0,8560	0,8637	0,8779	0,7561	0,7770	0,7963	0,7067	0,7289	0,7520	0,6816	0,7035	0,7303
EX17 F2	0,9020	0,8770	0,9050	0,8102	0,8259	0,8125	0,7597	0,7772	0,7677	0,7337	0,7584	0,7494
EX17 F3	0,6782	0,5568	0,6393	0,6649	0,4621	0,6611	0,5997	0,4234	0,6835	0,5631	0,3921	0,6529
EX17 D	0,6407	0,6412	0,6101	0,5637	0,7002	0,5977	0,5578	0,7108	0,5907	0,5166	0,7154	0,6106
EX18 F1	0,8893	0,8881	0,8876	0,7989	0,8104	0,8076	0,7530	0,7730	0,7634	0,7307	0,7549	0,7430
EX18 F2	0,8946	0,9049	0,9001	0,8031	0,8004	0,8039	0,7457	0,7532	0,7627	0,7247	0,7402	0,7518
EX18 F3	0,8867	0,8970	0,8694	0,8575	0,8419	0,7866	0,9439	0,8480	0,7522	0,9896	0,8971	0,7494
EX18 F4	0,9116	0,9735	0,8752	0,8881	0,9882	0,8105	0,9191	1,0160	1,0081	0,9387	1,0487	0,8039
EX18 D	0,7780	0,8774	0,6663	0,7230	0,8629	0,6107	0,6859	0,8975	0,5890	0,6624	0,9190	0,5789

**AMOSTRAS:****OBJETIVO:***Análise da ação antioxidante dos extratos de A alata e A satureioides***RASTREABILIDADE:***Caderno de laboratório página 50; Arquivo: D:\Documentos\Patricia\Ação Antioxidante Achyrocline_23_04_04***RESPONSÁVEL:***Patrícia Franco Leal***Absorbância (470 nm)**

PATRÍCIA FRANCO LEAL

23/4/2004 PAG 01

ATUALIZADO DIA 22 DE
SEMBRO DE 2004

Amostra	t reação = 0 horas (triplicatas)			t reação = 1 hora (triplicatas)		
controle	1,6103	1,6155	1,6129	0,9496	0,9695	0,9846
CPQBA01	2,4609	2,4337	2,3498	2,1998	2,1759	2,0793
CPQBA05	2,2473	2,8460	2,6193	1,9702	2,9716	2,6239
CPQBA08	2,4962	2,4100	2,3944	2,2757	2,1720	2,1442
CPQBA09	2,2124	2,3627	2,7286	1,9723	2,1195	2,7076
CPQBA12	2,2242	2,3246	2,4024	2,0532	2,1532	2,2151
CPQBA14	2,4846	2,6383	2,5711	2,3047	2,4423	2,4880
CPQBA15	2,1364	2,3482	2,2423	1,9476	2,1730	2,0603
CPQBA17	1,9945	1,9960	2,0461	1,8344	1,8622	1,9347
CPQBA26	2,3877	2,8057	2,6995	2,2362	2,4104	2,5846
CPQBA27	2,5070	2,6800	2,7615	2,3809	2,6290	2,8556
CPQBA28	2,2043	2,0791	1,9589	2,1806	2,1920	1,8269
CPQBA29	2,4506	2,4137	2,5442	2,3003	2,3331	2,4547

Amostra	t reação = 2 horas (triplicatas)			t reação = 3 horas (triplicatas)		
controle	0,6758	0,7079	0,7165	0,5879	0,6175	0,6312
CPQBA01	2,0823	2,0790	2,0140	2,0239	2,0274	1,9685
CPQBA05	1,8936	2,8886	2,5580	1,8320	2,8284	2,5421
CPQBA08	2,1601	2,0621	2,0551	2,0142	2,0147	2,0031
CPQBA09	1,8393	2,0337	2,6027	1,7095	1,9736	2,5686
CPQBA12	2,1923	2,3391	2,4135	1,8736	1,9989	2,0635
CPQBA14	2,2042	2,3581	2,4259	2,1386	2,2876	2,3820
CPQBA15	1,8658	2,0889	1,9774	1,7900	2,0365	1,9133
CPQBA17	1,7429	1,7912	1,8632	1,6906	1,7519	1,8288
CPQBA26	2,1489	2,3486	2,5482	2,0856	2,2854	2,4851
CPQBA27	2,3171	2,5796	2,8829	2,2752	2,5241	2,8186
CPQBA28	2,0918	1,8498	1,7573	2,0229	1,8031	1,7115
CPQBA29	2,2147	2,3049	2,3957	2,1381	2,2207	2,3393

Média das Absorbâncias

Amostra	t = 0h	t = 1h	t = 2h	t = 3h
controle	1,6129	0,9679	0,7001	0,6122
CPQBA01	2,4148	2,1517	2,0584	2,0066
CPQBA05	2,5709	2,5219	2,4467	2,4008
CPQBA08	2,4335	2,1973	2,0924	2,0107
CPQBA09	2,4346	2,2665	2,1586	2,0839
CPQBA12	2,3171	2,1405	2,3150	1,9787
CPQBA14	2,5647	2,4117	2,3294	2,2694
CPQBA15	2,2423	2,0603	1,9774	1,9133
CPQBA17	2,0122	1,8771	1,7991	1,7571
CPQBA26	2,6310	2,4104	2,3486	2,2854
CPQBA27	2,6495	2,6218	2,5932	2,5393
CPQBA28	2,0808	2,0665	1,8996	1,8458
CPQBA29	2,4695	2,3627	2,3051	2,2327

**AMOSTRAS:**

Achyrocline alata e Achyrocline satureioides

PATRÍCIA FRANCO LEAL

2/6/2004 PAG 01

OBJETIVO:

Análise da ação antioxidante dos extratos de A alata e sautureioides obtidos por hidrodestilação e extração com etanol por centrifugação.

RASTREABILIDADE:

Caderno de laboratório página 79

RESPONSÁVEL:

Patrícia Franco Leal

Absorbância

Código	t=0h (TRIPLICATA)			t=1h			t=2h			t=3h		
Controle	0,8731	0,9166	0,9203	0,5700	0,6105	0,6176	0,4668	0,5189	0,5266	0,4280	0,4869	0,4956
OE_Aa	1,1618	1,1948	1,2357	0,9726	0,9868	1,0415	0,8810	0,8993	0,9550	0,8355	0,8656	0,9164
OE_As	0,9029	0,9050	0,9135	0,6357	0,6469	0,6521	0,5411	0,5577	0,5686	0,5079	0,5286	0,5423
EF_Aa	1,1096	1,2245	1,0235	0,9833	1,1896	0,9773	0,9594	1,1666	0,9623	0,9382	1,1557	0,9600
EF_As	1,0815	1,1258	1,1395	1,0241	1,0844	1,0874	1,0570	1,0641	1,0050	1,0426	1,0573	0,9971

8.6 Seção de Fotos

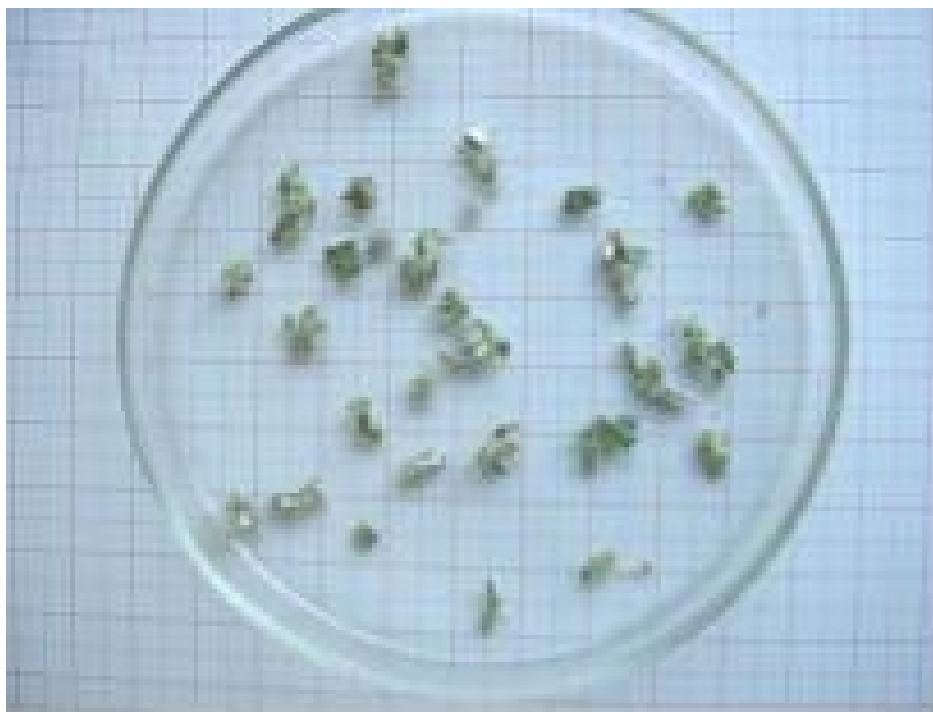


Figura 8. 51 Macela_s após corte manual com tesoura.

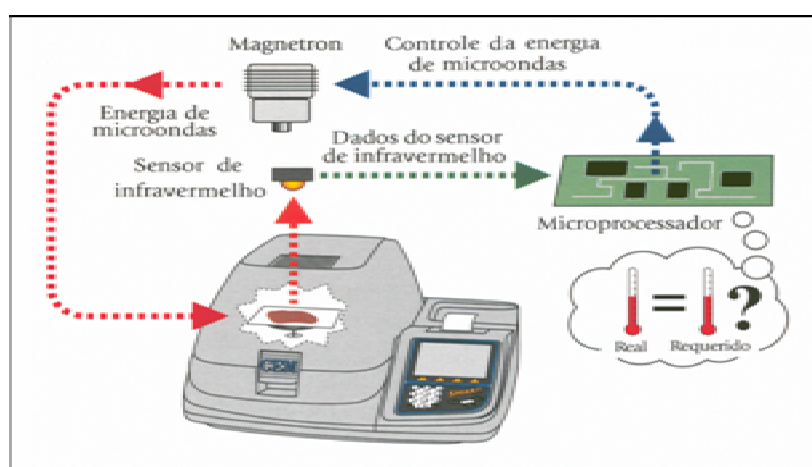


Figura 8. 52 Analisador de umidade com aplicador de microondas.

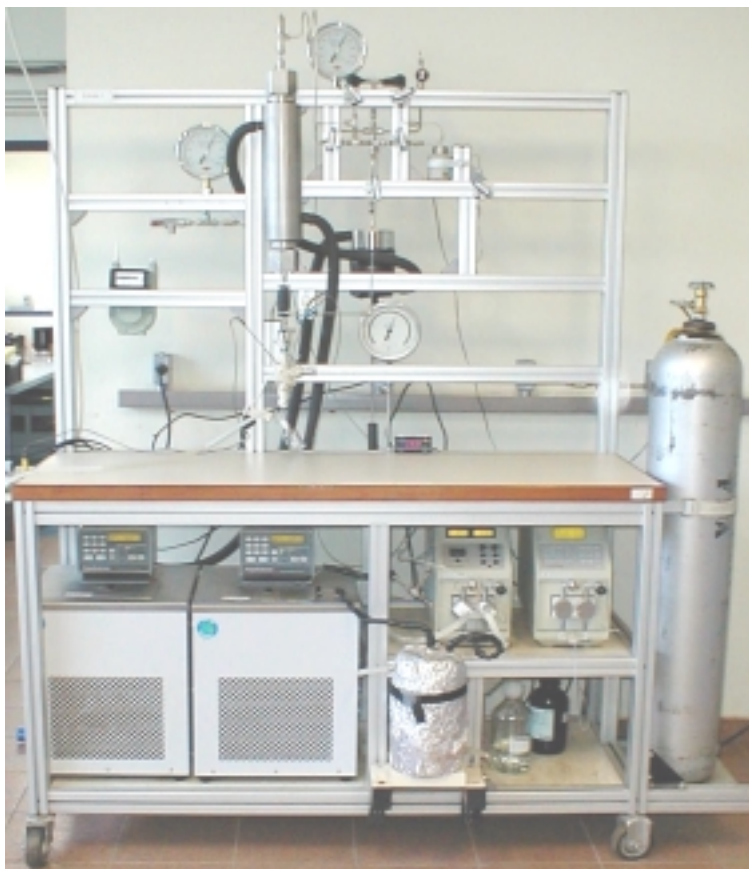


Figura 8. 53 Unidade de Extração Supercrítica semi-contínua.



Figura 8. 54 Unidade de Extração Supercrítica semi-contínua (Spe-ed).



Figura 8. 55 Células de extração (Thar Designs, Pittsburg, PA, Estados Unidos) de 3, 5 e 300 mL.



Figura 8. 56 Hidrodestilador usado para obtenção de óleo volátil de manjerição.



Figura 8. 57 Microhidrodestilador usado para extração de óleo volátil de macela.

8.7 Cálculo da mistura CO₂ + H₂O

A bomba do extrator trabalha com volume e, portanto a mistura é expressa em percentagem de co-solvente (volume por volume). O esquema a seguir, mostra com que densidade o solvente e co-solvente está entrando na bomba. A partir do dado de densidade, é possível realizar o cálculo que converte a percentagem de co-solvente de volumétrica para mássica, considerando como volume de controle de 1 m³ (solvente + co-solvente).

1% do co-solvente água (v/v):

$$\text{CO}_2 : 0,99\text{m}^3 \times \rho_{\text{CO}_2} = 0,99\text{m}^3 \times 1002,1 \frac{\text{kg}}{\text{m}^3} = 992,08\text{kg}$$

$$\text{H}_2\text{O} : 0,01\text{m}^3 \times \rho_{\text{H}_2\text{O}} = 0,01\text{m}^3 \times 997,3 \frac{\text{kg}}{\text{m}^3} = 9,98\text{kg}$$

Portanto, a percentagem (m/m) do co-solvente H₂O é 0,99% $\cong$ 1% (m/m) ou em fração mássica: CO₂:H₂O = 99:1.

5% do co-solvente água (v/v):

$$\text{CO}_2 : 0,95\text{m}^3 \times \rho_{\text{CO}_2} = 0,95\text{m}^3 \times 1002,1 \frac{\text{kg}}{\text{m}^3} = 952,99\text{kg}$$

$$\text{H}_2\text{O} : 0,05\text{m}^3 \times \rho_{\text{H}_2\text{O}} = 0,05\text{m}^3 \times 997,3 \frac{\text{kg}}{\text{m}^3} = 49,87\text{kg}$$

Portanto, a percentagem (m/m) do co-solvente H₂O é 4,97% $\cong$ 5% (m/m) ou em fração mássica: CO₂:H₂O = 95:5.

10% do co-solvente água (v/v):

$$\text{CO}_2 : 0,90\text{m}^3 \times \rho_{\text{CO}_2} = 0,90\text{m}^3 \times 1002,1 \frac{\text{kg}}{\text{m}^3} = 901,89\text{kg}$$

$$\text{H}_2\text{O} : 0,10\text{m}^3 \times \rho_{\text{H}_2\text{O}} = 0,10\text{m}^3 \times 997,3 \frac{\text{kg}}{\text{m}^3} = 99,73\text{kg}$$

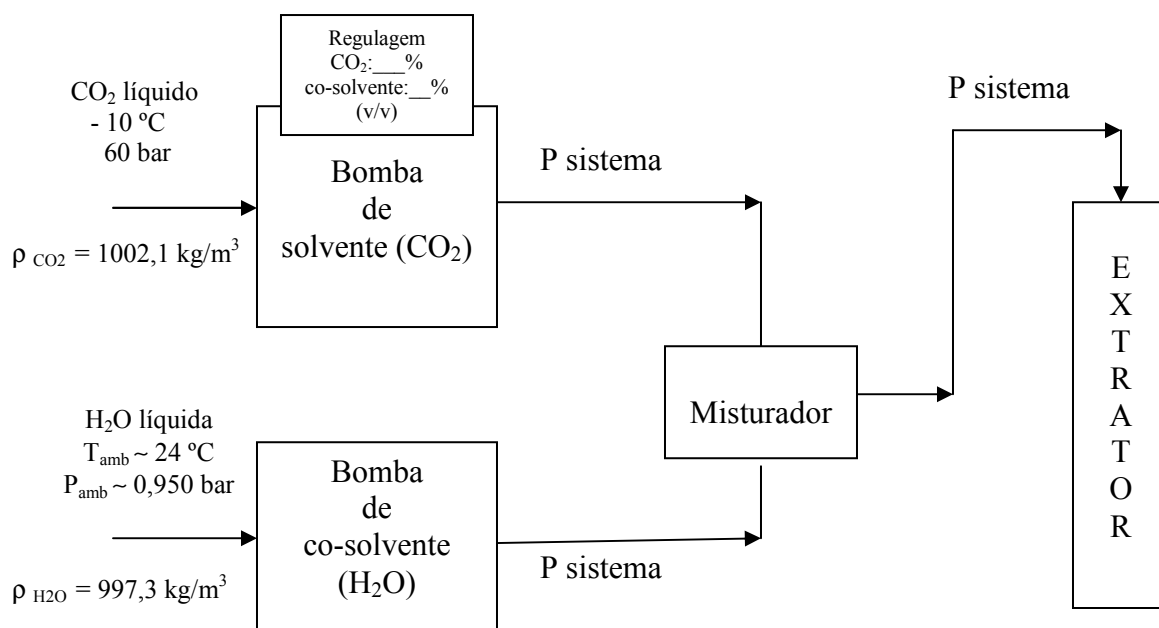
Portanto, a porcentagem (m/m) do co-solvente H_2O é $9,6\% \cong 10\%$ (m/m) ou em fração mássica: $\text{CO}_2:\text{H}_2\text{O} = 90:10$.

20% do co-solvente água (v/v):

$$\text{CO}_2 : 0,80\text{m}^3 \times \rho_{\text{CO}_2} = 0,80\text{m}^3 \times 1002,1 \frac{\text{kg}}{\text{m}^3} = 801,68\text{kg}$$

$$\text{H}_2\text{O} : 0,20\text{m}^3 \times \rho_{\text{H}_2\text{O}} = 0,20\text{m}^3 \times 997,3 \frac{\text{kg}}{\text{m}^3} = 199,46\text{kg}$$

Portanto, a porcentagem (m/m) do co-solvente H_2O é $19,9\% \cong 20\%$ (m/m) ou em fração mássica: $\text{CO}_2:\text{H}_2\text{O} = 80:20$.



8.8 Planilha de Cálculo do erro presumido do Rendimento Global de Extração (Xo) para os experimentos do manjeriço

A equação para cálculo do erro presumido associado à obtenção do Rendimento Global de Extração (Xo) é apresentada a seguir (Eq. 8.1).

$$\partial X_o = X_o(b.s.) \times \left(\frac{\rho(M_{extr})}{M_{extr}} + \frac{\rho(Mmp(b.u.))}{Mmp(b.u.)} + \frac{\rho(Mmp(b.s.))}{Mmp(b.s.)} \right) \quad \text{Eq. 8-1}$$

onde:

∂X_o : erro presumido do Rendimento Global de Extração;

X_o : Rendimento Global de Extração;

$\frac{\rho(M_{extr})}{M_{extr}}$: erro referente a pesagem do extrato na balança analítica, considerando quantas medidas foram necessárias para a obtenção do valor de massa de extrato final (M_{extr});

$\frac{\rho(Mmp(b.u.))}{Mmp(b.u.)}$: erro referente a pesagem da matéria-prima de alimentação do extrator, considerando a tara da balança e a obtenção da massa de matéria-prima úmida ($Mmp(b.u.)$);

$\frac{\rho(Mmp(b.s.))}{Mmp(b.s.)}$: erro referente a pesagem da matéria-prima durante a obtenção da umidade no equipamento CEM, modelo Smart 5, precisão de leitura 0,0001g, Matthews, EUA);

Cálculo do ERRO PREZUMIDO na determinação do Rendimento Global de Extração (Xo)

Patrícia Franco Leal

MANJERICÃO		em %	em gramas						No FC *
Ensaio	∂ Xo	Xo (b.s)	Mmp (b.u)	ρ Mmp(b.u)	Mmp (b.s)	ρ Mmp (b.s)	Mextr (b.s)	ρ Mextr (b.s)	de extrato
EX09	0,18	21,4	3,03	0,02	2,72	0,0002	0,5825	0,001	5
EX11	0,16	17,9	3,01	0,02	2,71	0,0002	0,4847	0,001	5
Ex12	0,14	15,1	3,01	0,02	2,71	0,0002	0,4087	0,001	5
EX13	0,12	11,9	3,00	0,02	2,70	0,0002	0,3204	0,001	5
EX15	0,14	15,1	3,03	0,02	2,72	0,0002	0,4119	0,001	5
EX17	0,18	20,7	3,00	0,02	2,70	0,0002	0,5590	0,001	5
EX18	0,20	24,2	3,00	0,02	2,70	0,0002	0,6540	0,001	5
EX19	0,19	23,0	3,03	0,02	2,72	0,0002	0,6243	0,001	5
EX20	0,11	10,8	2,99	0,02	2,69	0,0002	0,2909	0,001	5
EX22	0,10	9,2	3,00	0,02	2,70	0,0002	0,2479	0,001	5
EX23	0,12	12,2	3,01	0,02	2,71	0,0002	0,3316	0,001	5
EX25	0,09	7,97	2,98	0,02	2,68	0,0002	0,2136	0,001	5
EX26	0,10	9,3	3,03	0,02	2,72	0,0002	0,2518	0,001	5
EX27	0,10	9,2	3,00	0,02	2,70	0,0002	0,2497	0,001	5
EX28	0,10	9,0	3,03	0,02	2,72	0,0002	0,2456	0,001	5
EX29	0,10	9,8	3,04	0,02	2,72	0,0002	0,2654	0,001	5
EX31	0,06	3,22	3,02	0,02	2,71	0,0002	0,0873	0,001	5
EX33	0,05	2,43	3,03	0,02	2,72	0,0002	0,0662	0,001	5
EX42	0,03	2,02	2,50	0,02	2,25	0,0002	0,0454	0,0002	1
EX44	0,02	1,24	2,50	0,02	2,25	0,0002	0,0279	0,0002	1
EX46	0,02	1,29	2,50	0,02	2,25	0,0002	0,0291	0,0002	1
EX47	0,02	1,20	2,50	0,02	2,25	0,0002	0,0270	0,0002	1
EX49	0,02	1,08	2,50	0,02	2,25	0,0002	0,0243	0,0002	1
EX52	0,02	1,77	2,50	0,02	2,25	0,0002	0,0398	0,0002	1
EX54	0,02	1,88	2,50	0,02	2,25	0,0002	0,0424	0,0002	1
EX56	0,02	0,98	2,50	0,02	2,25	0,0002	0,0220	0,0002	1
EX58	0,02	1,10	2,50	0,02	2,25	0,0002	0,0247	0,0002	1
EX59	0,02	1,22	2,50	0,02	2,25	0,0002	0,0274	0,0002	1

* FC: Frascos de coleta de extrato.

8.9 Planilha de cálculo do erro presumido do Rendimento Global de Extração (X_o) e a amplitude em relação à média das duplicatas dos experimentos de extração das macelas

A equação para cálculo do erro presumido associado à obtenção do Rendimento Global de Extração (X_o) foi apresentada anteriormente no item 8.8 (Eq. 8.1). A seguir encontra-se a planilha com os valores de erro presumido e amplitude da média.

Cálculo do ERRO PREZUMIDO na determinação do Rendimento Global de Extração (Xo)

Patrícia Franco Leal

ACHYROCLINE em gramas									No FC*	média	amplitude
Ensaio	∂ Xo	Xo (b.s)	Mmp (b.u)	ρ Mmp(b.u)	Mmp (b.s)	ρ Mmp (b.s)	Mextr (b.s)	ρ Mextr (b.s)	de extrato		
CPQBA01	0,02	1,33	2,52	0,02	2,27	0,0002	0,0301	0,0002	1	1,26	0,07
CPQBA02	0,02	1,19	2,49	0,02	2,24	0,0002	0,0266	0,0002	1		
CPQBA05	0,03	3,15	2,61	0,02	2,35	0,0002	0,0740	0,0002	1	2,59	0,56
CPQBA06	0,03	2,03	2,26	0,02	2,03	0,0002	0,0413	0,0002	1		
CPQBA07	0,04	3,34	2,33	0,02	2,09	0,0002	0,0699	0,0002	1	3,73	0,39
CPQBA08	0,05	4,13	2,30	0,02	2,07	0,0002	0,0853	0,0002	1		
CPQBA09	0,03	2,76	2,24	0,02	2,01	0,0002	0,0556	0,0002	1	2,57	0,19
CPQBA10	0,03	2,38	2,24	0,02	2,01	0,0002	0,0479	0,0002	1		
CPQBA11	0,05	4,21	2,24	0,02	2,01	0,0002	0,0847	0,0002	1	4,16	0,04
CPQBA12	0,05	4,12	2,24	0,02	2,01	0,0002	0,0829	0,0002	1		
CPQBA13	0,04	3,28	2,29	0,02	2,06	0,0002	0,0675	0,0002	1	3,31	0,03
CPQBA14	0,04	3,34	2,28	0,02	2,05	0,0002	0,0684	0,0002	1		
CPQBA22	0,01	0,41	2,34	0,02	2,10	0,0002	0,0087	0,0002	1	0,53	0,12
CPQBA28	0,02	0,65	2,25	0,02	2,02	0,0002	0,0131	0,0002	1		
CPQBA29	0,03	2,66	2,44	0,02	2,19	0,0002	0,0582	0,0002	1	2,59	0,07
CPQBA24	0,03	2,51	2,29	0,02	2,06	0,0002	0,0517	0,0002	1		
CPQBA25	0,03	2,20	2,24	0,02	2,01	0,0002	0,0443	0,0002	1	2,22	0,02
CPQBA27	0,03	2,24	2,41	0,02	2,16	0,0002	0,0485	0,0002	1		
CPQBA15	0,02	1,56	2,34	0,02	2,10	0,0002	0,0327	0,0002	1	1,39	0,17
CPQBA16	0,02	1,22	2,33	0,02	2,09	0,0002	0,0255	0,0002	1		
CPQBA17	0,03	2,60	2,32	0,02	2,08	0,0002	0,0542	0,0002	1	2,40	0,20
CPQBA18	0,03	2,21	2,30	0,02	2,07	0,0002	0,0456	0,0002	1		
CPQBA20	0,03	2,00	2,32	0,02	2,08	0,0002	0,0416	0,0002	1	1,96	0,03
CPQBA27	0,03	1,93	2,21	0,02	1,98	0,0002	0,0383	0,0002	1		

* FC: Frascos de coleta de extratos.



Foto do amanhecer do dia, registrada durante colheita matinal diária do Ocimum basilicum fresco, 10 de julho de 2003, 7:00h, IAC, Campinas, SP (registrada por Érika C. Cren).

“De tudo ficaram três coisas:

*A certeza de que estamos começando, a certeza de que é preciso continuar
e a certeza de que podemos ser interrompidos antes de terminar. Fazer da
interrupção um caminho novo, fazer da queda um passo de dança, do medo
uma escada, do sonho uma ponte, da procura um encontro. Fica a promessa
do reencontro... Fica o desejo de boa sorte...
Fica a vontade de que lutes e venças.”*

Fernando Sabino