



RODRIGO NUNES CAVALCANTI

**EXTRAÇÃO DE ANTOCIANINAS DE RESÍDUO DE
JABUTICABA (*Myrciaria cauliflora*) UTILIZANDO LÍQUIDO
PRESSURIZADO E FLUIDO SUPERCRÍTICO: caracterização
química, avaliação econômica e modelagem matemática**

**CAMPINAS
2013**



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS**

RODRIGO NUNES CAVALCANTI

**EXTRAÇÃO DE ANTOCIANINAS DE RESÍDUO DE
JABUTICABA (*Myrciaria cauliflora*) UTILIZANDO LÍQUIDO
PRESSURIZADO E FLUIDO SUPERCRÍTICO: caracterização
química, avaliação econômica e modelagem matemática**

Orientador(a): Profa. Dra. Maria Angela de Almeida Meireles

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos da Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas para obtenção do Título de Doutor em Engenharia de Alimentos.

**ESTE EXEMPLAR CORRESPONDE À VERSÃO FINAL DA TESE
DEFENDIDA PELO ALUNO RODRIGO NUNES CAVALCANTI
E ORIENTADO PELA PROFA.DRA.MARIA ANGELA A. MEIRELES**

Assinatura do Orientador

**CAMPINAS
2013**

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA POR
CLAUDIA AP. ROMANO DE SOUZA – CRB8/5816 - BIBLIOTECA DA FACULDADE DE
ENGENHARIA DE ALIMENTOS – UNICAMP

C314e Cavalcanti, Rodrigo Nunes
Extração de antocianinas de resíduo de jaboticaba
(*Myrciaria cauliflora*) utilizando líquido pressurizado e fluido
supercrítico: caracterização química, avaliação econômica e
modelagem matemática / Rodrigo Nunes Cavalcanti. --
Campinas, SP: [s.n.], 2013.

Orientador: Maria Angela de Almeida Meireles.
Tese (doutorado) - Universidade Estadual de Campinas,
Faculdade de Engenharia de Alimentos.

1. Antocianinas. 2. Jaboticaba. 3. Resíduo. 4. Fluido
supercrítico. 5. Extração de líquido pressurizado. I.
Meireles, Maria Angela de Almeida. II. Universidade Estadual
de Campinas. Faculdade de Engenharia de Alimentos. III.
Título.

Informações para Biblioteca Digital

Título em inglês: Extraction of anthocyanins from jaboticaba (*Myrciaria cauliflora*) byproduct using pressurized liquid and supercritical fluid: chemical characterization, economic evaluation and mathematical modeling.

Palavras-chave em Inglês:

Anthocyanins

Jaboticaba

Byproduct

Supercritical fluid

Pressurized liquid extraction

Área de concentração: Engenharia de Alimentos

Titulação: Doutor em Engenharia de Alimentos

Banca examinadora:

Maria Angela de Almeida Meireles [Orientador]

Adriano Gomes da Cruz

Cintia Bernardo Gonçalves

Gislaine Chrystina Nogueira de Faria

Marcio Antonio Mazutti

Data da defesa: 08-04-2013

Programa de Pós Graduação: Engenharia de Alimentos

Banca Examinadora

Profa. Dra. Maria Angela de Almeida Meireles
Orientador(a)
FEA/UNICAMP

Prof. Dr. Adriano Gomes da Cruz
Membro Titular
IFRJ

Profa. Dra. Cintia Bernardo Gonçalves
Membro Titular
FZEA/USP

Profa. Dra. Gislaine Chrystina Nogueira de Faria
Membro Titular
FEA/UNICAMP

Prof. Dr. Marcio Antonio Mazutti
Membro Titular
URI

Profa. Dra. Alessandra Lopes de Oliveira
Membro Suplente
FZEA/USP

Profa. Dra. Losiane Cristina Paviani Diehl
Membro Suplente
FEA/UNICAMP

Profa. Dra. Miriam Dupas Hubinger
Membro Suplente
FEA/UNICAMP

*A Deus, pelas lições de vida, crescimento, força,
fé, sucesso e esperança*

*A minha mãe, Maria Dilenia, pelo amor e por
acreditar em mim mesmo nos momentos em que
eu duvidei.*

*Aos meus irmãos Ricardo e Eduardo, pelo amor
que nos une.*

AGRADECIMENTOS

A Deus, por estar sempre presente na minha vida, guardando, guiando e iluminando a mim e a toda minha família.

A minha família por todo apoio, conforto, amor, carinho e compreensão que tanto me foram importantes nos momentos difíceis, e também nos felizes.

A minha mãe por todo carinho, amor, compreensão, respeito e incentivo em todos os momentos sempre sendo um porto seguro e guia nas estradas mais difíceis.

À minha orientadora, Maria Angela de Almeida Meireles, pelos ensinamentos técnico-científicos e pelos aconselhamentos muito prudentes e úteis.

Ao programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos da Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), por ter permitido a realização deste trabalho.

Ao CNPq pelo financiamento deste trabalho através da concessão da bolsa de estudos através do projeto 140290/2009-5.

À FAPESP pelo apoio financeiro para a realização deste trabalho através do projeto 2009/17234-9.

A todos que compõem o Grupo LASEFI, pelos treinamentos, discussões e apoio técnico-científico.

Aos colegas pós-graduandos pela ajuda e momentos de descontração.

A amiga Glaucia Vieira pela parceria nas análises cromatográficas e pelo desenvolvimento do método de determinação de fenólicos e antocianinas.

Aos amigos, Glaucia Vieira, Cristiane Kelly, Julice Dutra, Carolina Albuquerque, Adriano Cruz, Juliano Fiori, Patricia Araújo-Farro e Vanessa Silva por todo apoio técnico-científico, paciência, carinho e amizade que tanto me foram úteis na realização deste trabalho e nos momentos de dificuldade.

*“Jamais se desespere em meio as mais sombrias aflições da vida, pois das nuvens mais
negras cai água límpida e fecunda.”*

(Provérbio chinês)

Tese de Doutorado

AUTOR: Rodrigo Nunes Cavalcanti.

TÍTULO: Extração de antocianinas de resíduo de jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*) utilizando líquido pressurizado e fluido supercrítico: caracterização química, avaliação econômica e modelagem matemática.

ORIENTADORA: Profa. Dra. Maria Angela de Almeida Meireles.

Resumo

Atualmente, o conhecimento científico sobre a utilização de produtos naturais com propriedades funcionais, a exigência do consumidor quanto à qualidade dos alimentos, bem como ações legislativas para redução do uso de corantes sintetizados quimicamente têm propiciado o aumento da utilização de corantes naturais. Dentre estes, as antocianinas constituem pigmentos aquosolúveis responsáveis pelas principais cores encontradas na natureza, podendo variar desde o laranja, vermelho, violeta até o azul. Antocianinas são moléculas polares derivadas do cátion flavilium (C6-C3-C6) constituindo um importante subgrupo dos flavonóides. As principais propriedades biológicas atribuídas às antocianinas são atividade: antiinflamatória, anticarcinogênica e antioxidante. Diversos métodos de extração têm sido utilizados na obtenção de antocianinas. A extração supercrítica apresenta vantagens consideráveis sobre os métodos convencionais: o solvente é facilmente removido do soluto; utiliza pouco ou nenhum solvente orgânico; possibilita uma rápida extração; e, por fim, opera a baixas temperaturas favorecendo a extração de produtos voláteis e termolábeis. Este trabalho visou estudar o processo de extração supercrítica de antocianinas otimizando as diversas etapas do processo através de ensaios experimentais, simulação e comparação com outro(s) método(s) de extração. Inicialmente fez-se a caracterização da matéria-prima a qual apresentou altos teores de proteínas, carboidratos e fibras. As extrações via extração com fluido supercrítico (SFE – *supercritical fluid extraction*) e extração com líquido pressurizado (PLE – *pressurized liquid extraction*) utilizaram etanol, isopropanol e água como co-solvente e solvente, respectivamente. A composição dos extratos foi avaliada por espectrofotometria apresentando altos teores de fenólicos, flavonóides, antocianinas e atividade antioxidante em relação aos dados da literatura. Os melhores rendimentos de compostos fenólicos, flavonóides e atividade antioxidante foram obtidos por SFE utilizando co-solventes alcoóis. Já com relação ao teor de antocianinas houve pouca diferença entre os métodos PLE e SFE os quais atingiram melhores resultados utilizando água e alcoóis como solvente e co-solventes, respectivamente. De acordo com os resultados de tempo de retorno e custo de manufatura ambos os métodos de extração

foram economicamente viáveis para a produção de extrato bruto de subproduto de jabuticaba. Os menores custos foram obtidos nas condições que apresentaram maior rendimento de extração e nas células extratoras de maior capacidade volumétrica. O estudo dos parâmetros cinéticos indicam que os melhores resultados foram obtidos utilizando alta vazão de solvente para ambos os processos SFE e PLE.

Palavras-chave: Pigmentos naturais, Antocianina, Extração com fluido supercrítico, Avaliação econômica, Extração com líquido pressurizado, Subproduto industrial.

DOCTORATE THESIS

AUTHOR: Rodrigo Nunes Cavalcanti

TITLE: Extraction of anthocyanins from jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*) byproduct using pressurized liquid and supercritical fluid: chemical characterization, economic evaluation and mathematical modeling.

ADVISOR: Profa. Dra. Maria Angela de Almeida Meireles

Abstract

Currently, scientific knowledge about the use of natural products with functional properties, the consumer demand for quality food, as well as legislative action to reduce the use of chemically synthesized colorants have prompted an increasing use of natural colorants. Among these, anthocyanin are water-soluble pigments responsible for main colors found in nature ranging from orange, through red and violet to blue. Anthocyanins are polar molecules derived from the flavilium cation (C6-C3-C6) constituting an important subgroup of flavonoids. The main biological properties of anthocyanins are activity: anti-inflammatory, anticarcinogenic and antioxidant. Several extraction methods have been used to obtain anthocyanins. Supercritical fluid extraction has considerable advantages over conventional methods: the solvent is easily removed from the solute; uses little or no organic solvent, enables a rapid extraction and, finally, operates at low temperatures favoring the extraction of volatile and thermolabile compounds. This work aims to study the process of supercritical extraction of anthocyanins optimizing the various steps of the process through experimental testing, simulation and comparison with other(s) extraction method(s). Initially it was made the characterization of raw material which showed high levels of protein, carbohydrates and fiber. The extractions were carried out via SFE and PLE using ethanol, isopropanol and water as co-solvent and solvent, respectively. The extracts composition was evaluated by spectrophotometry showing high levels of phenolics, flavonoids, anthocyanins and antioxidant activity (%AA) with respect to the literature data. The highest phenolics and flavonoids content and %AA were obtained by SFE using alcohols as co-solvent. On the other hand, anthocyanins content achieve the best results using water and alcohols as a solvent and co-solvents, respectively. According to payback time and cost of manufacturing results both extraction methods were economic feasible to the production of crude extract from jabuticaba byproduct. The higher the extraction yield and extraction vessel capacity the lower the cost of manufacturing. The study of the kinetic parameters shows the best results were achieved at higher solvent mass flow for both extraction methods.

Keywords: Natural pigments, Anthocyanin, Supercritical fluid extraction, Economic evaluation, Pressurized liquid extraction, Industrial byproduct.

Lista de Ilustrações

Figura 3.1 - Estrutura química do cátion flavílio (REIN, 2005).	9
Figura 3.2 - Estrutura química das principais antocianinas encontradas na natureza.	10
Figura 3.3 - Foto de jabuticabeira centenária localizada na fazenda Santa Maria, Campinas, São Paulo, Brasil.	16
Figura 3.4 - Fotos de jabuticabas maduras em árvore centenária localizada na fazenda Santa Maria, Campinas, São Paulo, Brasil	17
Figura 3.5 - Diagrama de fases para o dióxido de carbono.	21
Figura 3.6 - Diagrama de fase para um composto puro (adaptado de VASCONCELLOS, 2007).	22
Figura 3.7 - Esquema gráfico das principais etapas do processo de extração sólido-líquido de matrizes vegetais (adaptado de TZIA e LIADAKIS, 2003).	25
Figura 3.8 - Diagrama do processo de extração com fluido supercrítico (SFE) (QUISPE-CONDORI, 2005).	27
Figura 3.9 - Curvas globais de extração (OEC) tipo I e II (adaptado de QUISPE-CONDORI, 2005; BRUNNER, 1994).	29
Figura 3.10 - Curva de extração do cravo-da-Índia (adaptado de RODRIGUES et al., 2002).	30
Figura 4.1 - Diagrama de fluxo das atividades realizadas no presente trabalho.	51
Figura 4.2 - Diagrama esquemático do processo de extração com líquido pressurizado na unidade de extração ARADIME. CO ₂ - cilindro de CO ₂ ; F - filtro de CO ₂ ; M-1, 2, 3 - Manômetros; V-1. 2, 3, 4, 5, 7 - Válvulas; BT - Banho termostático; B-1 - Bomba de CO ₂ ; V-6 - Regulador de pressão (back pressure); B-2 - Bomba tipo HPLC; RS - Reservatório do solvente; CE - Célula de extração; VM - Válvula micrométrica; CT - Controlador de temperatura; FC - Frasco coletor em banho de gelo (SANTOS, 2011).	55
Figura 4.3 - Empacotamento do leito da célula de 6,57 cm ³	56

Figura 4.4 - SFE - I: (B1) bomba de CO ₂ ; (B2) bomba de cossolvente; (CA) coluna de adsorção; (FC) frasco de coleta; (FI) filtro; (LE) leito de extração; (M) manômetros; (MI) misturador; (R1) reservatório de CO ₂ ; (R2) reservatório de cossolvente; (BT-1) Banho termostático de resfriamento; (BT-2) Banho termostático de aquecimento; (T) termopares; (TV) totalizador de vazão; (V1) válvula de bloqueio; (V2) válvula de retenção; (V3) válvula micrométrica (adaptado de PRADO, 2010).	58
Figura 4.5 - Empacotamento do leito na célula de extração de 415 cm ³ de volume.	60
Figura 4.6 - Procedimento para a determinação dos parâmetros cinéticos	62
Figura 4.7 - Cartuchos SPE C18 (a) e processador manual SPE modelo Spe-ed Mate 12 (b).	69
Figura 4.8 - Representação esquemática do processo de purificação e fracionamento dos compostos fenólicos em antocianinas e compostos fenólicos não-antociânicos em C18. Os componentes da amostra são representados por círculos em diferentes tons de cinza (Adaptação de Rodriguez-Sanoa e Wrolstald, 2002).	70
Figura 4.9 - Sistema de cromatografia líquida de ultra eficiência/ espectrômetro de massas utilizado nos experimentos. Legenda: 1 – Sistema de bombeamento, 2 – amostrador, 3- compartimento da coluna, 4 – detector de arranjo de diodos, 5 - espectrômetro de massas do tipo quadrupolo, 6 – sistema de aquisição de dados.	71
Figura 4.10 - Fluxograma do processo de obtenção de extrato de resíduo de geléia de jabuticaba via extração com fluido supercrítico (SFE) utilizando etanol ou isopropanol como cossolvente.	75
Figura 4.11 - Fluxograma do processo de obtenção de extrato de resíduo de geléia de jabuticaba via extração com fluido supercrítico (SFE) utilizando água como cossolvente.	76
Figura 4.12 - Fluxograma do processo de obtenção de extrato de resíduo de geléia de jabuticaba via extração com líquido pressurizado (PLE) utilizando etanol ou isopropanol como cossolvente.	77
Figura 4.13 - Fluxograma do processo de obtenção de extrato de resíduo de geléia de jabuticaba via extração com líquido pressurizado (PLE) utilizando etanol ou isopropanol como cossolvente.	78

Figura 5.1 - Análise granulométrica por difração a laser do resíduo de geléia de jabuticaba após moagem.	84
Figura 5.2 - Rendimentos ($X_{0,S/F=40}$) dos extratos obtidos por extração com fluido supercrítico utilizando etanol (EtOH), isopropanol (IsoC3) e água (H ₂ O) à 50 e 60 °C com pressão variando de 10 a 30 MPa.	85
Figura 5.3 - Rendimentos ($X_{0,S/F=5}$) dos extratos obtidos por extração com líquido pressurizado utilizando etanol (EtOH), isopropanol (IsoC3) e água (H ₂ O) como solventes à pressão constante de 10,34 MPa e temperatura variando de 40 a 140 °C.	86
Figura 5.4 - Teor de compostos fenólicos dos extratos obtidos com fluido supercrítico expresso em equivalentes de ácido gálico (EAG).	87
Figura 5.5 - Teor de compostos fenólicos dos extratos obtidos com líquido pressurizado expresso em equivalentes de ácido gálico (EAG).	88
Figura 5.6 - Teor de flavonóides dos extratos obtidos com fluido supercrítico expresso em equivalentes de quercetina (EQ).	89
Figura 5.7 - Teor de flavonóides dos extratos obtidos com líquido pressurizado expresso em equivalentes de quercetina (EQ).	90
Figura 5.8 - Teor de antocianinas monoméricas dos extratos obtidos com fluido supercrítico expresso em equivalente de cianidina 3-glicosídeo (EC3G).	91
Figura 5.9 - Teor de antocianinas monoméricas dos extratos obtidos com líquido pressurizado expresso em equivalente de cianidina 3-glicosídeo (EC3G).	91
Figura 5.10 - Custo de manufatura (COM) dos extratos obtidos via extração com fluido supercrítico (SFE) utilizando etanol (a), isopropanol (b) e água (c) como cossolventes. A linha pontilhada representa o preço de comercialização do extrato cotado em US\$ 69,90/kg no mercado internacional (100% Amazonia, 2012).	107
Figura 5.11 - Custo de manufatura (COM) dos extratos obtidos via extração com líquido pressurizado (PLE) utilizando etanol (a), isopropanol (b) e água (c) como solventes. A linha	

pontilhada representa o preço de comercialização do extrato cotado em US\$ 69,90/kg no mercado internacional (100% Amazonia, 2012).....	112
Figura 5.12 - Cargas fatoriais (a) e <i>scores</i> (b) das análises de componentes principais dos experimentos SFE utilizando etanol (EtOH), isopropanol (IsoC3) e água (H ₂ O) como cossolventes. A linha tracejada em vermelho (---) indica a condição otimizada para a temperatura (T°C) e pressão (PMPa) de extração avaliadas.	117
Figura 5.13 - Cargas fatoriais (a) e <i>scores</i> (b) das análises de componentes principais dos experimentos PLE utilizando etanol (EtOH), isopropanol (IsoC3) e água (H ₂ O) como solventes. A linha tracejada em vermelho (---) indica a condição otimizada para a temperatura (T°C) de extração avaliada.	121
Figura 5.14 - Cromatograma dos íons das antocianinas analisadas: delfinidina-3-glicososídeo (1); cianidina-3-glicososídeo (2), cianidina-3-rutinosídeo (3), perlagonidina-3-glicosídeo (4) e malvinidina-3-glicosídeo (5).	124
Figura 5.15 - Cromatograma dos íons dos compostos fenólicos analisados: ácido gálico (1), ácido protocatecuico (2), ácido hidroxibenzóico (3), catequina (4), ácido clorogênico (5), ácido cafeico (6), ácido sirínico (7), ácido p-coumárico (8), ácido ferrúlico (9), ácido sinápico (10), ácido elágico (11), rutina (12), ácido hidroxicinâmico (13), kaempferol-3-rutenosídeo (14), kaempferol-3-glicosídeo (15), luteolina (16), quercetina (17), ácido cinâmico (18), apigenina (19), kaempferol (20) e crisina (21).	127
Figura 5.16 - Curvas cinéticas do rendimento de extração (% b.s., (o)) e custo de manufatura (COM, US\$/kg de extrato, (♦)) obtidos via extração supercrítica utilizando etanol como cossolvente com vazão de CO ₂ de 2,53 x 10 ⁻⁴ kg/s (a) e 1,89 x 10 ⁻⁴ kg/s (b).	131
Figura 5.17 - Curvas cinéticas do rendimento de extração (% b.s., (o)) e custo de manufatura (COM, US\$/kg de extrato, (♦)) obtidos via extração supercrítica utilizando isopropanol como cossolvente com vazão de CO ₂ de 2,53 x 10 ⁻⁴ kg/s (a) e 1,89 x 10 ⁻⁴ kg/s (b).	132

Figura 5.18 - Curvas cinéticas do rendimento de extração (% b.s., (o)) e custo de manufatura (COM, US\$/kg de extrato, (♦)) obtidos via extração supercrítica utilizando água como cossolvente com vazão de CO ₂ de 2,53 x 10 ⁻⁴ kg/s (a) e 1,89 x 10 ⁻⁴ kg/s (b).	133
Figura 5.19 - Curvas cinéticas do rendimento de extração (% b.s., (o)) e custo de manufatura (COM, US\$/kg de extrato, (♦)) obtidos via extração com líquido pressurizado utilizando etanol como solvente com vazão de 1,88 x 10 ⁻⁵ kg/s (a) e 1,25 x 10 ⁻⁵ kg/s (b).	136
Figura 5.20 - Curvas cinéticas do rendimento de extração (% b.s., (o)) e custo de manufatura (COM, US\$/kg de extrato, (♦)) obtidos via extração com líquido pressurizado utilizando isopropanol como solvente com vazão de 1,88 x 10 ⁻⁵ kg/s (a) e 1,25 x 10 ⁻⁵ kg/s (b).	137
Figura 5.21 - Curvas cinéticas do rendimento de extração (% b.s., (o)) e custo de manufatura (COM, US\$/kg de extrato, (♦)) obtidos via extração com líquido pressurizado utilizando água como solvente com vazão de 1,88 x 10 ⁻⁵ kg/s (a) e 1,25 x 10 ⁻⁵ kg/s (b).	138
Figura 5.22 - Curvas globais do rendimento de extrato (% b.s.) por tempo de extração (min) via SFE a 60°C e 25 MPa utilizando etanol como cossolvente e vazão de CO ₂ de 2,53 x 10 ⁻⁴ kg/s (a) e 1,89 x 10 ⁻⁴ kg/s (b).	141
Figura 5.23 - Curvas globais do rendimento de extrato (% b.s.) por tempo de extração (min) via SFE a 60°C e 20 MPa utilizando isopropanol como cossolvente e vazão de CO ₂ de 2,53 x 10 ⁻⁴ kg/s (a) e 1,89 x 10 ⁻⁴ kg/s (b).	142
Figura 5.24 - Curvas globais do rendimento de extrato (% b.s.) por tempo de extração (min) via SFE a 50°C e 30 MPa utilizando água como cossolvente e vazão de CO ₂ de 2,53 x 10 ⁻⁴ kg/s (a) e 1,89 x 10 ⁻⁴ kg/s (b).	143
Figura 5.25 - Curvas globais do rendimento de extrato (% b.s.) por tempo de extração (min) via PLE a 10,34 MPa e 80°C utilizando etanol como solvente à vazão de 1,88 x 10 ⁻⁵ kg/s (a) e 1,25 x 10 ⁻⁵ kg/s (b).	146

Figura 5.26 - Curvas globais do rendimento de extrato (% b.s.) por tempo de extração (min) via PLE a 10,34 MPa e 100°C utilizando isopropanol como solvente à vazão de $1,88 \times 10^{-5}$ kg/s (a) e $1,25 \times 10^{-5}$ kg/s (b).	147
Figura 5.27 - Curvas globais do rendimento de extrato (% b.s.) por tempo de extração (min) via PLE a 10,34 MPa e 100°C utilizando água como solvente à vazão de $1,88 \times 10^{-5}$ kg/s (a) e $1,25 \times 10^{-5}$ kg/s (b).	148
Figura 10.1 - Curva padrão de ácido gálico para método de determinação do teor de fenólicos totais.	183
Figura 10.2 - Curva padrão de quercetina para método de determinação do teor de flavonóides totais	183
Figura 10.3 - Curva padrão do radical DPPH para método de atividade antioxidante DPPH.	184
Figura 10.4 - Curva padrão de Trolox® para método de atividade antioxidante DPPH.	184
Figura 10.5 - Curva padrão de sulfato ferroso para método de atividade antioxidante FRAP.....	185
Figura 10.6 - Curva padrão de Trolox® para método de atividade antioxidante FRAP.....	185

Lista de Tabelas

Tabela 3.1 - Antocianinas mais frequentes em alimentos e suas fontes.....	13
Tabela 3.2 - Principais espécies de jabuticabeiras, seus nomes comuns e origens.	17
Tabela 3.3 – Teor de umidade (%) e composição centesimal (% em base seca (b.s.)) da jabuticaba madura.....	19
Tabela 3.4 - Valores característicos de acordo com o estado de agregação (BRUNNER, 1994).	23
Tabela 4.1 - Parâmetros operacionais adotados para os ensaios de extração com líquido pressurizado utilizando etanol, isopropanol e água como solventes.	54
Tabela 4.2 - Parâmetros operacionais adotados para os ensaios de extração com fluido supercrítico utilizando etanol, isopropanol e água como co-solventes.	57
Tabela 4.3 - Condições analíticas do ESI-MS para as frações antociânica (ESI ⁺) e de ácidos fenólicos e flavonoides não-antociânicos (ESI ⁻) presentes nos extratos obtido a partir do resíduo de jabuticaba	72
Tabela 4.4 - Parâmetros econômicos de entrada do programa SuperPro Designer 6.0 [®]	80
Tabela 5.1 – Teor de umidade e composição centesimal do resíduo da fabricação de geléia de jabuticaba (<i>Myrciaria cauliflora</i>).....	83
Tabela 5.2 - Parâmetros do leito fixo de extração dos processos de extração com fluido supercrítico (SFE) e extração com líquido pressurizado (PLE).	84
Tabela 5.3 - Atividade antioxidante dos extratos obtidos por extração com fluido supercrítico (SFE) expressa pelos métodos DPPH e FRAP utilizando etanol (EtOH) como cossolvente.	94
Tabela 5.4 - Atividade antioxidante dos extratos obtidos por extração com fluido supercrítico (SFE) expressa pelos métodos DPPH e FRAP utilizando isopropanol (IsoC ₃) como cossolvente.	95
Tabela 5.5 - Atividade antioxidante dos extratos obtidos por extração com fluido supercrítico (SFE) expressa pelos métodos DPPH e FRAP utilizando água (H ₂ O) como cossolvente.....	96

Tabela 5.6 - Atividade antioxidante dos extratos obtidos por extração com líquido pressurizado (PLE) expressa pelos métodos DPPH e FRAP utilizando etanol (EtOH), isopropanol (IsoC ₃) e água (H ₂ O) como solventes.	97
Tabela 5.7 - Parâmetros de cor L^* , a^* , b^* , h_{ab} e C_{ab} dos extratos obtidos via extração com fluido supercrítico utilizando etanol (EtOH) como cossolvente.....	101
Tabela 5.8 - Parâmetros de cor L^* , a^* , b^* , h_{ab} e C_{ab} dos extratos obtidos via extração com fluido supercrítico utilizando isopropanol (IsoC ₃) como cossolvente.....	102
Tabela 5.9 - Parâmetros de cor L^* , a^* , b^* , h_{ab} e C_{ab} dos extratos obtidos via extração com fluido supercrítico utilizando água (H ₂ O) como cossolvente.....	103
Tabela 5.10 - Parâmetros de cor L^* , a^* , b^* , h_{ab} e C_{ab} dos extratos obtidos via extração com líquido pressurizado utilizando etanol (EtOH), isopropanol (IsoC ₃) e água (H ₂ O) como solventes.....	104
Tabela 5.11 - Componentes dos custos de manufatura e tempo de retorno de investimento obtidos através de análise econômica dos extratos obtidos via extração com fluido supercrítico (SFE) utilizando etanol como cossolvente para os extratores com capacidade volumétrica de 0,05, 0,3 e 0,5 m ³	108
Tabela 5.12 - Componentes dos custos de manufatura e tempo de retorno de investimento obtidos através de análise econômica dos extratos obtidos via extração com fluido supercrítico (SFE) utilizando isopropanol como cossolvente para os extratores com capacidade volumétrica de 0,05, 0,3 e 0,5 m ³	109
Tabela 5.13 - Componentes dos custos de manufatura e tempo de retorno de investimento obtidos através de análise econômica dos extratos obtidos via extração com fluido supercrítico (SFE) utilizando água como cossolvente para os extratores com capacidade volumétrica de 0,05, 0,3 e 0,5 m ³	110
Tabela 5.14 - Componentes dos custos de manufatura e tempo de retorno de investimento obtidos através de análise econômica dos extratos obtidos via extração com líquido pressurizado (PLE)	

utilizando etanol (EtOH), isopropanol (IsoC ₃) e água (H ₂ O) como solvente para os extratores com capacidade volumétrica de 0,05, 0,3 e 0,5 m ³	114
Tabela 5.15 - Cargas fatoriais, autovalor e variância das variáveis com relação aos componentes principais PC1 e PC2 para os extratos obtidos utilizando fluido supercrítico.....	115
Tabela 5.16 - Matrix de Pearson referente as correlações entre as análises químicas e avaliação econômica dos extratos obtidos utilizando fluido supercrítico.	118
Tabela 5.17 - Cargas fatoriais, autovalor e variância das variáveis com relação aos componentes principais PC1 e PC2 para os extratos obtidos utilizando líquido pressurizado.	119
Tabela 5.18 - Matriz de Pearson referente as correlações entre as análises químicas e avaliação econômica dos extratos obtidos utilizando líquido pressurizado.	122
Tabela 5.19 - Tempo de retenção, relação massa/carga monitorada e voltagem do cone das antocianinas analisadas.	125
Tabela 5.20 - Tempo de retenção, relação massa/carga monitorada e voltagem do cone dos compostos fenólicos analisados.	126
Tabela 5.21 – Identificação e concentração de compostos fenólicos antociânicos e não antociânicos dos extratos otimizados obtidos via extração com fluido supercrítico (SFE) utilizando etanol (EtOH), isopropanol (IsoC ₃) e água (H ₂ O) como cossolvente.	129
Tabela 5.22 – Identificação e concentração de compostos fenólicos antociânicos e não antociânicos dos extratos otimizados obtidos via extração com fluido supercrítico (PLE) utilizando etanol (EtOH), isopropanol (IsoC ₃) e água (H ₂ O) como solvente.	129
Tabela 5.23 - Parâmetros cinéticos determinados pelo ajuste de <i>spline</i> linear de 3 retas às OECs obtidas via SFE.	134
Tabela 5.24 - Parâmetros cinéticos dos extratos PLE obtidos pelo ajuste do <i>spline</i> linear de 3 retas.	139
Tabela 5.25 - Condições experimentais e parâmetros ajustados pelos modelos Crank (1975), Sovová (1994) e Martínez et al (2003) para extratos SFE obtidos utilizando etanol (EtOH), isopropanol (IsoC ₃) e água (H ₂ O) como cossolventes.	144

Tabela 5.26 - Condições experimentais e parâmetros ajustados pelos modelos Crank (1975), Sovová (1994) e Martínez et al (2003) para extratos PLE obtidos utilizando etanol (EtOH), isopropanol (IsoC ₃) e água (H ₂ O) como solventes.....	149
Tabela 10.1 - Dados do ensaio cinético obtido via extração com fluido supercrítico com etanol como cossolvente a partir do residuo de jabuticaba a 60 °C, 25 MPa e vazão de CO ₂ de 2,53 x 10 ⁻⁴ kg/s.	186
Tabela 10.2 - Dados do ensaio cinético obtido via extração com fluido supercrítico com etanol como cossolvente a partir do residuo de jabuticaba a 60 °C, 25 MPa e vazão de CO ₂ de 1,89 x 10 ⁻⁴ kg/s.	187
Tabela 10.3 - Dados do ensaio cinético obtido via extração com fluido supercrítico com isopropanol como cossolvente a partir do residuo de jabuticaba a 60 °C, 20 MPa e vazão de CO ₂ de 2,53 x 10 ⁻⁴ kg/s.	188
Tabela 10.4 - Dados do ensaio cinético obtido via extração com fluido supercrítico com isopropanol como cossolvente a partir do residuo de jabuticaba a 60 °C, 20 MPa e vazão de CO ₂ de 1,89 x 10 ⁻⁴ kg/s.	189
Tabela 10.5 - Dados do ensaio cinético obtido via extração com fluido supercrítico com água como cossolvente a partir do residuo de jabuticaba a 50 °C, 30 MPa e vazão de CO ₂ de 2,53 x 10 ⁻⁴ kg/s...190	
Tabela 10.6 - Dados do ensaio cinético obtido via extração com fluido supercrítico com água como cossolvente a partir do residuo de jabuticaba a 50 °C, 30 MPa e vazão de CO ₂ de 1,89 x 10 ⁻⁴ kg/s...191	
Tabela 10.7 - Dados do ensaio cinético obtido via extração com líquido pressurizado com etanol como solvente a partir do residuo de jabuticaba a 80 °C, 10,34 MPa e vazão de solvente de 1,88 x 10 ⁻⁵ kg/s.	192
Tabela 10.8 - Dados do ensaio cinético obtido via extração com líquido pressurizado com etanol como solvente a partir do residuo de jabuticaba a 80 °C, 10,34 MPa e vazão de solvente de 1,25 x 10 ⁻⁵ kg/s.	193

Tabela 10.9 - Dados do ensaio cinético obtido via extração com líquido pressurizado com isopropanol como solvente a partir do residuo de jabuticaba a 100 °C, 10,34 MPa e vazão de solvente de $1,88 \times 10^{-5}$ kg/s.....	194
Tabela 10.10 - Dados do ensaio cinético obtido via extração com líquido pressurizado com isopropanol como solvente a partir do residuo de jabuticaba a 100 °C, 10,34 MPa e vazão de solvente de $1,25 \times 10^{-5}$ kg/s.....	195
Tabela 10.11 - Dados do ensaio cinético obtido via extração com líquido pressurizado com água como solvente a partir do residuo de jabuticaba a 100 °C, 10,34 MPa e vazão de solvente de $1,88 \times 10^{-5}$ kg/s.....	196
Tabela 10.12 - Dados do ensaio cinético obtido via extração com líquido pressurizado com água como solvente a partir do residuo de jabuticaba a 100 °C, 10,34 MPa e vazão de solvente de $1,25 \times 10^{-5}$ kg/s.....	197

Lista de Símbolos

ε : Porosidade do leito de extração;

v : Velocidade intersticial do solvente

ρ_a : Densidade aparente do leito;

ρ_p : Densidade real da partícula;

ρ_s : Densidade do sólido;

A: Área da seção transversal do leito de extração

b.s.: Base seca

b.u.: Base úmida

b0, b1, b2, b3: Parâmetros do modelo de ajuste de retas à OEC

C1, C2: Parâmetros do modelo de ajuste de retas à OEC

CA: Coluna de adsorção

CER: Período de taxa constante de extração (*constant extraction rate*)

CG-EM: Cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas

CO₂: dióxido de carbono

COL: Custo de mão-de-obra (*cost of labor*)

COM: Custo de manufatura (*cost of manufacturing*)

CRM: Custo de matéria-prima (*cost of raw material*)

CUT: custo de utilidades (*cost of utilities*)

d_{43} : Diâmetro médio de De Brouckere

D_{aX} : Coeficiente de difusão efetivo;

D_{aY} : Coeficiente de dispersão axial do soluto no solvente;

D_B : Diâmetro do leito;

d_B : Diâmetro do leito de extração

DC: Período controlado por difusão (*diffusion controlled*)

d_p : Diâmetro de partícula

EtOH : Etanol

F : Massa de alimentação

FC: Frasco de coleta

FCI: Capital fixo de investimento (*fixed capital of investment*)

FER: Período de taxa decrescente de extração (*falling extraction rate*)

GRAS: Comumente reconhecido como seguro (*generally recognized as safe*)

H₂O: Água

H_B: Altura do leito de extração

IsoC₃: Isopropanol

J(X,Y) : Taxa de transferência de massa na interface sólido solvente;

k_{XA} : Coeficiente de transferência de massa na fase sólida;

k_{YA} : Coeficiente de transferência de massa na fase fluida;

M: Massa de matéria-prima

M_{CER}: Taxa de transferência de massa no período CER

m_{ext}: Massa de extrato

MP: Matéria-prima

N : Massa de sólido inerte;

OEC: Curva global de extração (*overall extraction curve*)

P: Pressão

P_c : Pressão crítica;

P_c : Pressão crítica

PLE: extração com líquido pressurizado (*pressurized liquid extraction*)

Q : Vazão de solvente;

Q_{CO_2} : Vazão de CO_2

Q_{cossol} : Vazão de cossolvente

Q_{sol} : Vazão de solvente

R_{CER} : Rendimento no período CER

Re : Número de Reynolds

S/F: Razão entre massa de solvente e massa de matéria-prima

SFE: Extração com fluido supercrítico (*supercritical fluid extraction*)

SFE-I: Unidade de extração com cossolvente

T : Temperatura

t : Tempo

T_c : Temperatura crítica

t_{CER} : Duração do período de taxa constante de extração;

t_{FER} : Duração do período referente da taxa decrescente de extração;

T_r : Temperatura reduzida;

t_{RES} : Tempo de residência do solvente no leito

u : Velocidade intersticial do solvente;

UPLC-MS: cromatografia líquida de ultra eficiência acoplada a espectrometria de massas
(ultra performance liquid chromatography acoppeld to mass spectrometry)

V : Volume

V_c : Volume específico crítico

X : Razão mássica de soluto na fase sólida;

X_0 : Teor inicial do soluto no sólido;

$X_{0,S/F}$: Rendimento global de extração obtido a razão S/F

X_k : Razão mássica de soluto de difícil acesso ao solvente;

X_p : Razão mássica de soluto de fácil acesso ao solvente;

Y : Razão mássica de soluto na fase fluida;

Y^* : Solubilidade do soluto no solvente;

Y_{CER} : Razão mássica de soluto na fase fluida na saída do extrator no período CER.

ρ : Densidade do solvente;

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	1
2	OBJETIVOS.....	7
2.1	OBJETIVO GERAL	7
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	7
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	9
3.1	ANTOCIANINAS.....	9
3.1.1	<i>Aspectos Químicos.....</i>	9
3.1.2	<i>Fontes, Funções e Aplicações</i>	11
3.2	ATIVIDADE ANTIOXIDANTE.....	14
3.3	JABUTICABA (MYRCIARIA CAULIFLORA).....	15
3.4	MÉTODOS DE EXTRAÇÃO.....	19
3.4.1	<i>Extração com Líquido Pressurizado</i>	20
3.4.2	<i>Extração com Fluido Supercrítico</i>	21
3.5	ANÁLISE ECONÔMICA.....	30
3.5.1	<i>Classes.....</i>	32
3.5.2	<i>Grau de Definição do Projeto</i>	34
3.5.3	<i>Finalidade da Estimativa</i>	34
3.5.4	<i>Metodologia da Estimativa.....</i>	34
3.5.5	<i>Exatidão da Estimativa.....</i>	34
3.5.6	<i>Esforço no Preparo da Estimativa</i>	35
3.5.7	<i>Metodologia de Lang.....</i>	35
3.5.8	<i>Método de Chilton ou regra dos 0,6.....</i>	36
3.5.9	<i>Metodologia de Turton</i>	36
3.5.10	<i>Simuladores de Processos</i>	38
3.6	MODELAGEM MATEMÁTICA.....	39
3.6.1	<i>Modelo Empírico</i>	39
3.6.2	<i>Modelo de Crank</i>	40

3.6.3	<i>Modelo de Tan e Liou</i>	41
3.6.4	<i>Modelo de Sovová</i>	42
3.6.5	<i>Modelo de Martínez</i>	48
4	MATERIAL E MÉTODOS.....	51
4.1	MATÉRIA-PRIMA	51
4.2	PREPARO E CARACTERIZAÇÃO DA MATÉRIA-PRIMA	52
4.2.1	<i>Moagem</i>	52
4.2.2	<i>Determinação do Diâmetro Médio da Partícula</i>	52
4.2.3	<i>Densidade Aparente do Leito, Densidade Real da Partícula e Porosidade do Leito</i>	52
4.2.4	<i>Umidade</i>	53
4.2.5	<i>Análise da composição centesimal</i>	53
4.3	EXTRAÇÃO COM LÍQUIDO PRESSURIZADO	54
4.3.1	<i>Unidade de extração ARADIME®</i>	54
4.3.2	<i>Procedimento operacional</i>	55
4.3.3	<i>Preparo do leito de extração</i>	56
4.4	EXTRAÇÃO COM FLUIDO SUPERCRÍTICO	57
4.4.1	<i>Unidade de extração supercrítica</i>	57
4.4.2	<i>Procedimento operacional</i>	58
4.4.3	<i>Preparo do leito de extração</i>	59
4.5	DETERMINAÇÃO DO RENDIMENTO DE EXTRAÇÃO	60
4.6	DETERMINAÇÃO DAS CURVAS GLOBAIS DE EXTRAÇÃO	61
4.6.1	<i>Cálculo dos parâmetros cinéticos</i>	62
4.6.2	<i>Cálculo da Densidade do Solvente</i>	63
4.6.3	<i>Cálculo da Vazão do Solvente</i>	63
4.7	COMPOSIÇÃO QUÍMICA DOS EXTRATOS.....	63
4.7.1	<i>Determinação dos Compostos Fenólicos Totais</i>	63
4.7.2	<i>Determinação dos Flavonóides Totais</i>	64
4.7.3	<i>Determinação das Antocianinas Monoméricas Totais</i>	65
4.7.4	<i>Atividade Antioxidante</i>	66
4.7.5	<i>Determinação da Cor</i>	68

4.7.6	<i>Purificação e Fracionamento das Antocianinas</i>	68
4.7.7	<i>Cromatografia Líquida de Ultra Eficiência Acoplada a Espectrômetro de Massas com Ionização por Eletrospray (UPLC-ESI-MS)</i>	70
4.8	MODELAGEM MATEMÁTICA	73
4.9	SIMULAÇÃO DO PROCESSO, AUMENTO DE ESCALA E ANÁLISE ECONÔMICA	73
4.10	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	81
5	RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	83
5.1	CARACTERIZAÇÃO DA MATÉRIA-PRIMA.....	83
5.1.1	<i>Composição Centesimal</i>	83
5.1.2	<i>Diâmetro Médio da Partícula, Densidade Real, Densidade Aparente e Porosidade do Leito de Extração</i>	84
5.2	RENDIMENTO GLOBAL DE EXTRAÇÃO ($X_{0,S/F}$).....	85
5.3	COMPOSIÇÃO QUÍMICA DOS EXTRATOS.....	86
5.3.1	<i>Compostos Fenólicos Totais</i>	86
5.3.2	<i>Flavonóides Totais</i>	88
5.3.3	<i>Antocianinas Monoméricas Totais</i>	90
5.3.4	<i>Atividade antioxidante</i>	92
5.4	COR 98	
5.5	ANÁLISE ECONÔMICA.....	105
5.5.1	<i>Extração com Fluido Supercrítico</i>	105
5.5.2	<i>Extração com Líquido Pressurizado</i>	111
5.6	ANÁLISE DE COMPONENTES PRINCIPAIS.....	115
5.6.1	<i>Extração com Fluido Supercrítico</i>	115
5.6.2	<i>Extração com Líquido Pressurizado</i>	119
5.7	CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ULTRA EFICIÊNCIA.....	123
5.8	EXPERIMENTOS CINÉTICOS.....	130
5.8.1	<i>Extração com Fluido Supercrítico</i>	130
5.8.2	<i>Extração com Líquido Pressurizado</i>	135
5.9	MODELAGEM MATEMÁTICA.....	140
5.9.1	<i>Extração com Fluido Supercrítico</i>	140
5.9.2	<i>Extração com Líquido Pressurizado</i>	145

6	CONCLUSÕES	151
7	SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS.....	155
8	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	157
9	ATIVIDADES ACADÊMICAS	179
9.1	LISTA DE PRODUÇÃO CIENTÍFICA E TÉCNICA	179
9.1.1	<i>Artigos Publicados em Periódicos Indexados</i>	<i>179</i>
9.1.2	<i>Artigos Submetidos ou Aceitos em Periódicos Indexados.....</i>	<i>179</i>
9.1.3	<i>Capítulos de Livros Publicados.....</i>	<i>180</i>
9.1.4	<i>Trabalhos Publicados em Anais de Eventos</i>	<i>180</i>
9.2	PARTICIPAÇÃO EM CURSOS	181
9.3	PREMIAÇÕES.....	182
9.4	ESTÁGIOS DOCENTES	182
10	ANEXOS	183
10.1	RESULTADOS EXPERIMENTAIS.....	183
10.1.1	<i>Curvas padrão utilizadas nos experimentos espectrofotométricos</i>	<i>183</i>
10.1.2	<i>Dados dos ensaios cinéticos.....</i>	<i>186</i>

1 INTRODUÇÃO

O conhecimento científico a respeito da utilização de produtos naturais com propriedades funcionais e compostos nutracêuticos na prevenção e/ou tratamento de doenças tem crescido cada vez mais nos últimos anos (BRAGA, 2005; LEAL, 2005). Os benefícios fisiológicos, nutricionais e medicinais à saúde humana atribuídos ao uso de produtos naturais bem como os potenciais riscos associados à utilização de produtos sintéticos aliados às ações legislativas restritivas ao uso desses produtos têm motivado o significativo aumento no consumo de produtos de origem natural com propriedades funcionais em detrimento dos produtos sintéticos (HERRERO, CIFUENTES e IBAÑEZ, 2006). A ADA - *American Dietetic Association* (1995) define alimento funcional como “qualquer alimento ou ingrediente modificado capaz de propiciar efeito benéfico além daquele provido pelos nutrientes que ele contém”, e nutracêutico como “qualquer substância que possa ser considerada alimento ou parte deste e ofereça benefícios médicos, incluindo prevenção e tratamento de doenças”. Muitas dessas substâncias que dão características aos alimentos funcionais são substâncias bioativas oriundas do metabolismo secundário de plantas, também denominadas de compostos fitoquímicos, e podem ser definidas como substâncias altamente ativas do ponto de vista nutricional, fisiológico e/ou medicinal (GOLDBERG, 1994).

Neste contexto, os extratos naturais desempenham um papel importante como aditivos ou insumos nas indústrias cosmética, farmacêutica, alimentícia, têxtil e de perfumaria proporcionando diversas características ao produto final de acordo com as suas funções e aplicações. Na realidade, a maioria dos extratos naturais possuem mais do que uma ou duas funções podendo ser utilizados como corantes naturais, nutracêuticos, alimentos funcionais, agentes conservantes, aromatizadores e fragrâncias, medicamentos, suplementos vitamínicos, padrões químicos, perfumes, entre outros (HERRERO, CIFUENTES e IBAÑEZ, 2006).

A cor desempenha um papel importantíssimo na percepção da qualidade indicando as nossas expectativas, susceptibilidades e preferências por produtos podendo ser utilizada para inspeção de qualidade, auxiliar no marketing e satisfazer consumidores. A cor dos produtos alimentícios, farmacêuticos e cosméticos pode ser o resultado da presença de pigmentos naturais na matriz utilizada; devido à coloração formada durante o processamento ou armazenamento; ou ainda devido à adição de corantes naturais ou sintéticos. Corantes ou aditivos de cor são os termos associados a todos os agentes

coloríficos solúveis ou solubilizados (tintas ou pigmentos), bem como os pigmentos insolúveis, empregadas para dar cor a um material (DELWICHE, 2003).

Antocianinas consistem no maior e mais importante grupo de pigmentos aquosolúveis naturais sendo responsáveis por cores que vão desde laranja e vermelho a violeta e azul de diversas flores, frutos e folhas (CAVALCANTI, SANTOS, e MEIRELES, 2011; REYNERTSON et al., 2006). Além de sua capacidade colorífica diversas são as atividades biológicas atribuídas às antocianinas como: atividade anticarcinogênica (HAGIWARA et al., 2001), antioxidante (WANG et al., 2000) e antiviral (KAPADIA et al., 1997). Além disso, tais compostos podem atuar na inibição de enzimas oxidativas e inflamatórias demonstrando ação antialérgica, antiviral, bactericida, fungicida, antitumor e antihemorrágica (EINBOND et al., 2004; REYNERTSON et al., 2008). Diante disso, as antocianinas representam uma alternativa atrativa como fonte de pigmentos vegetais de alto poder tintorial. Apesar dessas vantagens, a utilização de antocianinas nas indústrias de alimentos e de cosméticos ainda é restrita devido à sua baixa estabilidade em meios aquosos e pH acima de 3,0 (FALCÃO et al., 2003). Além disso, há ainda uma grande escassez desses compostos no mercado principalmente devido a falta de fontes e técnicas de produção adequadas e economicamente viáveis (BAILONI, et al., 1998). Atualmente no Brasil alguns produtos tem utilizado antocianinas como corantes naturais como é o caso de iogurte de morango Naturis[®], guaraná Antarctica[®] de açaí, sabonete de açaí da Granado[®] e do Boticário[®], refrescos em pó de uva das marcas Tang[®] e LA FRUTTA[®], suco Soyos da marca Sufresh[®], maionese Hellmann's[®] de azeitona preta, dentre outros.

Frutas coloridas são fontes potencialmente ricas em diversos fenólicos possuindo um papel importante na prevenção do estresse oxidativo (ARTS e HOLLMAN, 2005). Antocianinas freqüentemente são responsáveis por grande parte do conteúdo fenólico de frutas e vegetais coloridos; porém, flavanols, procianidinas, ácidos fenólicos e elagitaninos são os fenólicos mais predominantes em geral (EINBOND et al., 2004). De acordo com dados estatísticos da FAO (2011), a produção mundial de frutas aumentou de cerca de 463.000.000 para 638.000.000 de toneladas entre os anos de 1999 e 2011. Em meio a isto, países em desenvolvimento como o Brasil contribuem com cerca de 98% da produção mundial enquanto que países desenvolvidos como EUA, Japão e da Europa contribuem apenas com 2% da produção mundial de frutas (FAO, 2011). Por outro lado estes são responsáveis pelo consumo de cerca de 75% do total de frutas produzidas no mundo. O Brasil é considerado o terceiro maior produtor de frutas cedendo lugar apenas para a China e Índia (CLERICI e CARVALHO-SILVA, 2011). Apesar da grande abundância de frutas tropicais e sua potencial aplicação na indústria alimentícia, poucas espécies estão disponíveis no

mercado brasileiro. Isto pode estar relacionado a falta de conhecimento sobre os sistemas de produção e de pós-colheita (CLERICI e CARVALHO-SILVA, 2011). Portanto, diversas novas aplicações e novos métodos para o processamento de frutas tropicais necessitam ser desenvolvidas visando a minimização das perdas, a geração de lucro e promovendo a utilização sustentável destes biomas (DUARTE et al., 2011).

A jabuticaba (*Myrciaria cauliflora* Berg.) consiste em fruta nativa do Brasil pertencente a família Myrtaceae. Este fruto arroxeado possui casca e polpa de sabor doce e baixa acidez (DUARTE et al., 2011). A jabuticabeira é uma árvore frutífera de grande interesse para produtores rurais de diversas regiões brasileiras devido sua alta produtividade e rusticidade. Além disso, a fruta possui alta aplicabilidade alimentícia podendo ser utilizada para a fabricação de sucos, doces, xaropes, geléias, compotas de fruta, licor e vinagre (CLERICI e CARVALHO-SILVA, 2011).

No Brasil, em geral, uma parte da produção é aproveitada pelas populações locais; entretanto, a grande maioria é desperdiçada na época da safra, em virtude da alta produção por árvore (cerca de 454 kg de fruta/árvore), da curta vida útil da fruta *in natura* (3 dias a temperatura ambiente) e, principalmente, por falta de seu aproveitamento processado (LAGO et al., 2006; ASQUIERI et al., 2004; MORTON, 1987). Na fabricação de geléias de jabuticaba, normalmente as cascas e sementes são desprezadas. Estes juntos representam aproximadamente 50% da fruta. Um maior aproveitamento dessas frações agregaria maior valor a essa fruta. As cascas ricas em pigmentos, talvez possam ser utilizadas na indústria alimentícia como fonte de corantes naturais. Escassos estudos são encontrados na literatura quanto aos constituintes químicos, sobretudo os compostos bioativos, principalmente em relação às frações da fruta, sendo estas em publicações de abrangência local (PEREIRA et al., 2000; OLIVEIRA et al., 2003). No Brasil, o bagaço é dispensado no solo como adubo orgânico ou utilizado como ração animal, porém a fermentação no rumem provoca alcoolemia, com prejuízos à saúde do gado bovino, além de ser uma alternativa pouco rentável e por vezes até insignificante (KENNEDY et al., 1999; VILLAS-BOAS e ESPOSITO, 2001; RAUPP et al., 2004). Dessa maneira, a utilização de resíduos dos processos de fabricação da jabuticaba possibilita um aproveitamento ecológico e sócio-econômico mais viável dos seus constituintes químicos e compostos bioativos.

As antocianinas são moléculas polares e, conseqüentemente, são mais solúveis em solventes polares do que em apolares. Além disso, a sua solubilidade depende de alguns fatores o que incluem as condições do meio tal como o valor de pH. Dessa maneira, de acordo com BARNES et al. (2009), os métodos convencionais de extração de antocianinas envolvem, normalmente, solventes polares em meios acidificados. Os métodos mais comumente empregados são maceração, Soxhlet e extração em leito agitado (ABE – *agitated bed extraction*). O solvente mais comumente utilizado é

o metanol, mas muitos outros tem sido utilizados como acetona (LIAZID et al., 2007), etanol (ROSTAGNO et al., 2003) ou acetonitrila (WU e PRIOR, 2005). Os ácidos utilizados podem ser fortes (ácido trifluoroacético, clorídrico, sulfúrico, etc.) ou fracos (ácido fórmico, acético, láctico, etc.), porém especial cuidado deve ser tomado a fim de evitar a hidrólise das antocianinas aciladas (KAPASAKALIDIS et al., 2006; LIAZID et al., 2007).

Apesar dos métodos convencionais serem os mais frequentemente utilizados na obtenção de antocianinas, diferentes novas tecnologias como extração com líquido pressurizado (PLE - *pressurized liquid extraction*) (JU e HOWARD, 2003; AMBROGI et al., 2003), extração com fluido supercrítico (SFE - *supercritical fluid extraction*) (ADIL et al., 2007; JU e HOWARD, 2005; HENRY e YONKER, 2006), extração assistida por ultrassom (UAE - *ultrasound-assisted extraction*), extração a alta pressão (HHP - *high hydrostatic pressure*), extração por pulso elétrico (PEF - *pulsed electric fields*) (CORRALES et al., 2008), extração assistida por microondas (MAE - *microwave-assisted extraction*), etc., têm sido estudadas na tentativa de alcançar processos com melhores características econômicas e ambientais garantindo maior sustentabilidade, segurança e qualidade aos produtos obtidos (CORRALES et al., 2008).

A extração com fluido supercrítico baseia-se na utilização de um componente puro mantido à temperatura e pressão acima do seu ponto crítico. Em geral, o dióxido de carbono é o composto mais comumente utilizado em processos de extração supercrítica aplicada a indústria de alimentos por ser um composto não-inflamável, inerte, não-corrosivo apresentando-se disponível em alto grau de pureza e a baixo custo. Além disso, o CO₂ apresenta baixo ponto crítico (31,1°C e 7,38 MPa) possuindo grande aplicação em processos extrativos de compostos termolábeis (BRUNNER, 2005). A extração com fluido supercrítico (SFE) apresenta vantagens consideráveis com relação aos métodos convencionais de extração. Além de o solvente poder ser facilmente removido do soluto através da redução da pressão e/ou ajuste da temperatura, apresenta menor requerimento energético quando comparado a outros métodos e possibilita uma rápida extração devido à baixa viscosidade, alta difusividade e alto poder de solvatação do fluido supercrítico. Incluso, tem-se que a extração com fluido supercrítico requer o uso de pouco ou nenhum solvente orgânico, apresentando-se, portanto, como uma tecnologia segura e ecologicamente correta, uma vez que, industrialmente, o dióxido de carbono é recirculado no sistema (BRUNNER, 2005; BRUNNER, 1994).

Apesar destas vantagens com relação aos métodos convencionais de extração, ainda existem poucas aplicações industriais da tecnologia supercrítica, cujas principais razões são os altos custos de investimento devido às altas pressões requeridas para o processo de extração, o que resulta em altos custos de manufatura (PERRUT, 2000). Dessa maneira, no que se refere à aplicação industrial, uma análise dos fatores econômicos deve ser realizada. O desenvolvimento de

unidades de extração em escala industrial promove a diminuição dos custos dos equipamentos utilizados no processo. Contudo, dados sobre aumento de escala (*scale-up*) e estimativa dos custos de manufatura (COM – *cost of manufacturing*) para a obtenção de extratos obtidos por técnicas de extração à alta pressão ainda são escassos na literatura. Tais informações são de grande relevância para estimular a transferência dos dados laboratoriais para uma escala industrial

Os simuladores de processos consistem em importantes ferramentas no desenvolvimento, avaliação e aumento de escala de bioprocessos e na modelagem e predição dos custos de produção, pois oferecem a oportunidade de desenvolvimento de processos a um curto tempo, permitindo a comparação de processos alternativos em uma consistente base de dados de forma que um grande número de processos podem ser sintetizados e analisados interativamente. Além disso, a simulação de processos integrados também permite o estudo das interações que existem entre processos *upstream* e *downstream* (KWIATKOWSKI, 2006). Takeushi et al. (2008) utilizaram o simulador SuperPro Design® 6.0 para estimar os custos de manufatura (COM) do óleo de cravo-da-índia, baseado na expressão proposta por Turton et al. (1998), e avaliaram o impacto das condições reais de separação no tanque *flash*, sob várias condições de pressão e temperatura, concluindo que o simulador é uma importante ferramenta para a comunicação entre a comunidade científica e o setor industrial.

Portanto, para a otimização do processo e a análise da viabilidade da aplicação industrial de uma unidade de extração com fluido supercrítico, faz-se necessário o estudo das condições de otimização do processo; a determinação da composição química do extrato e de suas propriedades funcionais; a estimativa dos custos de manufatura do processo; o estudo de extração contínua e aumento de escala (MEIRELES, 2003; ROSA e MEIRELES, 2005); e, em adição, a comparação com outros métodos de extração.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Obtenção de antocianinas via extração com fluido supercrítico (SFE) e extração com líquido pressurizado (PLE) a partir do resíduo de geléia de jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*) e otimização dos processos extrativos através da determinação do rendimento de extração, caracterização química dos extratos, avaliação econômica via simulação computacional de processo, curvas cinéticas de extração e ajuste a modelos matemáticos.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinação das características físicas e químicas da matéria-prima selecionada e leito fixo de extração;
- Determinação dos rendimentos globais de extração para diferentes condições operacionais de extração (solvente/ temperatura/ pressão);
- Caracterização espectrofotométrica da composição química e atividade antioxidante dos extratos obtidos;
- Seleção de temperatura/ pressão bem como o solvente e co-solvente mais adequados para o processos de extração com líquido pressurizado e extração com fluido supercrítico dos compostos de interesse, respectivamente;
- Determinação das curvas cinéticas de extração nas condições otimizadas e avaliação do efeito da vazão mássica do solvente;
- Determinação do perfil de antocianinas e dos compostos fenólicos não-antociânicos dos extratos obtidos nas condições otimizadas.
- Modelagem matemática das curvas cinéticas de extração utilizando diversos modelos da literatura;
- Simulação do processo de produção semi-contínua de extrato utilizando líquido pressurizado e fluido supercrítico;
- Avaliação econômica dos processos de extração através da estimativa dos custos de manufatura dos extratos obtidos.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 ANTOCIANINAS

3.1.1 Aspectos Químicos

Antocianinas (do grego *anthos*, flor, e *kyanos*, azul) constituem o maior e mais importante grupo de pigmentos aquossolúveis encontrados na natureza sendo responsáveis pelas cores que vão desde o laranja passando pelo vermelho e violeta até o azul-escuro de muitas flores, frutos, folhas, raízes e caules comumente encontrados na natureza (DELGADO-VARGAS et al., 2000; ANDERSEN e JORDHEIM, 2006).

As antocianinas são moléculas pertencentes ao grupo dos flavonóides, compostos fenólicos caracterizados pela estrutura básica C6-C3-C6 (WILSKA-JESZKA, 2007), constituindo em derivados polimetil e/ou polihidroxil glicosilados do núcleo básico flavílio (cátion 2-fenilbenzopirílio) (Figura 3.1) (BROUILLARD, 1982) que contém ligações duplas conjugadas responsáveis pela absorção de luz em torno de 500 nm, caracterizando a cor típica destes pigmentos (REIN, 2005).

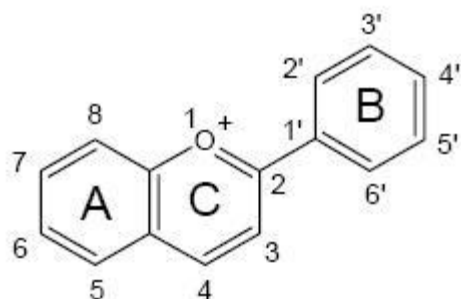
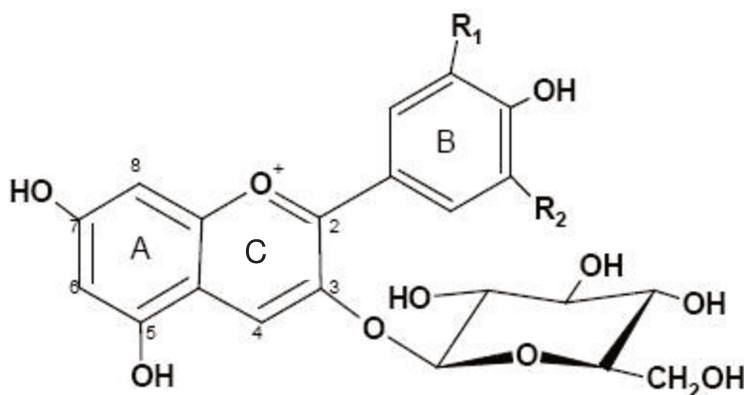


Figura 3.1 - Estrutura química do cátion flavílio (REIN, 2005).

A molécula de antocianina (Figura 3.2) é constituída por duas ou três porções, uma aglicona (antocianidina), um grupo de açúcares e, freqüentemente, um grupo de ácidos orgânicos (FRANCIS, 1989). Aproximadamente 22 agliconas são conhecidas, das quais 18 ocorrem naturalmente e apenas seis (pelargonidina, cianidina, delfinidina, peonidina, petunidina e malvidina) são importantes em alimentos (FRANCIS, 2000; MALACRIDA e MOTTA, 2006).

As diferenças estruturais entre as antocianinas individuais são resultado do número de grupos hidroxilas na molécula, do grau de metilação desses grupos, da natureza e do número de açúcares (glicosídeo) ligados à molécula e da posição da ligação e da natureza e número de ácidos alifáticos e aromáticos ligados aos açúcares na molécula (Figura 3.2) (GUEDES, 2004).



Aglicona			Substituição glicosídica (substituição nas posições 3 e 5)	Acilação (esterificação das hidroxilas do açúcar)
R ₁	R ₂			
H	H	Pelargonidina	D-glicose	Ácidos cinâmicos
OH	H	Cianidina	D-galactose	<i>p</i> -cumárico
OH	OH	Delfinidina	D-xilose	ferúlico
OCH ₃	H	Peonidina	L-ramnose	caféico
OCH ₃	OH	Petunidina	L-arabinose	
OCH ₃	OCH ₃	Malvidina	Rutinese	ácidos alifáticos
			Soforose	acético
			Sambubiose	malônico
			Gentiobiose	succínico

Fonte: MALACRIDA e MOTTA, 2006

Figura 3.2 - Estrutura química das principais antocianinas encontradas na natureza.

Antocianidinas livres são raramente encontradas na natureza, ocorrendo comumente glicosiladas com açúcares que estabilizam a molécula (FRANCIS, 2000). De acordo com a Figura 3.1, a glicosilação pode ocorrer em várias posições, sendo observada com maior frequência na posição 3. O segundo açúcar quando presente na molécula encontra-se na posição 5, porém podem ocorrer glicosilações nas posições 7, 3', 4' e 5' (BROUILLARD, 1982). Glicose, ramnose, xilose, galactose, arabinose e frutose são os açúcares mais comumente ligados às antocianidinas, ocorrendo como monoglicosídeos, diglicosídeos e triglicosídeos glicosilados diretamente na aglicona (FRANCIS, 1989). A metoxilação é mais frequente nas posições 3' e 5' e menos comum na 5 e na 7 (Figura 3.1). É importante salientar que antocianina natural nunca apresenta as hidroxilas das posições 5, 7 e 4' substituídas ao mesmo tempo. Um dos grupos hidroxila deve permanecer livre numa dessas posições para a formação da estrutura quinoidal. Muitas vezes, os açúcares das

antocianinas são acilados por ácidos dos quais os mais comumente encontrados são: *p*-cumárico, ferúlico, caféico, *p*-hidroxibenzoico, sinápico, malônico, acético, succínico, oxálico e málico (FRANCIS, 1989). Os substituintes acila encontram-se usualmente ligados à hidroxila do açúcar na posição 3 e com menor frequência nas posições 4 e 6 (BROUILLARD, 1982; MALACRIDA e MOTTA, 2006).

3.1.2 Fontes, Funções e Aplicações

Além de contribuir para a cor de flores e frutas, as antocianinas atuam como filtro das radiações ultravioletas nas folhas. Em certas espécies de plantas estão associadas com a resistência aos patógenos e atuam melhorando e regulando a fotossíntese (MAZZA e MINIATI, 1993). Existem aproximadamente 400 antocianinas diferentes catalogadas (KONG et al., 2003). Contudo, é como corante natural que as antocianinas encontram sua maior aplicação podendo atuar como agentes coloríficos em produtos alimentícios, cosméticos, fármacos, tecidos, tintas, dentre outros.

A cor desempenha um papel importantíssimo na percepção da qualidade indicando as nossas expectativas, susceptibilidades e preferências por produtos podendo ser utilizada para inspeção de qualidade, auxiliar no marketing e satisfazer consumidores. A cor dos produtos industrializados pode ser o resultado da presença de pigmentos naturais na matriz utilizada; devido à coloração formada durante o processamento ou armazenamento; ou ainda devido à adição de corantes naturais ou sintéticos. Corantes ou aditivos de cor são os termos associados a todos os agentes coloríficos solúveis ou solubilizados (tintas ou pigmentos), bem como os pigmentos insolúveis, empregados para dar cor a um material (DELWICHE, 2003). A principal função da adição de corantes em produtos alimentícios é proporcionar a melhoria na aparência dos mesmos, deixando-os mais parecidos aos produtos naturais e mais agradáveis, portanto, aos olhos do consumidor, que, desta forma, é estimulado a consumir o produto, já que a aparência tem um papel importantíssimo na aceitação desses produtos (FAVARRO, 2008).

Os corantes podem ser definidos pela sua origem como corantes naturais ou sintéticos, ou inorgânicos. Corantes naturais são aqueles obtidos a partir do metabolismo de organismos vivos sejam eles de origem vegetal, animal, fungos ou microorganismos. Corantes sintéticos são sintetizados por reações químicas. Já os pigmentos inorgânicos podem tanto ser encontrados na natureza como sintetizados quimicamente.

Corantes orgânicos sintéticos têm sido largamente utilizados para os mais diversos fins dominando as aplicações nas indústrias alimentícia, têxtil e farmacêutica (TÜRKER e ERDOĞDU,

2006) . Os corantes sintéticos apresentam diversas vantagens quando comparados aos pigmentos naturais como menor custo; maior capacidade tintorial, que é representada pela melhor fixação da cor aos produtos; maior estabilidade diante das variações de processamento e estocagem, maior intensidade da faixa espectral da cor bem como maior facilidade de aplicação. Contudo, nas últimas décadas o uso de corantes sintéticos têm diminuído gradualmente devido o conhecimento científico sobre os seus potenciais efeitos nocivos à saúde humana como toxicidade, reações alérgicas e potenciais propriedades carcinogênicas. Além disso, têm sido avaliado o impacto ambiental de sua utilização uma vez que os mesmos não são biodegradáveis. Há publicações de estudos do Codex Alimentarius, órgão ligado à Organização Mundial da Saúde (OMS), que já fundamentaram a banição de alguns corantes sintéticos em vários países (FAVARRO, 2008). Em 1987, a portaria nº 02 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) relatou a proibição de alguns corantes sintéticos como: o vermelho sólido, que era usado para recheios e revestimentos de biscoitos; o escarlate GN, aplicado em recheios de confeitarias, além do azul de alizarina, corante que era usado em óleos emulsionados e gelatina, dentre outros (FAVARRO, 2008). Neste contexto, as ações legislativas restritivas associadas à atual preferência dos consumidores por produtos de origem natural têm propiciado o crescente aumento na utilização de corantes naturais em detrimento ao uso de corantes sintéticos (WILSKA-JESZKA, 2006; SAONA-RODRIGUEZ et al., 1998; FAVARRO, 2008; TÜRKER e ERDOĞDU, 2006; MACZ-POP et al., 2006).

Os corantes naturais podem ser divididos em quatro grupos principais de pigmentos: (1) os compostos heterocíclicos com estrutura tetrapirrólica, que compreendem as clorofilas presentes em vegetais, e os grupos hemo e as bilinas encontradas em animais; (2) os compostos de estrutura isoprenóide, representados pelos carotenóides encontrados em animais e principalmente em vegetais; (3) os compostos heterocíclicos contendo oxigênio como flavonóides, quinonas, curcuminóides e betalaínas, que são encontrados exclusivamente em vegetais; e, por fim, compostos com estruturas químicas diversas como riboflavina, caramelos, melanoidinas e melaninas (WILSKA-JESZKA, 2006). Comercialmente, os tipos de corantes naturais mais largamente empregados industrialmente são: o carmim ou vermelho de cochonilha o qual provém do ácido carmínico extraído da fêmea da cochonilha (*Dactylopius coccus*); β -caroteno proveniente do extrato de cenoura; a bixina e nor-bixina obtidas das sementes de urucum, o açafrão extraído dos estigmas de flores de *Crocus sativus*; a clorofila obtida principalmente a partir da alfafa (*Medicago sativa*); os curcuminóides extraídos da raiz da cúrcuma ou açafrão-da-terra (*Curcuma longa*); as betalaínas cuja principal fonte é a beterraba (*Beta vulgaris*); e as antocianinas, as quais encontram-se distribuídas em numerosas famílias de plantas: Vitaceae (uva), Rosaceae (cereja, ameixa, framboesa, morango, amora, maçã, pêssego, etc.), Solanaceae (tamarindo, batata), Saxifragaceae

(groselha preta e vermelha), Ericaceae (mirtilo, oxicoco), Cruciferae (repolho roxo, rabanete), Myrtaceae (jabuticaba, jambo, jambolão e pitanga), Leguminoseae (vagem) e Gramineae (sementes de cereais) (MALACRIDA e MOTTA, 2006). Na Tabela 3.1 constam diferentes antocianinas e suas fontes.

Neste contexto, embora as antocianinas apresentem um grande potencial de aplicação industrial, seu uso tem sido restrito, principalmente devido à algumas limitações como baixa percentagem de extração e relativa instabilidade frente a fatores físicos e químicos durante o processamento e estocagem de alimentos (BOBBIO e MERCADANTE, 2008). De acordo com Francis (1989), os principais fatores que influenciam a estabilidade das antocianinas são a estrutura química, o pH, a temperatura, a luz, a presença de oxigênio, a degradação enzimática e as interações entre os componentes dos alimentos, tais como ácido ascórbico, íons metálicos, açúcares e copigmentos. Diante disto, pesquisas relatam aumento na estabilidade das antocianinas pelas ligações *o*-glicosídicas, presença de grupos acil na molécula de açúcar (FRANCIS, 1989), presença de íons metálicos (STRINGHETA, 1991), auto-associação (BOULTON, 2001, MAZZA e BROUILLARD, 1987), inclusão molecular (PROVENZI, 2001; TAMURA et al., 1998; DANGLES et al., 1992) e copigmentação (AUBERT et al., 2001; BARANAC et al., 1996; KORZUCHOWSKA e WILSKA, 1996; DANGLES e BROUILLARD, 1992).

Tabela 3.1 - Antocianinas mais frequentes em alimentos e suas fontes.

Antocianinas	Fontes
Cianidina-3-glicosídeo	Uva, vinho, cereja, jambolão, morango, amora, maçã, azeitona, jabuticaba
Cianidina-3,5-diglicosídeo	Uva, vinho, cereja, figo, marmelo
Peonidina-3-glicosídeo	Uva, vinho, cereja, jabuticaba
Malvidina-3-glicosídeo	Uva, vinho
Malvidina-3,5-diglicosídeo	Uva, vinho, feijão, inhame
Cianidina-3-galactosídeo	Maçã, cacau
Cianidina-3p-cumarilsoforosídeo-5-glicosídeo	Repolho roxo
Pelargonidina-3-soforosídeo-5-glicosídeo	Rabanete
Pelargonidina-3-glicosídeo	Morango, tamarindo
Delfinidina-3,5-diglicosídeo	Berinjela, feijão, uva, romã
Delfinidina-3-cafeoilglicosídeo-5glicosídeo	Berinjela
Petunidina-3-glicosídeo	Uva, vinho, feijão, mirtilo, laranja

Fonte: MALACRIDA e MOTTA, 2006.

Além da sua potencial utilização como corantes naturais, segundo Lee et al. (2009) as antocianinas constituem pigmentos com uma grande gama de atividades biológicas as quais

incluem: atividade antioxidante (TSUDA et al., 2003), anti-inflamatória (WANG e MAZZA, 2002; YODIM et al., 2002), anticâncer (HOU, 2003), antimutagênica (PETERSON e DWYER, 1998), quimiopreventiva (ZHAO et al., 2004) e inibição da enzima *o*-glucosidase (MATSUI et al., 2001), antivirais (KAPADIA et al., 1997), dentre outras. Além disso, podem reduzir o risco de doenças coronárias através da modulação da proteção arterial (COLANTUONI et al., 1991), inibição da agregação de plaquetas (MORAZZONI e MAGISTRETTI, 1990) ou proteção endotelial (YODIM et al., 2002). Portanto, as antocianinas representam uma importante alternativa como corantes (SARNI-MANCHADO et al., 1996), principalmente corantes vermelhos os quais são os corantes naturais mais difíceis de encontrar na natureza em sua forma estável (FAVARRO, 2008).

3.2 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

Um antioxidante pode ser definido como uma substância que, em baixas concentrações, retarda ou previne a oxidação de um substrato (HALLIWELL, 1995). Quando o mecanismo de ação do antioxidante for através de sua reação como radical livre, o novo radical formado deve ser estável e incapaz de propagar a reação (SHAHIDI et al., 1992; LIMA, 2008; GIADA, 2006).

Os compostos antioxidantes podem ser classificados em sintéticos ou naturais. Os antioxidantes sintéticos são comumente utilizados na indústria de alimentos para aumentar a vida de prateleira dos alimentos. São exemplos de antioxidantes sintéticos: o butilhidroxitolueno (BHT), o butilhidroxianisol (BHA), o propilgalato (PG) e o terciobutilhidroxinona (TBHQ) (BARREIROS e DAVID, 2006). O consumo desses compostos tem sido associados à malefícios a saúde (GUNDUC e EL, 2003; SVILAAS et al., 2004). Isso tem levado a indústria de alimentos a reduzir seu uso, além de buscar outras alternativas, ainda que parciais, por antioxidantes naturais. Existem fórmulas, já comercializadas, para adição em alimentos, elaboradas a partir de substratos com alto potencial antioxidante, como os extratos de alecrim e orégano (TRINDADE, 2007). Dessa forma, pesquisas têm enfatizado o desenvolvimento e utilização de antioxidantes provenientes de fontes naturais como o tocoferol e o ácido ascórbico (VASCONCELLOS, 2007; LIMA, 2008; GIADA, 2006).

A hipótese da dieta afetar o dano oxidativo fundamenta-se em que os alimentos proporcionam tanto substâncias antioxidantes, nutrientes ou não nutrientes, com capacidade para combater os radicais livres, como substratos oxidáveis, como ácidos graxos poliinsaturados e traços de metais. Dessa forma, os alimentos podem exercer tanto efeitos positivos quanto negativos no equilíbrio entre o dano oxidativo e as defesas frente ao dano (GIADA e MANCINI-FILHO, 2006; LIMA, 2008).

A ingestão de diferentes compostos antioxidantes na dieta podem produzir efeitos sinérgicos difíceis de serem avaliados. A dieta deve ser considerada de forma complexa, onde as

interações entre os constituintes podem produzir efeitos que não representam necessariamente as propriedades dos constituintes individuais. Dessa maneira, a atividade antioxidante de qualquer alimento fornece uma idéia da contribuição relativa da soma dos seus constituintes antioxidantes, proporcionando uma informação valiosa, que vai além da sua composição química (RICE-EVANS, 1999). Dentre os antioxidantes naturais, os mais comumente utilizados são os carotenóides, as vitaminas E e C e os compostos fenólicos (LIMA, 2008; GIADA, 2006).

Estudos atribuem capacidade antioxidante a compostos minoritários presentes em oleaginosas como o tocoferol, esqualeno, clorofila e compostos fenólicos, devido às suas atividades contra doenças cardiovasculares e oxidação lipídica. A capacidade também é atribuída à presença de compostos fenólicos e tocoferóis na estabilidade de óleos. Ácidos graxos insaturados e os carotenóides afetam o processo autoxidativo agindo como pró ou antioxidantes (TUBEROSO et al., 2007). Como o uso de antioxidantes sintéticos tem sido severamente restringido pela indústria de alimentos devido aos efeitos colaterais como alergias e possíveis ações promotoras de câncer (LEAL, 2005), pesquisas têm enfatizado o desenvolvimento e utilização de antioxidantes provenientes de fontes naturais (GIADA, 2006; LIMA, 2008).

3.3 JABUTICABA (*MYRCIARIA CAULIFLORA*)

Frutas coloridas são fontes potencialmente ricas de diversos fenólicos possuindo um papel importante na prevenção do estresse oxidativo (ARTS e HOLLMAN, 2005). Antocianinas freqüentemente são responsáveis por grande parte do conteúdo fenólico de frutas e vegetais coloridos; porém, flavanols, procianidinas, ácidos fenólicos e elagitaninos são os fenólicos mais predominantes em geral (EINBOND et al., 2004). De acordo com dados estatísticos da FAO (2011), a produção mundial de frutas aumentou de cerca de 463.000.000 para 638.000.000 de toneladas entre os anos de 1999 e 2011. Em meio a isto, países em desenvolvimento como o Brasil contribuem com cerca de 98% da produção mundial enquanto que países desenvolvidos como EUA, Japão e da Europa contribuem apenas com 2% da produção mundial de frutas (FAO, 2011). Por outro lado estes são responsáveis pelo consumo de cerca de 75% do total de frutas produzidas no mundo. O Brasil é considerado o terceiro maior produtor de frutas cedendo lugar apenas para a China e Índia (CLERICI e CARVALHO-SILVA, 2011). Apesar da grande abundância de frutas tropicais e sua potencial aplicação na indústria alimentícia, poucas espécies estão disponíveis no mercado brasileiro. Isto pode estar relacionado a falta de conhecimento sobre os sistemas de produção e de pós-colheita (CLERICI e CARVALHO-SILVA, 2011).

A jabuticabeira (Figura 3.3) (*Myrciaria cauliflora*) é uma árvore frutífera nativa do Brasil típica da Mata Atlântica de ocorrência espontânea em extensa faixa do país desde o Pará até o Rio

Grande do Sul (PEREIRA, 2003). Seu fruto, conhecido há mais de cinco séculos, foi chamado pelos tupis de “iapoti’kaba”, ou seja, “fruta em botão”, em uma referência a sua forma arredondada (MELETTI, 2000; GEÖCZE, 2007). Suas principais características botânicas são: Reino Plantae; Divisão: Magnoliophyta; Classe: Magnoliopsida; Subclasse: Rosidae; Ordem: Myrtales; Família: Myrtaceae; Gênero: Plinia.



Figura 3.3 - Foto de jabuticabeira centenária localizada na fazenda Santa Maria, Campinas, São Paulo, Brasil.

A jabuticaba (Figura 3.4) consiste em uma baga, subglobosa, roxo-escuro, quando madura, lisa, com 1,6 a 2,2 cm de diâmetro, contendo de 1 a 4 sementes. A casca é fina e muito frágil; a polpa é doce com leve acidez, de ótimo sabor e de cor branca a translúcida (WHALEN et al., 1977). A principal espécie de jabuticaba é a *Myrciaria jaboticaba* (Vell.) Berg, conhecida como Sabará, de ocorrência no Brasil, Paraguai e Argentina. No Brasil sua ocorrência predominante é nos estados do Rio de Janeiro, Minas Gerais e São Paulo. Outro tipo de jabuticaba bastante comum em todo o país

é a Paulista, Assu ou Ponthema, *Myrciaria cauliflora* (DC) Berg. Outras espécies de menor ocorrência estão listadas na Tabela 3.2 (MATOS, 1983; GEÖCZE, 2007).



Figura 3.4 - Fotos de jaboticabas maduras em árvore centenária localizada na fazenda Santa Maria, Campinas, São Paulo, Brasil

Tabela 3.2 - Principais espécies de jaboticabeiras, seus nomes comuns e origens.

Espécies	Nomes	Ocorrência
<i>M. coronata</i>	Coroadade coroa	São Paulo
<i>M. olongata</i>	Azeda	São Paulo
<i>M. grandifolia</i>	Jaboticaba graúda	Minas Gerais
<i>M. peruviana</i>	Jaboticaba de cabinho	Minas Gerais e Rio Grande do Sul
<i>M. aureana</i>	Branca	São Paulo
<i>M. phitrantha</i>	Costada	São Paulo
<i>M. jaboticaba</i> (Vell) Berg	Sabará	Brasil, Paraguai e Argentina
<i>M. cauliflora</i> (DC) Berg	Paulista, Assu ou Ponthema	Brasil

Fonte: MATOS, 1983; GEÖCZE, 2007

A jaboticaba tem sido utilizada para diversos fins tanto culinários como medicinais como vinho, suco, geléia, licor e vinagre podem ser feitos a partir do fruto da jaboticabeira (ANDERSEN & ANDERSEN, 1988). Apesar de ainda escassos, na literatura há relatos sobre a aplicação farmacopéica dos frutos da *Myrciaria cauliflora* para o tratamento de algumas enfermidades no qual

a utilização da sua casca tem destaque no tratamento popular de hemoptise, asma, diarreia e inflamações crônicas das amígdalas (SANTOS & MEIRELES, 2009).

Os também escassos estudos quanto aos constituintes químicos, sobretudo os compostos bioativos, principalmente em relação às frações da fruta, são apresentados basicamente através de publicações de abrangência local (PEREIRA et al., 2000; OLIVEIRA et al., 2003). Contudo, tem sido reportado que o fruto da jabuticabeira apresenta alto teor de taninos (MORTON, 1987), vitamina C (GIACOMETTI & LLERAS, 1994) e antocianinas, principalmente em sua casca (GIACOMETTI & LLERAS, 1994; EINBOND et al., 2004; TREVISAN et al., 1972; ZANATTA et al., 2005) o que lhe confere potencial capacidade antioxidante na prevenção de inúmeras doenças relacionadas ao estresse oxidativo.

A jabuticaba apresenta concentrações relativamente altas de minerais (Tabela 3.3) quando comparado à maçã e uva (SOUZA, 1992) e de antocianinas possuindo uma quantidade média de 314 mg/ g de fruta que é maior do que a da uva (227 mg/ g) e da amora (290mg/ g) (TERCI, 2004). Porém, há relatos de que os pigmentos encontram-se presentes apenas na casca da jabuticaba enquanto em outras espécies os mesmos são encontrados também na polpa (TERCI, 2004). Portanto, a jabuticaba possui grande potencial para a complementação da alimentação humana. Contudo, o seu curto ciclo de desenvolvimento, torna oportuno o estudo de outras formas de aproveitamento e processamento dos frutos e suas frações para tê-los disponíveis durante todo o ano (SOUZA, 1992).

No Brasil, em geral, uma parte da produção é aproveitada pelas populações locais; entretanto, a grande maioria é desperdiçada na época da safra, em virtude da alta produção por árvore (cerca de 454 kg de fruta/árvore), da curta vida útil da fruta *in natura* (3 dias a temperatura ambiente) e, principalmente, por falta de seu aproveitamento processado (LAGO et al., 2006; ASQUIERI et al., 2004; MORTON, 1987). Na fabricação de geléias de jabuticaba, normalmente as cascas e sementes são desprezadas. Estes juntos representam aproximadamente 50% da fruta. Um maior aproveitamento dessas frações agregaria mais valor a essa fruta. As cascas ricas em pigmentos, talvez possam ser utilizadas na indústria alimentícia como fonte de corantes naturais. Escassos estudos são encontrados na literatura quanto aos constituintes químicos, sobretudo os compostos bioativos, principalmente em relação às frações da fruta, sendo estas em publicações de abrangência local (PEREIRA et al., 2000; OLIVEIRA et al., 2003). Dessa maneira, a utilização de resíduos dos processos de fabricação da jabuticaba possibilita um aproveitamento ecológico e sócio-econômico mais viável dos seus constituintes químicos e compostos bioativos.

Tabela 3.3 – Teor de umidade (%) e composição centesimal (% em base seca (b.s.)) da jabutica madura.

Componentes	Teor
Água	84,0 g
Cinza	3,40 g
Proteína bruta	4,00 g
Extrato de éter	2,68 g
Fibra bruta	4,52 g
Açúcares redutores	37,8 g
Açúcares totais	40,4 g
Sacarose	2,52 g
Cálcio	22,0 mg
Fósforo	22,0 mg
Ferro*	1,9 mg
Vitamina C	12,0 mg
Niacina	2,5 mg

Fonte: DONADIO, 2000; SOUZA, 1992

3.4 MÉTODOS DE EXTRAÇÃO

Os processos de extração consistem em operações unitárias que visam a separação de determinados compostos a partir de uma matriz através de processos químicos, físicos ou mecânicos. De acordo com o estado de agregação da matriz, existem três tipos básicos de processos extrativos: extração sólido-líquido, extração líquido-líquido e extração gás-líquido (TZIA e LIADAKIS, 2003; VELASCO et al., 2007).

O processo de extração sólido-líquido define-se como sendo uma operação unitária de transferência de massa multicomponente, de várias fases e sob regime transiente cuja finalidade é retirar um ou mais componentes contidos em uma fase sólida ou semi-sólida (soluto) para uma fase líquida (solvente). De acordo com o objetivo do processo, a extração sólido-líquido pode ser denominada de diversas maneiras como, por exemplo, lixiviação, percolação, etc. (IBARZ e BARBOSA-CÁNOVAS, 2003; TZIA e LIADAKIS, 2003). O processo de extração sólido-líquido (ou simplesmente extração) consiste em um importante processo de separação com grande utilidade na indústria de alimentos como nos processos de extração de: açúcar da cana, óleos e gorduras de sementes oleaginosas, fitoquímicos de plantas, hidrocolóides funcionais de algas, etc. Além disso, este processo extrativo pode ser utilizado também para a eliminação de componentes indesejáveis, contaminantes e/ou toxinas presentes em alimentos (TZIA e LIADAKIS, 2003).

Os processos convencionais de extração fundamentam-se na seleção do solvente associado com o uso do calor e/ou agitação. Esses processos incluem a hidrodestilação (HD -

Hydrodistillation) e os processos de extração a baixa pressão (LPSE - *Low Pressure Solvent Extraction*), sendo o Soxhlet a técnica padrão utilizada como principal referência para avaliar o rendimento de outros métodos de extração sólido-líquido (LUQUE DE CASTRO e GARCÍA-AYUSO, 1998). As principais desvantagens desses processos são seus altos tempos de residência, grandes quantidades de solvente requeridas e degradação térmica, além dos seus possíveis resíduos muitas vezes proibidos em alimentos (SEBASTIÁN et al., 1998).

De acordo com Huie (2002), vários métodos de extração podem ser aplicados para a obtenção de compostos de interesse. Com relação à escolha do processo mais adequado, vários fatores devem ser considerados (AL-JABARI, 2002), como custo, rendimento, produtividade e seletividade. Os três primeiros fatores possuem implicações econômicas importantes e determinam a viabilidade da aplicação industrial do processo. Já a seletividade está intimamente relacionada com a qualidade do produto obtido (QUISPE-CONDORI, 2005).

3.4.1 Extração com Líquido Pressurizado

A extração com líquido pressurizado (PLE - *pressurized liquid extraction*) baseia-se na utilização de solventes orgânicos os quais são submetidos à alta temperatura e pressão a fim de extrair determinados compostos de matrizes sólidas ou semi-sólidas em um curto tempo e com a utilização de pequena quantidade de solvente. A principal vantagem deste método de extração consiste na utilização de temperaturas acima do ponto de ebulição (80 a 200 °C) dos solventes os quais são pressurizados normalmente a 10,4 MPa (1500 psi) de forma a serem mantidos no estado líquido. Os altos valores de temperatura aumentam a solubilidade, taxa de difusão e transferência de massa enquanto os valores de viscosidade e tensão superficial do solvente são menores do que aqueles à temperatura ambiente. Além disso, à alta temperatura a energia de ativação de dessorção é superada mais facilmente e as cinéticas de dessorção e solubilização são mais favoráveis (HUIE, 2002). Em adição, este método de extração, assim como a tecnologia supercrítica, utiliza ambiente livre de oxigênio e luz o que tem promovido sua ampla utilização na extração de compostos nutracêuticos (STALIKAS, 2007).

Além dos solventes comumente utilizados nos processos PLE como metanol, etanol, isopropanol, acetona, hexano, éter dietílico, a água tem sido cada vez mais utilizada na extração de compostos fenólicos, como ácidos fenólicos e flavonóides, devido a sua alta polaridade, constante dielétrica e capacidade de entumescimento (ONG et al., 2006; HERRERO et al., 2006). Extração com água pressurizada normalmente utiliza temperaturas acima do seu ponto de ebulição normal e, por esta razão, é mais conhecida como extração com água quente pressurizada (PHWE - *pressurized hot water extraction*) ou extração com água subcrítica (SWE - *subcritical water extraction*). A água

pressurizada apresenta variação significativa de sua polaridade com a temperatura. Aumento da temperatura acarreta em diminuição da polaridade aparente da água. Dessa maneira, para a extração de compostos relativamente polares, bons rendimentos podem ser obtidos em torno de 100 °C enquanto que para compostos menos polares temperaturas acima de 200 °C devem ser utilizadas (HERRERO et al., 2006).

3.4.2 Extração com Fluido Supercrítico

Um componente puro é considerado um fluido supercrítico (SF – *Supercritical Fluid*) quando sua temperatura e pressão são maiores que seus valores críticos, T_c e P_c , respectivamente (BRUNNER, 2005). A temperatura crítica é definida como a mais alta temperatura na qual um gás pode ser convertido em líquido, devido a um aumento de pressão. A pressão crítica consiste na mais alta pressão na qual um líquido pode ser convertido em um gás, devido a um aumento de temperatura. Essas propriedades caracterizam o ponto crítico (PC) (Figura 3.5). Acima desse ponto existe a região supercrítica na qual o composto apresenta-se como um fluido de uma única fase, não condensável, exibindo algumas propriedades físico-químicas típicas de gases e outras típicas de líquidos (BRUNNER, 1994; LUQUE DE CASTRO et al., 1994; TAYLOR, 1996).

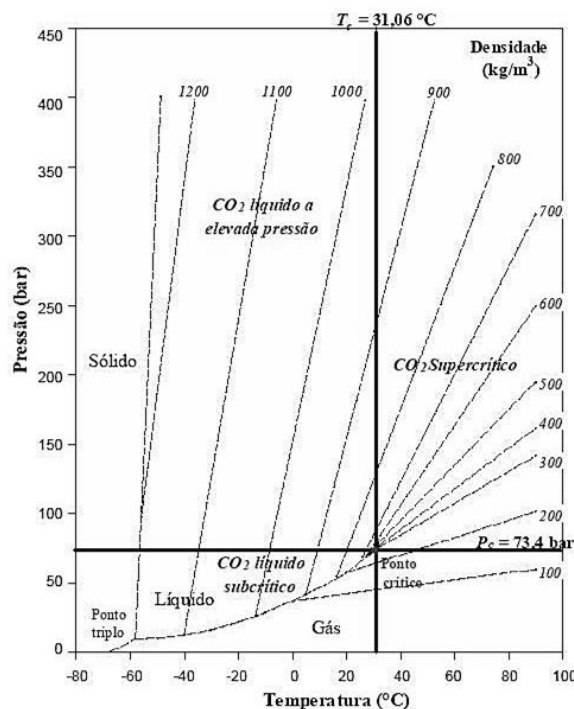


Figura 3.5 - Diagrama de fases para o dióxido de carbono.

A Figura 3.6 mostra o diagrama de fases de uma substância pura em função da pressão e volume específico. Na isoterma crítica ($T = T_c$), verifica-se que PC consiste no ponto de inflexão da curva (Equação 3.1), o que caracteriza uma alta taxa de variação da densidade com a pressão, aumentando, assim, consideravelmente o coeficiente de compressibilidade isotérmica (κ_T) (Equação 3.2).

Assim, nas proximidades do ponto crítico ($T_r = 1,0-1,6$), pequenas variações na pressão ($P_r = 0,7-2,0$) acarretam grandes variações de densidade e no poder de solubilização, permitindo uma precipitação seletiva do soluto, deixando o solvente para ser reciclado. A temperaturas muito superiores à temperatura crítica ($T_r > 1,6$), altas pressões são requeridas para obter mudanças significativas na densidade (BRUNNER, 1994; CLIFFORD, 1998; LUQUE DE CASTRO et al., 1994). Em alguns casos, efeitos similares ao estado supercrítico podem ser alcançados a temperaturas próximas a temperatura crítica, no estado líquido de uma substância, para $P > P_c$ e $T < T_c$, caracterizando o estado subcrítico (BRUNNER, 2005).

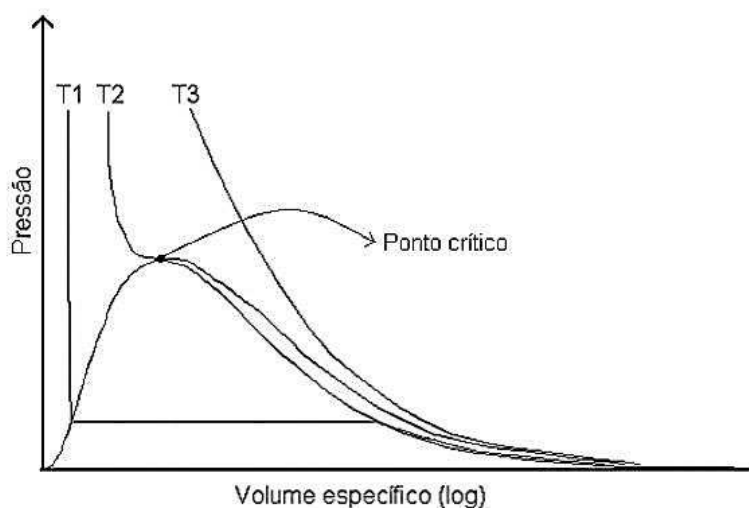


Figura 3.6 - Diagrama de fase para um composto puro (adaptado de VASCONCELLOS, 2007).

$$\left(\frac{\partial^2 P}{\partial V^2} \right)_{T=T_c} = \left(\frac{\partial P}{\partial V} \right)_{T=T_c} = 0 \quad 3.1$$

$$\kappa_T = -\frac{1}{V} \cdot \left(\frac{\partial V}{\partial P} \right)_T \quad 3.2$$

Da mesma maneira que a densidade, as propriedades de transporte como difusividade e viscosidade também são dependentes da temperatura e pressão, onde as variações são mais

pronunciadas em regiões próximas ao ponto crítico. Valores característicos de densidade, difusividade e viscosidade para os estados gasoso, líquido e supercrítico estão dispostos na Tabela 3.4.

A viscosidade de um SF diminui com a temperatura até um valor mínimo, após o qual aumenta com a temperatura. A temperaturas acima do mínimo o fluido comporta-se como gás, isto é, a viscosidade aumenta com a temperatura. Às temperaturas abaixo do mínimo, comporta-se como líquido, onde a viscosidade decresce com a temperatura. Para temperaturas reduzidas entre 0,97 e 1,09 e pressões abaixo da crítica, a difusividade é inversamente proporcional à pressão (P); e, inversamente proporcional a $P^{0,5}$, para pressões maiores que a pressão crítica (DEL VALLE e AGUILERA, 1999).

Tabela 3.4 - Valores característicos de acordo com o estado de agregação (BRUNNER, 1994).

Estado de Agregação	Densidade (g/cm ³)	Difusividade (cm ² /s)	Viscosidade (g/cm.s)
<i>Gás</i>			
1atm e 15-30°C	(0,6-2,0) x 10 ⁻³	0,1 - 0,4	(0,6-2,0) x 10 ⁻⁴
<i>Líquido</i>			
P = 1atm, T = 15-30°C	0,6-1,6	(0,2-2,0) x 10 ⁻⁵	(0,2-3,0) x 10 ⁻²
<i>Fluido Supercrítico</i>			
P _c , T _c	0,2-0,5	0,7 x 10 ⁻³	(1-3) x 10 ⁻⁴
4P _c , T _c	0,4-0,9	0,2 x 10 ⁻³	(3-9) x 10 ⁻⁴

Os baixos valores de viscosidade e os valores intermediários de difusividade promovem maior facilidade no transporte de massa, resultando em uma diminuição nos custos. Os altos valores de densidade, combinados com o poder de solvatação dependente da pressão, conferem alta solubilidade e seletividade ao processo. Além disso, a ausência de tensão superficial permite a rápida penetração do solvente na matriz da amostra, aumentando a eficiência da extração. Todos esses fatores combinados têm promovido o grande interesse na aplicação da tecnologia de fluidos supercríticos nos processos de separação (ROZZI e SINGH, 2002; TAYLOR, 1996).

Em adição às propriedades físico-químicas, o solvente utilizado em processos de extração na indústria de alimentos deve ser inerte, não inflamável, estável, atóxico e não corrosivo (MCHUGH e KRUKONIS, 1994). Além dessas características, o dióxido de carbono apresenta-se disponível em grande quantidade (devido ao fato de ser subproduto de inúmeras operações industriais como fermentação, combustão e síntese de amônia, por exemplo), a um baixo custo e

com alto grau de pureza, possuindo ponto crítico relativamente baixo, 31,1 °C e 7,38 MPa. Este último fator favorece a sua utilização como solvente na extração de produtos voláteis e termolábeis, uma vez que os compostos de interesse não são necessariamente expostos a altas temperaturas, as quais poderiam induzir a degradações térmicas dos componentes do alimento (BRUNNER, 2005; ROZZI e SINGH, 2002). Ademais, devido a sua relativa baixa pressão crítica, as pressões de operação não são necessariamente altas, reduzindo os custos de investimento e, conseqüentemente, os de manufatura. Essas propriedades são especialmente atrativas na extração de compostos de materiais biológicos o que torna o dióxido de carbono a escolha padrão nos processos de extração supercrítica na indústria de alimentos (BRUNNER, 2005; DEL VALLE e AGUILERA, 1999; MCHUGH e KRUKONIS, 1994; ROZZI e SINGH, 2002). Também é importante notar que fluidos supercríticos apresentam propriedades biocidas contra a maioria dos microorganismos entre fungos, bactérias e vírus (SPILIMBERGO et al., 2002), e mesmo que não possam ser considerados como agentes esterilizantes, processos com CO₂ supercrítico são intrinsecamente estéreis e nunca aumentam a carga microbiana, devido às altas pressões empregadas e ausência de oxigênio (PERRUT e CLAVIER, 2003). O CO₂ supercrítico a 20 MPa leva a resultados similares aos dos tratamentos clássicos a alta pressão na indústria de alimentos para pasteurização/esterilização a 400-800 MPa (PERRUT, 2007).

A extração com fluido supercrítico (SFE – *supercritical fluid extraction*) apresenta vantagens consideráveis comparada com os métodos convencionais de extração. Além do solvente poder ser facilmente removido do soluto através da redução da pressão e/ou ajuste da temperatura, apresenta menor requerimento energético quando comparado à destilação e possibilita uma rápida extração devido à baixa viscosidade, alta difusividade e adequado poder de solvatação do fluido supercrítico. Incluso, tem-se que a extração com fluido supercrítico requer o uso de pouco ou nenhum solvente orgânico, apresentando-se, portanto, como uma tecnologia segura e ecologicamente correta, uma vez que, industrialmente, o dióxido de carbono é recirculado no sistema (VASCONCELLOS, 2007).

3.4.2.1 Etapas da Extração

A extração com fluido supercrítico de matrizes sólidas ou semi-sólidas divide-se em duas etapas: extração e separação. Na extração, o fluido supercrítico escoar através de um leito fixo de partículas sólidas dissolvendo os componentes extraíveis. O solvente é alimentado no extrator e uniformemente distribuído no interior do leito fixo. A mistura de solvente e componentes extraídos deixa o extrator e passa para o separador (BRUNNER, 1994). No separador, a pressão da solução é

reduzida, acarretando na vaporização do solvente, o qual poderá ser recirculado, e na precipitação do soluto, o qual será coletado e analisado (SOVOVÁ, 2005). Brunner (1994) afirma que, durante a extração dos compostos solúveis de matrizes vegetais, algumas etapas paralelas e consecutivas ocorrem (Figura 3.7):

- A matriz vegetal absorve o solvente supercrítico e/ou outros fluidos deliberadamente adicionados no processo de extração e a estrutura celular intumescce facilitando assim o transporte de massa.
- Em paralelo, os compostos extraídos são dissolvidos pelo solvente. Uma reação química pode ocorrer antes da solvatação;
- Os compostos dissolvidos são transportados até a superfície do sólido. Nesse caso, a difusão é o mecanismo de transporte mais importante;
- Os compostos dissolvidos atingem a superfície externa podendo ocorrer neste instante mudança de fase;
- Os compostos presentes na camada da superfície são transportados pelo solvente supercrítico;
- Por fim, ocorre a separação do extrato do solvente.

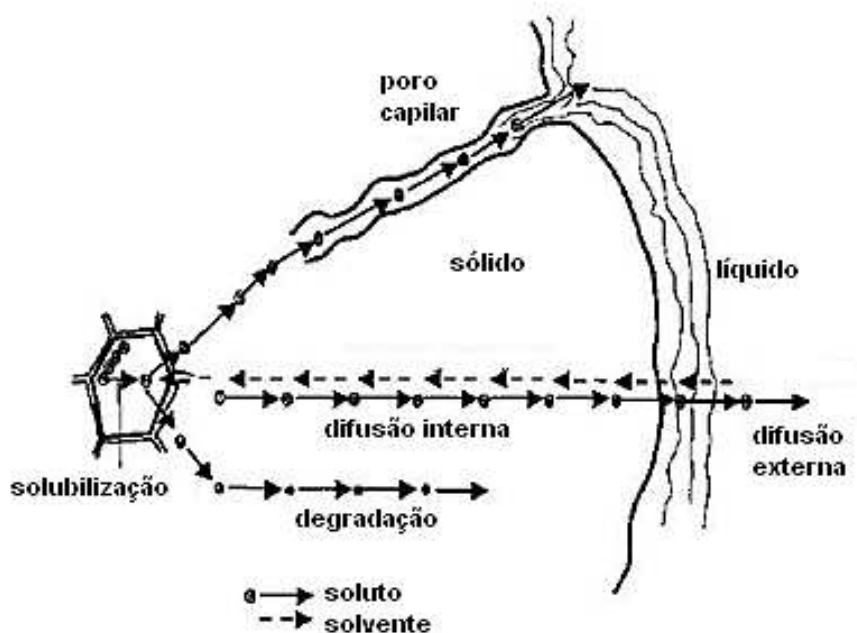


Figura 3.7 - Esquema gráfico das principais etapas do processo de extração sólido-líquido de matrizes vegetais (adaptado de TZIA e LIADAKIS, 2003).

Nos estágios nos quais a matriz vegetal, extrato e solvente entram em contato podem ser divididos em duas etapas: etapa de extração, onde o sistema é formado pelo sistema ternário (matriz vegetal + extrato + CO₂); e etapa de remoção do solvente, na qual considera-se a interação extrato + CO₂. Na etapa de extração, a temperatura e a pressão são selecionadas para maximizar o rendimento dos compostos de interesse, enquanto que na etapa de separação o nível de solubilidade é reduzido com o objetivo de assegurar a precipitação do extrato e reciclagem do CO₂.

O processo SFE é muito simples e o diagrama de operação é apresentado na Figura 3.8. De forma geral, segundo Quispe-Condori et al. (2005), a SFE opera da seguinte forma:

- i. No extrator (E), o leito fixo é formado por partículas da matriz vegetal (sementes, folhas, frutos, flores, etc). A matéria-prima deve ter entre 10 a 18% (b.u. – base úmida) de água para a extração com CO₂ puro (MEIRELES, 2003);
- ii. O solvente é alimentado no extrator por meio de um compressor ou bomba (B) para alcançar a pressão de extração (BRUNNER, 1994). Logo o solvente e o extrator são aquecidos até a temperatura de extração desejada. Um sistema para adição de co-solvente pode ser incorporado;
- iii. Atingidas as condições de processo, as válvulas de redução de pressão são abertas para permitir o escoamento do solvente ao longo do leito, com a conseqüente extração do extrato. Para evitar o congelamento das válvulas, devido ao efeito Joule-Thompson, um sistema de aquecimento é necessário;
- iv. A separação da mistura Extrato + CO₂ acontece no separador (S). Na temperatura e pressão reduzidas, o extrato precipita no separador, enquanto que o solvente livre ou com baixo teor de extrato é recirculado no sistema com estágios prévios de resfriamento e compressão. Para extração em pequena escala, a coleta pode ser realizada a pressão atmosférica e o solvente pode ser descartado ao ambiente. Em um processo de escala maior, o fluido que deixa o dispositivo de coleta será resfriado para recirculação e a coleta deve ser realizada em condições que diminuam os custos de recompressão do solvente (BRUNNER, 1994).

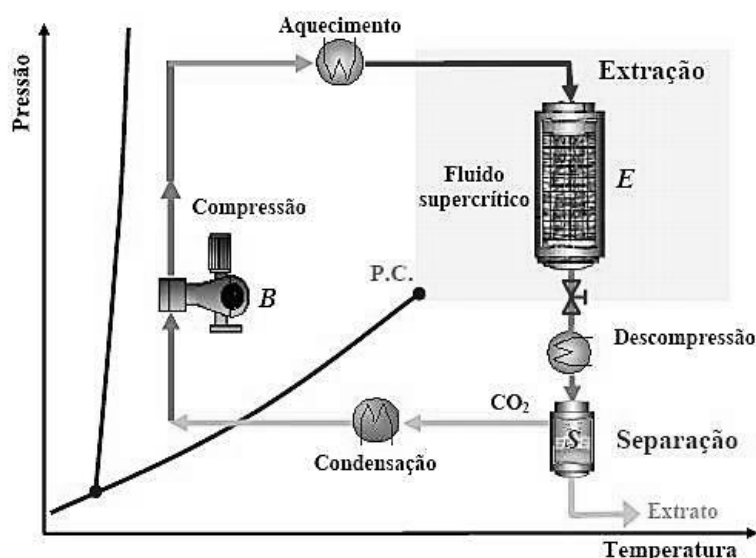


Figura 3.8 - Diagrama do processo de extração com fluido supercrítico (SFE) (QUISPE-CONDORI, 2005).

3.4.2.2 Cossolventes

Mesmo a elevadas densidades, o dióxido de carbono possui limitada habilidade de dissolver moléculas polares. Contudo, embora o dióxido de carbono seja uma molécula que não possui qualquer momento dipolar, possui fortes dipolos de ligação, os quais podem interagir com outras moléculas polares (MCHUGH e KRUKONIS, 1994). Dessa maneira, a polaridade do CO_2 supercrítico podem ser modificada pela adição de compostos miscíveis e polares denominados na literatura como cossolventes ou modificadores. A polaridade de um solvente está intimamente ligada às propriedades físicas e químicas das moléculas, exercendo influência sobre o ponto de fusão, o ponto de ebulição e a solubilidade das mesmas em determinado solvente (MORRISON e BOYD, 1996), e inclui a soma de todas as interações soluto-solvente, como as pontes de hidrogênio e forças de van der Waals (JEON e CHESNEY, 1999).

A utilização de cossolventes ou modificadores é uma prática bastante comum em SFE quando se deseja extrair compostos de alta polaridade normalmente não solúveis em CO_2 devido à sua baixa polaridade. Os cossolventes possuem propriedades físico-químicas distintas podendo quebrar as interações entre soluto-matriz sólida através de interações moleculares como forças de Van der Waals e pontes de hidrogênio por exemplo facilitando o transporte do soluto dos poros

intersticiais para a superfície da matriz. Uma das explicações para tal efeito é porque a adição de um cossolvente com polaridade maior do que a do CO₂ aumenta a polaridade da mistura e, portanto, aumenta a solubilidade de um certo soluto ou classe de compostos polares no fluido supercrítico (PEREIRA, 2005; ALMEIDA, 2006).

Portanto, pequenas quantidades de substâncias polares tais como etanol, acetona e água têm sido utilizadas em estudos de extração supercrítica de compostos polares com o objetivo de aumentar a solubilidade destes compostos no CO₂ supercrítico aumentando o rendimento de extração destes constituintes (REVERCHON e DE MARCO, 2006; PASQUEL et al., 2000; ZANCAN et al., 2002; PEREIRA et al., 2004; SOVOVÁ et al., 2004; TAKEUCHI, 2009; YODA et al., 2003; LEAL et al., 2008). Neste caso, as isotermas de rendimento global podem apresentar comportamento muito mais complexo do que o apresentado para sistemas apenas com CO₂ como solvente, com mais de uma pressão de inversão (LEAL et al., 2008; TAKEUCHI, 2009). A utilização de água como cossolvente apresenta como vantagens menor custo de processo e impacto ambiental, além da facilidade de manuseio (MEIRELES, 2003).

Campos (2005), utilizou etanol como co-solvente a 10, 15 e 20% em massa para condição operacional de 150 bar e 40°C, a fim de melhorar o perfil de composição e valores de rendimento do óleo de bagaço de uva Cabernet Sauvignon extraído com CO₂ puro. Utilizando CO₂ puro um rendimento de 2,39% foi obtido, enquanto que ao adicionar etanol 15% (m/m) seu rendimento passou para 9,20%. Kitzberger (2005), empregou etanol, diclorometano e acetato de etila como cosolvente na extração supercrítica de óleo de cogumelo shiitake (*Lentinula edodes*) à 200 bar e 40°C, visando a extração de compostos antioxidantes do shiitake. Ao utilizar CO₂ puro um rendimento de 0,65% foi obtido, ao adicionar etanol 15% (m/m), seu rendimento passou para 3,81%. A adição dos cossolventes diclorometano e acetato de etila a 15%, refletiram em rendimentos de 0,85% e 0,91%, respectivamente, ambos superiores ao rendimento de 0,65%.

3.4.2.3 Curvas Globais de Extração

As curvas globais de extração (OEC – *overall extraction curves*) expressam a taxa de extração (dw/dt), isto é, a massa de extrato acumulada ($w(t)$) em função do tempo (t) ou massa de solvente utilizada. A taxa de extração não é uma função linear do tempo e, por esta razão, diversos comportamentos podem ser observados para as curvas globais de extração. De forma geral, dois tipos de OEC são observados na literatura os quais estão esquematizados na Figura 3.9 (QUISPE-CONDORI, 2005; BRUNNER, 1994).

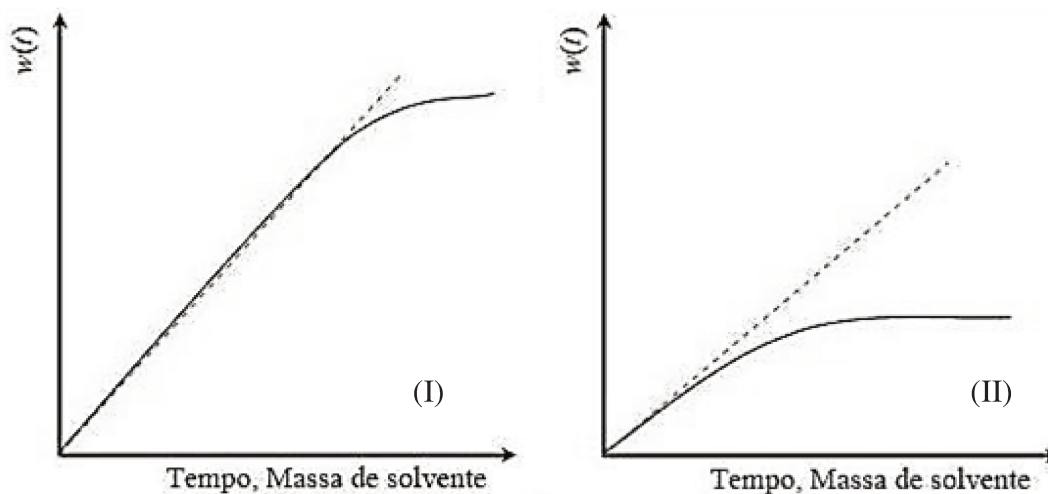


Figura 3.9 - Curvas globais de extração (OEC) tipo I e II (adaptado de QUISPE-CONDORI, 2005; BRUNNER, 1994).

Na OEC tipo I observa-se inicialmente uma taxa de extração constante com o decorrer da extração seguida por um decréscimo apenas no final do processo. Curvas deste tipo representam cinéticas de extração a partir de matrizes vegetais com alto teor de material extraível e/ou de fácil acesso ao solvente. Na OEC tipo II observa-se que desde o início da extração ocorre a diminuição progressiva da taxa de extração. Este tipo de curva representa a extração de substratos com baixo teor de material extraível e/ou de difícil acesso ao solvente (QUISPE-CONDORI, 2005).

O estudo das OEC ajuda a definir os parâmetros cinéticos do processo os quais fornecem informações importantes relativas ao dimensionamento industrial de uma unidade de extração com fluido supercrítico (VASCONCELLOS, 2007; QUISPE-CONDORI et al, 2005). O gráfico esquematizado na Figura 3.10 mostra o comportamento típico de um processo de extração com fluido supercrítico.

BRAGA (2005) indica que as curvas globais de extração podem ser divididas em três regiões distintas:

- Na primeira etapa, denominada de período de taxa constante de extração (CER - *Constant Extraction Rate*), o soluto encontra-se presente em grande quantidade na superfície das partículas da matriz. Nesse caso, o processo de transferência de massa é controlado pela convecção, ou seja, pelo escoamento do solvente. Em geral, esse período pode ser caracterizado pelos seguintes parâmetros: t_{CER} (duração do período CER, s); Y_{CER} (razão

- mássica de soluto na fase supercrítica na saída do leito); M_{CER} (taxa de transferência de massa, kg/s) e R_{CER} (rendimento do período CER);
- No período de taxa de extração decrescente (FER - *Falling Extraction Rate*), a camada de soluto facilmente acessível na superfície das partículas está se esgotando. Uma vez que nem todas as partículas encontram-se revestidas pelo soluto, a taxa de transferência de massa decresce rapidamente devido a diminuição da área efetiva de transferência de massa. Nessa fase, a resistência à transferência de massa encontra-se em ambas as fases sólida e fluida e tanto os processos de difusão quanto os de convecção passam a ser importantes na extração;
 - No período de taxa de extração controlada pela difusão (DC - *Diffusion Controlled*), caracterizado pela ausência de soluto facilmente acessível na superfície das partículas, a taxa de extração é determinada apenas pela difusão do solvente para o interior das partículas sólidas, seguida da difusão da mistura soluto/solvente para a superfície das partículas.

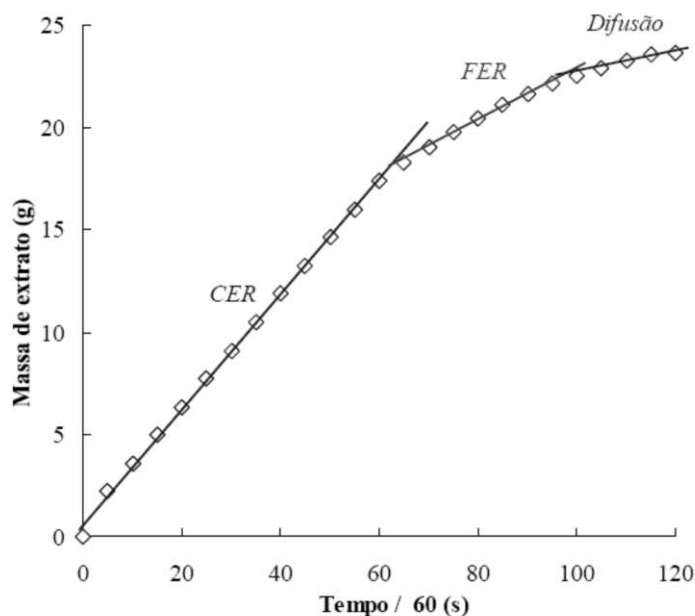


Figura 3.10 - Curva de extração do cravo-da-Índia (adaptado de RODRIGUES et al., 2002).

3.5 ANÁLISE ECONÔMICA

O desenvolvimento de processos industriais exige tempo e investimento na definição de *layouts*, aquisição de equipamentos, otimização de processos e desenvolvimento de produtos,

incluindo a necessidade de se estudar a fundo o novo processo a fim de chegar a sua otimização. No mercado atual, é necessário agilidade e baixo custo no desenvolvimento de novos processos a fim de permitir maior competitividade (PRADO, 2009). Para se transferir qualquer tipo de tecnologia da comunidade acadêmica para a indústria, é imprescindível possuir ferramentas que permitam estimativas rápidas e precisas quanto a sua viabilidade técnica e econômica. Como é impossível generalizar o conhecimento sobre um processo para todas as matrizes biológicas, cada matéria-prima deve ser estudada individualmente, e ferramentas simples que utilizem o mínimo de informações experimentais devem ser desenvolvidas para a otimização do processo e estudo de sua viabilidade econômica (ZETZL et al., 2004; PRADO, 2010). Dessa maneira, o desenvolvimento de projetos, simulação e otimização de processos industriais assistidos por computador tem crescido muito nos últimos 50 anos (DIAZ e BRIGNOLE, 2009). Os simuladores de processos consistem em importantes ferramentas no desenvolvimento, avaliação e aumento de escala de bioprocessos e na modelagem e predição dos custos de produção, pois oferecem a oportunidade de desenvolvimento de processos a um curto tempo, permitindo a comparação de processos alternativos em uma consistente base de dados de forma que um grande número de processos podem ser sintetizados e analisados interativamente. Além disso, a simulação de processos integrados também permite o estudo das interações que existem entre processos *upstream* e *downstream* (KWIATKOWSKI, 2006). Diante disso, para uma análise da viabilidade econômica e da aplicação industrial de uma tecnologia, faz-se necessário o estudo das condições de otimização do processo; a determinação da composição química do extrato e de suas propriedades funcionais; a estimativa dos custos de manufatura do processo; e a escolha da mais vantajosa fonte do composto de interesse (MEIRELES, 2003; ROSA e MEIRELES, 2005).

Uma das fases do projeto de processos é a escolha da tecnologia que será empregada para cada operação unitária. Os processos SFE e PLE trazem algumas alternativas valiosas em termos de extração quando comparados aos métodos convencionais de extração; contudo, deve ser considerado com cautela, pois é uma das alternativas dentre os vários processos disponíveis, não sendo necessariamente a mais adequada para cada matéria-prima e produto desejado, apresentando tanto quanto os outros processos, vantagens e desvantagens (PERRUT, 2007). Portanto, a fim de viabilizar a implantação de uma unidade industrial de SFE e PLE, não basta demonstrar a viabilidade técnica do processo; sua viabilidade econômica é tão importante quanto, ainda mais quando se considera que existem outras tecnologias concorrentes que apresentam custo de investimento inferior (PRADO, 2010). Devido à não linearidade da curva de extração, a otimização dos processos de extração não depende apenas da quantidade total de extrato recuperada, mas também do tempo de processo, da quantidade de solvente gasto e da composição química do

produto, entre outros. Segundo Meireles (2003), independente da matriz avaliada, aproximadamente 70 a 90% de todo o material passível de extração é recuperado durante o período CER. Portanto, interromper a extração antes do esgotamento do leito pode ser economicamente vantajoso devido ao menor tempo de processo e consequente maior número de ciclos anuais (ROSA e MEIRELES, 2005). Por outro lado, os extratos obtidos nos diferentes períodos de extração da OEC (etapa CER, FER e DC) podem apresentar grandes diferenças de composição química entre si. PRADO et al. (2010) estudaram o COM para a SFE de óleo vegetal e carotenóides de palmeiras amazônicas. Por serem os carotenóides solubilizados prioritariamente no período DC da extração, os autores concluíram que quando a concentração de carotenóides no produto é o fator mais relevante, a extração deve ser levada até o fim, ao invés de ser interrompida ao final do período CER. A análise econômica permite encontrar o ponto de equilíbrio entre rendimento e custo, podendo ser levada em conta a qualidade do produto (PRADO, 2010).

3.5.1 Classes

De acordo com a *Association for the Advancement of Cost Engineering International* (1997), a estimativa de custo é estabelecida em cinco classes designadas como Classes 1, 2, 3, 4 e 5. Uma estimativa de Classe 5 é baseada no mais baixo nível de definição do projeto, e a estimativa de Classe 1 é mais próxima à definição total do projeto, ou seja, alto grau de maturidade. Esta classificação considera que a estimativa dos custos de manufatura é um processo dinâmico que ocorre por meio de sucessivas estimativas até que uma estimativa final se aproxime do valor real. As características que são utilizadas para distinguir uma classe da outra são: grau de definição do projeto, finalidade da estimativa, metodologia da estimativa, exatidão da estimativa e esforço no preparo da estimativa (AACEI, 1997).

Dessa maneira, as estimativas de Classe 5 são normalmente baseadas em informações muito limitadas e, conseqüentemente, têm grande variação de precisão. Desta forma, algumas companhias e organizações têm optado em determinar que devido às imprecisões inerentes, algumas estimativas não podem ser classificadas de forma convencional ou sistêmica. Estimativas de Classe 5 podem ser preparadas dentro de um período de tempo limitado e com pouco esforço dispendido. Muitas vezes, existem poucas informações no momento de realização desta primeira estimativa de custo (por exemplo, tipo de planta proposta, localização e capacidade). Para realização da estimativa de Classe 5 é utilizado, normalmente, método estocrático de estimativa virtual como curva de custo/capacidade e fatores entre eles: de escala de operação, de Lang, de Chilton, de Peter-Timmerhaus, de Guthrie e outros parâmetros e técnicas de modelagem. O nível de definição

requerido para uma estimativa de Classe 5 varia entre 0 e 2% da definição completa do projeto (AACEI, 1997).

Por outro lado, embora as estimativas de Classe 4 sejam baseadas em informações limitadas e consequentemente com grande variação de precisão diferentemente das de Classe 5, elas podem ser usadas para rastrear projetos, para a determinação da viabilidade, para a avaliação do conceito e para a aprovação preliminar do orçamento. Para estimativas de Classe 4 utiliza-se normalmente método estocrático de estimativa virtual baseada em fatores: de equipamentos, de Lang, de Hand, de Chilton, de Peters-Timmerhaus, de Guthrie, método de Miller, unidades grosseiras de custo/taxas, e outros parâmetros e técnicas de modelagem. O nível requerido de definição do projeto varia entre 2 e 5% da definição completa do mesmo (AACEI, 1997). Para Classe 3 as estimativas são geralmente preparadas para formar a base para a autorização orçamentária. Deste modo, todos os custos reais e os recursos são monitorados para a estimativa inicial. No projeto deverá conter no mínimo os seguintes itens: fluxograma do processo, fluxograma das utilidades, fluxogramas preliminares das tubulações e dos instrumentos, desenhos de *layout*, e essencialmente o processo de engenharia completo e lista dos equipamentos. Estimativas de Classe 3 geralmente usam métodos determinísticos e não métodos estocásticos. A estimativa geralmente envolve custo unitário dos itens da linha, embora estes itens possam estar em uma linha de montagem com alto nível de detalhe. O uso de métodos estocásticos ou outros métodos podem ser utilizados para áreas do projeto menos significativas. O nível de definição do projeto varia de 10 a 40% da definição completa do projeto (AACEI, 1997).

A estimativa de Classe 2 geralmente é preparada para formar uma linha base detalhada, em termos de custo e controle do progresso. Para contratantes, esta classe de estimativa é muitas vezes usada como uma "oferta" estimada para estabelecer valor contratual. Nesta classe a engenharia é de 30 a 60% concluída, e inclui no mínimo: fluxogramas de processo, fluxograma das utilidades, fluxogramas preliminares das tubulações e dos instrumentos, balanços de massa e energia, *layout* final, o processo de engenharia completo, lista dos equipamentos, honorários, cotações de vendedores, planos detalhados de execução do projeto, recursos e planos de trabalho. Estimativas de Classe 2 geralmente envolvem alto grau de definição e usam métodos determinísticos de estimativa. As estimativas são preparadas com grande detalhe (AACEI, 1997). Estimativas de Classe 1 são geralmente preparadas para partes discretas ou seções do projeto total que irão substituir as partes correspondentes menos detalhadas. Estimativas de Classe 1 geralmente envolvem alto grau de definição de métodos determinísticos de estimativa e requer grande esforço. A estimativa de Classe 1 é realizada com grandes detalhes, e geralmente são realizados apenas com as áreas mais importantes ou críticas do projeto. Todos os itens da linha são geralmente baseados em custo

unitário real. O nível de definição do projeto varia de 50 a 100% da definição completa do projeto (AACEI, 1997).

3.5.2 Grau de Definição do Projeto

O nível da definição do projeto determina a extensão e os tipos de informação de entrada disponíveis para a estimativa do processo. Tais entradas incluem a definição do escopo do projeto, as exigências originais, as especificações, as plantas do projeto, os desenhos, os cálculos e outras informações que devem ser desenvolvidas para definir o projeto. Quanto mais informações, mais completo será o projeto e maior será o nível de definição do mesmo (LEAL, 2009; AACEI, 1997).

3.5.3 Finalidade da Estimativa

As várias classes (ou as fases) de estimativas de custo possuem diferentes finalidades. Enquanto o nível da definição do projeto aumenta, a finalidade da estimativa progride de uma avaliação estratégica e estudos de viabilidade à autorização do financiamento (LEAL, 2009; AACEI, 1997).

3.5.4 Metodologia da Estimativa

Os métodos de estimativa recaem sobre duas categorias: estocástica (aleatória ou randômica) e determinística. Em métodos estocásticos, as variáveis independentes usadas na estimativa do custo não representam geralmente valores reais, ou seja, em métodos estocásticos os custos são frequentemente sujeitos à suposição. Com métodos determinísticos, as variáveis independentes representam medidas mais definitivas do que estimadas. Enquanto o nível da definição do projeto aumenta, a metodologia da estimativa de custo tende a progredir de estocástica a determinística. Quando o projeto adquire maior maturidade, ou seja, o projeto tem maior quantidade de informações já definidas, parte das suposições deixa de ser necessária e neste momento, passa-se a aplicar uma estimativa de custo baseada em metodologia mais determinística (LEAL, 2009; AACEI, 1997).

3.5.5 Exatidão da Estimativa

A exatidão da estimativa de custo mede a diferença entre o custo estimado e o custo real. A exatidão é expressa tradicionalmente como a porcentagem em torno do ponto estimado sujeito a um intervalo de confiança. Enquanto o nível da definição do projeto aumenta, a exatidão prevista da

estimativa tende a ser aprimorada indicada por um intervalo de variação menor (LEAL, 2009; AACEI, 1997).

3.5.6 Esforço no Preparo da Estimativa

O nível do esforço necessário para preparar uma dada estimativa é uma indicação do custo, do tempo, e dos recursos requeridos. A medida do custo desse esforço é expressa geralmente como uma porcentagem dos custos totais do projeto para um dado tamanho do projeto. Quando o nível da definição do projeto aumenta, o esforço para preparo da estimativa também cresce (LEAL, 2009; AACEI, 1997).

3.5.7 Metodologia de Lang

Uma técnica simples para estimar o custo de capital total de uma planta de processo industrial é o método de Lang (TURTON et al, 2009). Esta técnica é usada muito freqüentemente para se obter a ordem de magnitude das estimativas de custo, de modo que o custo de uma planta de processo pode ser obtido multiplicando-se o custo do equipamento básico por um fator, que vai então fornecer o investimento necessário. Dessa maneira, o custo determinado do fator de Lang representa o custo para construir uma expansão numa planta industrial já estabelecida (TURTON et al, 2009). Os fatores de Lang variam de acordo com o processo: planta de processamento de sólido (3,10), planta de processamento sólido-líquido (3,63) e planta de processamento de fluido (4,74). Estes fatores devem ser multiplicados pelo custo total dos equipamentos. Custo geralmente é baseado em cotações para os itens menos comuns e utilização de dados estabelecidos ou publicados para os itens mais comuns (TURTON et al, 2009). Quanto maior o fator de Lang menor é a contribuição do custo de aquisição com relação ao custo da planta. O custo de capital total da planta industrial é obtido através da Equação 3.3:

$$C_{TM} = F_{Lang} \sum_{i=1}^n C_{p,i} \quad 3.3$$

Onde: C_{TM} : custo total da planta; $C_{p,i}$: custo dos equipamentos; F_{Lang} : fator de Lang; n : número total de unidades individuais.

3.5.8 Método de Chilton ou regra dos 0,6

Esta estimativa relaciona o investimento fixo de uma nova planta ao investimento fixo de uma planta similar, previamente construída. Para certas configurações de processos, o investimento fixo de uma nova planta é igual ao investimento fixo da planta já construída multiplicado pela relação entre as capacidades, elevadas a um expoente n (Equação 3.4). Esse expoente é estimado como sendo a média entre 0,6 e 0,7 para muitos processos se nenhuma outra informação é disponível (TURTON et al, 2009).

$$\frac{C_a}{C_b} = \left(\frac{A_a}{A_b} \right)^n \quad 3.4$$

Onde A = atributo do equipamento, C = custo do equipamento, n = expoente do equipamento, a refere-se ao equipamento com o atributo requerido, b refere-se ao equipamento com o atributo conhecido. Essa regra só é possível de ser utilizada se $A_a/A_b < 10$.

Além disso, A metodologia de Chilton também pode ser utilizada para a estimativa dos custos de equipamentos quando o custo disponível é de um equipamento com uma capacidade diferente da capacidade do equipamento requerida (TURTON et al, 2009). É importante notar que essa metodologia ilustra o conceito de economia de escala onde observa-se que quanto maior a capacidade do equipamento menor é o custo do equipamento por unidade de capacidade.

3.5.9 Metodologia de Turton

O custo de manufatura (COM - *cost of manufacturing*) proposto por Turton et al. (1998) é influenciado por vários fatores que podem ser agrupados em três categorias de custo: custos diretos, custos fixos e despesas gerais. O custo direto leva em conta custos que dependem diretamente da produção. Entre os custos diretos estão: matéria-prima, utilidades, custo operacional, entre outros. O custo fixo não depende diretamente da produção e ocorre mesmo quando a produção é interrompida. Compõem o custo fixo a depreciação, os impostos, os seguros, etc. A despesa geral é o adicional que a planta necessita para a manutenção do negócio e consiste de custo administrativo, despesa com venda, pesquisa e desenvolvimento.

Esta metodologia define o COM como a soma de cinco fatores: custo fixo de investimento (FCI - *fixed capital of investment*), custo da mão de obra (COL - *cost of operational labor*), custo da matéria-prima (CRM - *cost of raw material*), custo do tratamento de resíduos (CWT - *waste treatment*) e custo das utilidades (CUT - *cost of utilities*). O custo pode ser calculado usando a

Equação 3.5. A estimativa de COM aqui proposta é classificada como custo de Classe 5 ou 4 segundo a AACEI (2007). Como é o menor número de informações necessárias para a estimativa do COM, é empregada para decisões estratégicas como a de avançar ou recuar um dado projeto.

$$COM(US\$/ano) = 0,208FCI + 2,73COL + 1,23(CWT + CUT + CRM) \quad 3.5$$

O capital fixo de investimento (FCI) representa ao montante de capital investido relacionado à implantação de uma indústria ou linha de produção como os gastos com aquisição de equipamentos, construção, instalação, depreciação, etc. O custo de mão-de-obra (COL) é obtido através da estimativa do salário base (US\$/hora) do operador e do número de operadores necessários por turno. A estimativa do salário base depende essencialmente do tipo de trabalho exercido e da planta industrial em que o trabalhador está empregado. O número de operadores necessários por turno pode ser obtido através da Equação 3.6 proposta por Turton et al (2009):

$$N_{OL} = \sqrt{6,29 + 31,7P^2 + 0,23N_{np}} \quad 3.6$$

Onde N_{OL} é o número de operadores por turno, P é o número total de etapas de processo que envolvem manuseio de partículas sólidas como transporte, distribuição e remoção de partículas, por exemplo; N_{np} é o número total de etapas de processo que não envolvem manuseio de partículas sólidas como compressão, aquecimento, resfriamento, mistura e reação, por exemplo. Através dessas informações é possível prever o gasto total com mão-de-obra através da multiplicação do número de trabalhadores pelo número de horas de funcionamento multiplicado pelo salário base. Para uma análise mais precisa deve-se levar em conta o tipo de função exercida e os diferentes salários (US\$/hora) como diretor, supervisor, operador, etc. O custo de utilidades (CUT) refere-se aos gastos com combustível, eletricidade e agentes de transferência de calor (aquecimento ou resfriamento) como vapor d'água superaquecido, água de resfriamento, fluidos refrigerantes, etc. O custo de cada um desses agentes térmicos deve ser multiplicado pela quantidade de material gasto para efetuar o processo de aquecimento ou resfriamento em questão cuja quantidade é estimada levando-se em conta as propriedades termodinâmicas da substância e as temperaturas de entrada e saída do material a ser aquecido ou resfriado. O gasto com eletricidade pode ser obtido através do conhecimento da potência dos equipamentos, seu tempo de funcionamento e o custo \$/ kWh. O custo de matéria-prima (CRM) é obtido através do conhecimento da quantidade total de matérias-primas utilizadas no processo como solventes, reagentes químicos, material biológico, por exemplo,

e o custo de cada uma delas. Por fim, o custo de tratamento de resíduos (CWT) consitiu a estimativa do total gasto com o tratamento de cada um dos resíduos sólidos, líquidos ou gasosos liberados em efluentes e na atmosfera cujo valor é obtido através da multiplicação entre o total emitido e o custo de tratamento de cada desses resíduos cujo valor leva em consideração o grau de risco ao meio ambiente oferecido por cada um deles.

De acordo com Turton et al (2009) existem essencialmente três critérios para avaliar a rentabilidade de um projeto: tempo, dinheiro e taxa de juros. Cada um desses critérios pode ser avaliado por técnicas descontada ou não-descontada. A técnica não-descontada não leva em consideração a flutuação do valor do dinheiro ao longo do tempo e não é recomendada para avaliação de novos e grandes projetos. O critério tempo leva em consideração o período de retorno do investimento. O *tempo de retorno* (PT - *payback time*) consiste no tempo requerido, depois da implantação da planta industrial, para recuperar o custo fixo de investimento (FCI). Assim, quanto menor o tempo de retorno mais rentável é o projeto (TURTON et al, 2009). O critério dinheiro utiliza a *posição do dinheiro acumulado* o qual é simplesmente o valor do projeto ao fim de sua vida para avaliar a rentabilidade do projeto. Contudo, esse parâmetro dificulta a comparação entre projetos com custos de investimento distintos. Por esta razão, normalmente utiliza-se a *razão do dinheiro acumulado* definida como a razão entre o total de fluxo de dinheiro ganho e o total de fluxo de dinheiro gasto. O critério da taxa de juros utiliza a *taxa de retorno de investimento* e representa a taxa na qual obtém-se dinheiro a partir do custo fixo de investimento. A taxa de retorno de investimento é calculada como a razão entre a média anual de rentabilidade dentro do tempo de vida do projeto e o custo fixo de investimento do projeto (TURTON et al, 2009).

3.5.10 Simuladores de Processos

Segundo a *Association for the Advancement of Cost Engineering International*, a metodologia proposta por ROSA e MEIRELES (2005) é de Classe 4 a 5, enquanto o SuperPro Designer pode ser classificado como um simulador de custo Classe 2 a 3 (TURTON et al., 2003). Takeushi et al. (2008) utilizaram o simulador SuperPro Design[®] 6.0 para estimar os custos de manufatura (COM) do óleo de cravo-da-índia, baseado na expressão proposta por Turton et al. (1998), e avaliaram o impacto das condições reais de separação no tanque flash, sob várias condições de pressão e temperatura, concluindo que o simulador é uma importante ferramenta para a comunicação entre a comunidade científica e o setor industrial. Segundo ROUF et al. (2001), o simulador SuperPro Designer mostrou-se suficiente para avaliação econômica de um processo de produção de biofármaco comparado ao Aspen BPS, sendo considerado uma ferramenta mais simples na avaliação econômica de processos. O COM é influenciado por uma série de fatores que

podem ser divididos em categorias como custos diretos, custos fixos e despesas gerais. Os custos diretos levam em consideração as despesas que dependem diretamente da taxa de produção. Alguns dos itens que contribuem para custos diretos são a matéria-prima, as utilidades e a operação. O custo fixo não depende diretamente da taxa de produção e deve ser considerado mesmo que a operação seja interrompida; como exemplos temos os impostos, seguros e depreciação. As despesas gerais são necessárias para manter o negócio e consistem no custo administrativo, despesas de vendas e na pesquisa e desenvolvimento, dentre outros (PEREIRA e MEIRELES, 2007a).

3.6 MODELAGEM MATEMÁTICA

A habilidade de prever as curvas cinéticas de extração é de fundamental importância tanto no projeto como na otimização de uma planta industrial. Dessa maneira, modelagem matemática é provavelmente a principal ferramenta de predição que tem por objetivo a estimativa dos parâmetros envolvidos no processo (QUISPE-CONDORI, 2005). A análise de uma curva global de extração (OEC – overall extraction curve) para um determinado processo pode ajudar a definir o volume do extrator, a vazão requerida de solvente para a taxa de extração desejada, o tempo de extração, a razão solvente por massa de alimentação, entre outros parâmetros de processo. Para tanto, os modelos matemáticos devem ajustar parâmetros cujo valor possa ser predito como função das condições operacionais, de forma que seja possível a partir de curvas modeladas projetar um processo de extração supercrítica em escala industrial (BRAGA, 2005). Os modelos matemáticos permitem generalizar os resultados experimentais, descrevendo os principais fenômenos de interesse através de uma equação ou um sistema de equações, que posteriormente poderão ser aplicados a condições de trabalho, diferentes daquelas inicialmente pesquisadas, possibilitando assim obter informações necessárias para dimensionamento de uma unidade de extração supercrítica (MOURA, 2004). Em geral, diversos modelos matemáticos têm sido apresentados na literatura objetivando a predição de curvas cinéticas de extração. Estes modelos matemáticos normalmente são baseados em equações empíricas ou no balanço diferencial de massa aplicado na coluna de extração (QUISPE-CONDORI, 2005).

3.6.1 Modelo Empírico

Na modelagem empírica as cinéticas de extração podem ser representadas por equações do tipo exponencial (BARTON et al., 1992) ou isotermas de Langmuir (NAIK et al., 1989) de acordo com as Equações 3.7 e 3.8, respectivamente (QUISPE-CONDORI, 2005).

$$m(t) = X_0 m_{MP} \left(1 - \frac{1}{e^{kt}} \right) \quad 3.7$$

$$m(t) = X_0 m_{MP} \left(\frac{t}{k + t} \right) \quad 3.8$$

Onde:

k é um parâmetro ajustável (s);

X_0 é o rendimento global de extração (%);

t é o tempo de extração (s);

m_{MP} a massa de matéria-prima (kg);

$m(t)$ a massa de extrato em função do tempo (kg).

Esquível et al. (1999) extraíram com CO₂ supercrítico óleo da casca da azeitona nos intervalos de pressão 120 a 180 bar e temperatura de 308 a 330 K. Foi estudado o efeito da pressão, temperatura, capacidade do extrator e da velocidade superficial na taxa de extração. Para a simulação das curvas de extração foram utilizados três modelos matemáticos, dois deles baseados no balanço diferencial de massa (modelo que considera o leito constituído por partículas esféricas e o modelo de Lack's modificado por Sovová (1994) e um empírico baseado na equação da cinética de crescimento microbiano de Monod. Segundo os autores, os modelos avaliados apresentaram resultados satisfatórios quando comparados com os dados experimentais disponíveis na literatura.

Portillo-Prieto (1999) aplicou o modelo de Esquível et al. (1999) a dados de extração de óleo da folha de khoa (Satureja boliviana Benth Briq), obtendo bons ajustes. O modelo empírico representa bem as curvas cinéticas de extração com formato hiperbólico (tipo II). Contudo, as relações de equilíbrio termodinâmico e de mecanismos de transferência de massa estão englobados no parâmetro ajustável k . Portanto, a extensão do modelo empírico para diferentes condições de extração daquelas usadas no ajuste não é aconselhável.

3.6.2 Modelo de Crank

Este modelo foi utilizado por Crank (1975) como um modelo de transferência de massa, fazendo uma adaptação ao modelo de transferência de calor de uma partícula esférica em um meio uniforme. Deste modo, a partícula esférica é o sólido que contém os solutos e o meio é representado pelo solvente. Aplicando a segunda lei de Fick para difusão e resolvendo o balanço de massa, obtém-se a equação que representa a quantidade de soluto remanescente no sólido em função do

tempo de extração. A curva de extração deste modelo pode ser representada pelas Equações 3.9 e 3.10.

$$\frac{X}{X_0} = \frac{6}{\pi^2} \sum_{n=1}^{\infty} \frac{1}{n^2} \exp\left(\frac{-n^2 \pi D t}{r_p^2}\right) \quad 3.9$$

$$m(h = H, t) = \left(1 - \frac{X}{X_0}\right) X_0 m_i \quad 3.10$$

Onde:

X_0 é o rendimento global de extração (%);

r_p é o raio da partícula (m);

t é o tempo (s);

D é o coeficiente de difusão do substrato na partícula (m²/s).

3.6.3 Modelo de Tan e Liou

O modelo de Tan e Liou (1989) é um modelo cinético de primeira ordem que considera a unidade de extração como leito cilíndrico tendo o coeficiente de dessorção como único parâmetro ajustável. Os termos referentes à dispersão axial e à difusão são desprezados, pois segundo os autores, estes fenômenos não influenciam significativamente no processo. O balanço de massa para o modelo de Tan e Liou (1989) pode ser expresso pelas Equações 3.11 e 3.12 para a fase fluida e para a fase sólida, respectivamente:

$$\varepsilon \rho \frac{\partial Y}{\partial t} + u \rho \frac{\partial Y}{\partial h} = -(1 - \varepsilon) \rho_s \frac{\partial X}{\partial t} \quad 3.11$$

$$\frac{\partial X}{\partial t} = -k_d X \quad 3.12$$

Para a resolução dessas equações são utilizadas as seguintes condições de contorno:

$$Y(h, t = 0) = 0 \quad 3.13$$

$$Y(h=0,t)=0 \quad 3.14$$

$$X(h,t=0)=X_0 \quad 3.15$$

Dessa maneira obtém-se a Equação 3.16 a qual expressa a razão mássica do soluto no solvente em função do tempo do processo na saída do extrator.

$$Y(h=H,t)=\frac{1-\varepsilon}{\varepsilon} X_0 \frac{\rho_s}{\rho} \left[\exp\left(\frac{k_d \varepsilon H}{u}\right) - 1 \right] \exp(-k_d t) \quad 3.16$$

Sendo a massa de soluto na saída do extrator expressa pela Equação 3.17:

$$m(h=H,t)=\int_0^t Y(h=H,t) Q_{CO_2} dt \quad 3.17$$

Substituindo a Equação 3.16 na Equação 3.17 obtém-se a massa de extrato acumulado em função do tempo de extração (Equação 3.18).

$$m(h=H,t)=\frac{A}{k_d} [1 - \exp(k_d B)] [\exp(-k_d t) - 1] \quad 3.18$$

Onde:

$$A = \frac{1-\varepsilon}{\varepsilon} X_0 \frac{\rho_s}{\rho} \quad 3.19$$

$$B = \frac{\varepsilon H}{u} \quad 3.20$$

3.6.4 Modelo de Sovová

O modelo de Sovová (1994) compara e combina equações que descrevem a taxa de extração em função do coeficiente de transferência de massa na fase fluida (LACK, 1985; LEE et

al., 1986 *apud* SOVOVÁ, 1994) e equações que descrevem a taxa de extração em função do coeficiente de transferência de massa na fase sólida (Pekhov e Goncharenko, 1968 *apud* SOVOVÁ, 1994). O modelo de Sovová (1994) descreve uma situação em que um solvente flui axialmente com velocidade superficial $\bar{u}$ através de um leito fixo cilíndrico composto por material vegetal triturado. As principais considerações feitas pelo modelo são:

- O solvente não apresenta concentração de soluto na entrada do extrator;
- A pressão e temperatura são constantes durante todo o processo;
- O leito fixo é considerado homogêneo com relação ao tamanho da partícula e a distribuição inicial do soluto;

Segundo Sovová (1994), a moagem da matriz resulta em uma situação na qual parte do soluto, que inicialmente se encontrava no interior das células apresentando difícil acessibilidade ao solvente, passa a ser facilmente acessível, uma vez que parte das células é quebrada durante o processo de moagem. Dessa forma, a massa de soluto contida inicialmente na fase sólida (O) é composta pela massa de soluto facilmente acessível (P) e pela massa de soluto inacessível dentro da fase sólida das partículas (K). A concentração inicial de soluto na célula é dada por:

$$X(t=0) = X_0 = \frac{O}{N} = X_p + X_k = \frac{P}{N} + \frac{K}{N} \quad 3.21$$

Além disso, Sovová (1994) despreza nas equações diferenciais de balanço de massa os termos referentes à dispersão axial e ao acúmulo na fase fluída, e à difusão na fase sólida, por considerar que estes fenômenos não influenciam significativamente no processo quando comparados à convecção na fase fluída. As equações a seguir apresentam o balanço de massa nas fases fluída e sólida segundo o modelo de Sovová (1994):

$$\text{Fase fluída: } u \frac{\partial Y}{\partial h} = \frac{J(X,Y)}{\varepsilon \rho} \quad 3.22$$

$$\text{Fase sólida: } \frac{\partial X}{\partial t} = - \frac{J(X,Y)}{(1-\varepsilon)\rho_s} \quad 3.23$$

Onde:

$$J(X, Y) = k_{Ya} (Y^* - Y) \text{ para } X > X_k \quad 3.24$$

$$J(X, Y) = k_{Xa} \left(1 - \frac{Y}{Y^*} \right) \text{ para } X \leq X_k \quad 3.25$$

Onde k_{YA} e k_{XA} são os coeficientes de transferência de massa nas fases fluida e sólida, respectivamente, e Y^* é a solubilidade do soluto no solvente. As condições de contorno para as equações de balanço de massa são:

$$X(h, t = 0) = X_0 \quad 3.26$$

$$Y(h = 0, t) = 0 \quad 3.27$$

Para a solução analítica das equações, Sovová (1994) propôs a definição de algumas variáveis adimensionais:

$$r = \frac{X}{X_k} \quad 3.28$$

$$y = 1 - \frac{Y}{Y^*} \quad 3.29$$

$$z = \frac{k_{YA}}{\bar{u}} h \quad 3.30$$

$$\tau = \frac{\varepsilon k_{YA} \rho Y^* t}{(1 - \varepsilon) \rho_s X_k} \quad 3.31$$

Onde:

X_k : concentração de soluto na fase sólida a partir da qual a transferência de massa é retardada pela difusão na fase sólida.

Y^* : solubilidade do soluto no solvente.

k_{YA} : coeficiente de transferência de massa na fase fluida.

Introduzindo as variáveis adimensionais obtém-se:

$$\frac{\partial r}{\partial \tau} = \frac{\partial y}{\partial z} = -J^*(r, y) \quad 3.32$$

Onde:

$$J^* r, y = \frac{J(X, Y)}{k_{YA} Y^*} \quad 3.33$$

As condições de contorno passam a ser:

$$r(z, \tau = 0) = r_0 \quad 3.34$$

$$y(z = 0, \tau) = 1 \quad 3.35$$

Definindo uma função $f(r)$ tal que:

$$J^*(r, y) = f(r)y \quad 3.36$$

Onde:

$$f(r > 1) = 1 \text{ e } f(r \leq 1) \leq 1$$

Para determinar o perfil de concentração na fase sólida, Sovová (1994) integrou considerando J^* independente da concentração de soluto na fase fluida (omissão do termo y , tornando $J^*(r, y) = J^*(r)$), obtendo:

$$\frac{1}{f(r)} \frac{\partial r}{\partial z} = +r = r_0 \quad 3.37$$

Com a condição de contorno:

$$\frac{\partial r(z = 0, \tau)}{\partial \tau} = -f(r) \quad 3.38$$

No período da extração no qual o soluto está facilmente acessível ao solvente (fase CER), ou seja, $X = X_k$, temos que $r = 1$, logo:

$$\frac{\partial r}{\partial z} + r = r_0 \quad 3.39$$

Com a condição de contorno:

$$\frac{\partial r(z=0, \tau)}{\partial \tau} = -1 \quad 3.40$$

Para $X \leq X_k$, ou seja, $r \leq 1$, pode-se definir uma constante k tal que:

$$f(r \leq 1) = kr \quad 3.41$$

A função da constante k é introduzir no modelo o coeficiente de transferência de massa na fase sólida:

$$k = \frac{k_{XA} \rho_S X_k}{k_{YA} \rho Y^*} \quad 3.42$$

Sovová (1994) obtém, assim, o perfil de concentração de soluto na fase sólida:

$$r = r_0 - \tau \exp(-z), \text{ para } \tau < \tau_m, \quad 3.43$$

$$r = r_0 - \tau_m \exp[-(z - z_w)], \text{ para } \tau_m \leq \tau < \tau_n, z > z_w \quad 3.44$$

$$r = \frac{r_0}{1 + \{r_0 \exp[k(\tau - \tau_m)] - 1\} \exp(-r_0 k z)}, \text{ para } \tau_m \leq \tau < \tau_n, z \leq z_w \text{ e para } \tau \geq \tau_n \quad 3.45$$

Onde:

$$\tau_m = r_0 - 1 \quad 3.46$$

$$\tau_n = \tau_m + \frac{1}{k} \ln \left[\frac{1 + \tau_m \exp(r_0 k z)}{1 + \tau_m} \right] \quad 3.47$$

$$Z = \frac{k_{YA} h}{\bar{u}} \quad 3.48$$

$$z_w = \frac{1}{kr_0} \ln \left\{ \frac{r_0 \exp[k(\tau - \tau_m)] - 1}{r_0 - 1} \right\} \quad 3.49$$

Integrando-se em relação a y , obtém-se o perfil de concentração de soluto na fase solvente:

$$y = \exp(-z), \text{ para } \tau < \tau_m, \quad 3.50$$

$$y = \frac{\tau_m \exp(z_w - z)}{r_0 - \exp[k(\tau_m - \tau)]}, \text{ para } \tau_m \leq \tau < \tau_n, z > z_w \quad 3.51$$

$$y = \frac{r_0 \exp[k(\tau - \tau_m)]}{\exp(r_0 kz) + r_0 \exp[k(\tau - \tau_m)] - 1}, \text{ para } \tau_m \leq \tau < \tau_n, z \leq z_w \text{ e para } \tau \geq \tau_n \quad 3.52$$

Para a análise de dados experimentais, as equações do modelo devem ser funções de grandezas facilmente mensuráveis, como tempo ou massa de extrato. As equações que definem a curva de extração pelo modelo de Sovová (1994) são as que se seguem:

$$m(h = H, t) = Q_{CO_2} Y^* [1 - \exp(-Z)] t, \text{ para } t \leq t_{CER} \quad 3.53$$

$$m(h = H, t) = Q_{CO_2} Y^* [t - t_{CER} \cdot \exp(Z_w - Z)], \text{ para } t_{CER} < t \leq t_{FER} \quad 3.54$$

$$m(h = H, t) = N \left\{ X_0 - \frac{Y^*}{W} \ln \left[1 + \exp \left(\frac{WX_0}{Y^*} \right) - 1 \right] \exp \left[\frac{WQ_{CO_2}}{N} (t_{CER} - t) \right] \left(\frac{X_p}{X_0} \right) \right\} \quad 3.55$$

para $t > t_{FER}$

Onde:

$$Z = \frac{Nk_{YA}\rho}{Q_{CO_2}(1-\varepsilon)\rho_s} \quad 3.56$$

$$W = \frac{Nk_{XA}}{Q_{CO_2}(1-\varepsilon)} \quad 3.57$$

$$Z_w = \frac{ZY^*}{WX_0} \ln \left\{ \frac{X_0 \exp \left[\frac{WQ_{CO_2}}{N} (t - t_{CER}) \right] - X_k}{(X_0 - X_k)} \right\} \quad 3.58$$

$$t_{CER} = \frac{NX_p}{Y^* ZQ_{CO_2}} \quad 3.59$$

$$t_{FER} = t_{CER} + \frac{N}{Q_{CO_2}W} \ln \left[\frac{X_k + X_p \exp \left(\frac{WX_0}{Y^*} \right)}{X_0} \right] \quad 3.60$$

3.6.5 Modelo de Martínez

Todos os modelos de curvas de extração descritos nas páginas anteriores tratam o soluto como um único pseudocomposto, de forma que o sistema de extração estrutura celulósica + soluto + solvente pode ser considerado um sistema pseudoternário. Porém, os extratos obtidos com tecnologia supercrítica são misturas de vários compostos, tais como terpenos, flavonóides, fenóis, entre outros. Há situações em que o processo de extração tem como o objetivo a obtenção de um composto, ou de um grupo específico de compostos presentes na planta, e não de todos os solúveis, como por exemplo na descafeinização de café e chá. A modelagem de processos de extração, neste caso, deve levar em conta a variação da composição do extrato ao longo da extração, de forma que se possa otimizar o processo para a obtenção dos compostos de interesse. França e Meireles (2000) propuseram um modelo no qual o fluxo de transferência de massa interfacial é função da quantidade

de alguns grupos de compostos do extrato no solvente, como mostra a Equação 3.61, para um extrato com n componentes:

$$J(X, Y) = S = \sum_{i=1}^n S_i \quad 3.61$$

Onde:

$J(X, Y)$ é o fluxo de transferência de massa na interface sólido-fluido;

S_i é a função relativa a solubilidade do componente i .

Os autores dividiram o processo em duas etapas, sendo uma de taxa constante seguida de outra com taxa decrescente de extração. Para a primeira etapa, França e Meireles (2000) consideraram os valores de S_i constantes. Para a etapa de taxa decrescente, França e Meireles (2000) basearam a variação de S_i na cinética de reações químicas de ordem a definir para cada componente, e obtiveram resultados razoáveis na modelagem de extração de óleos, ácidos graxos e carotenóides da fibra residual da prensagem da amêndoa de dendê. Martínez et al (2003) basearam-se no modelo proposto por França e Meireles (2000) para implantar uma nova função para substituir o termo S_i na Equação 3.61. A equação logística de Verhulst (1838), originalmente usada para descrever o crescimento de populações, foi usada para modelar a extração de cada grupo de compostos do extrato, conforme mostra a Equação 3.62:

$$S_i(t) = \frac{A_i b_i \exp[b_i(t_{mi} - t)]}{\{1 + \exp[b_i(t_{mi} - t)]\}^2} \quad 3.62$$

Onde:

t é o tempo de extração;

A_i, b_i, t_{mi} são os parâmetros ajustáveis do modelo;

O balanço de massa para a fase fluida pode ser expresso pela Equação 3.63, onde o termo $J(X, Y)$ é dado pela Equação 3.61.

$$u \frac{\partial Y}{\partial h} = \frac{J(X, Y)}{\varepsilon} \quad 3.63$$

Utilizando a condição inicial $Y(h = 0) = 0$, e integrando, obtém-se na saída do extrator:

$$Y(h = H) = \frac{H_B}{u\mathcal{E}} \sum_{i=1}^n S_i \quad 3.64$$

Sabendo-se que S_i é dado pela Equação 3.62 e integrando a Equação 3.64 com a condição de contorno inicial:

$$m(h = H_B, t = 0) = 0 \quad 3.65$$

Então tem-se a equação da curva de extração para cada grupo de compostos:

$$m(h = H_B, t) = \frac{X_{0i} m_t}{\exp(b_i t_{mi})} \left\{ \frac{1 + \exp(b_i t_{mi})}{1 + \exp[b_i (t_{mi} - t)]} - 1 \right\} \quad 3.66$$

Onde:

b_i e t_{mi} são parâmetros ajustáveis;

A_i pode ser calculado em função do valor de X_0 ;

X_0 é a fração de soluto total disponível (dado experimental)

Utilizando dados de composição do óleo de pimenta-do-reino, Martínez et al (2001) modelaram o processo considerando o óleo como uma mistura de quatro grupos de compostos (monoterpenos, monoterpénos oxigenados, sesquiterpenos e sesquiterpenos oxigenados), e obtiveram bons ajustes para as curvas de extração. O modelo logístico também foi aplicado com sucesso por Martínez et al (2003) a dados de extração de oleoresina de gengibre, tratando novamente o extrato como uma mistura de quatro grupos de compostos.

4 MATERIAL E MÉTODOS

O estudo da obtenção de antocianinas via extração com fluido supercrítico e extração com líquido pressurizado a partir do resíduo de geléia de jabuticaba foi realizado conforme diagrama de fluxo de atividades realizadas descrito na Figura 4.1.

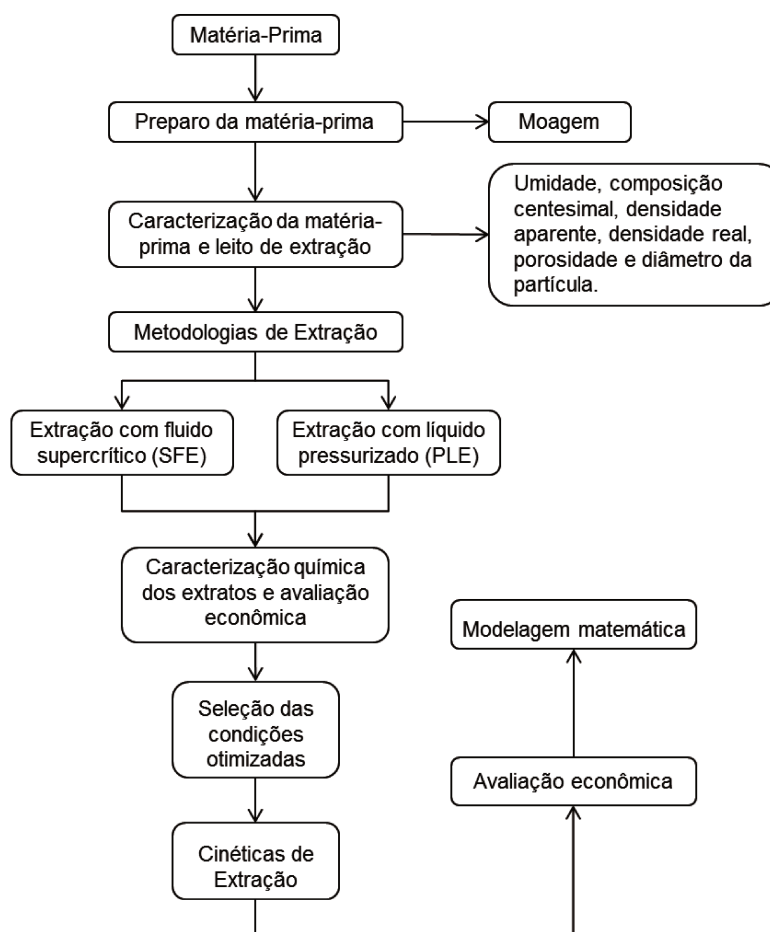


Figura 4.1 - Diagrama de fluxo das atividades realizadas no presente trabalho.

4.1 MATÉRIA-PRIMA

A matéria-prima estudada neste trabalho consiste no resíduo do processo produtivo de geléia de jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*) provido pela Fazenda Santa Maria (Campinas, São Paulo, Brasil). A seleção da matéria-prima levou em consideração sua importância social, disponibilidade, demanda atual, viabilidade econômica, ecológica e potencial rendimento dos compostos de interesse, objetivando uma matriz vegetal rica em antocianinas e em propriedades

funcionais de forma a proporcionar alto valor agregado ao sub-produto obtido. As amostras, ao serem recebidas no LASEFI, foram acondicionadas em sacos plásticos de polietileno e armazenadas em freezer doméstico (Metalfrio, DA420, São Paulo, São Paulo) a -18°C .

4.2 PREPARO E CARACTERIZAÇÃO DA MATÉRIA-PRIMA

4.2.1 Moagem

A matéria-prima úmida congelada foi moída em moinho de hastes (Tecnal, TE631, Piracicaba, Brasil). A moagem foi realizada em bateladas de 0,05 kg com um tempo médio de 60 segundos cada.

4.2.2 Determinação do Diâmetro Médio da Partícula

A distribuição do tamanho das partículas foi determinada em um aparelho com difração a laser (Laser Scattering Spectrometer Mastersizer S, modelo MAM 5005, Malvern Instruments Ltd., Malvern, Reino Unido), utilizando água destilada como líquido dispersor. Um ultrassom acoplado ao equipamento foi utilizado para aumentar a dispersibilidade da amostra. O diâmetro médio das partículas foi expresso como d_{43} (diâmetro médio de De Brouckere), que indica o ponto central em torno do qual gira a frequência de volume da distribuição calculado de acordo com Equação 4.1. Onde d é o diâmetro das partículas e n é o número de partículas.

$$d_{43} = \frac{\sum_{i=1}^n n_i d_i^4}{\sum_{i=1}^n n_i d_i^3} \quad 4.1$$

4.2.3 Densidade Aparente do Leito, Densidade Real da Partícula e Porosidade do Leito

A densidade aparente do leito (ρ_a) foi calculada dividindo-se a massa de matéria-prima utilizada para empacotar o leito pelo volume do leito no extrator conforme Equação 4.2:

$$\rho_a = \frac{F}{V} \quad 4.2$$

Onde ρ_a é a densidade aparente do leito (kg/m^3), F é a massa de matéria-prima alimentada na célula de extração (kg), e V é o volume interno do extrator ocupado pela matéria-prima (m^3). A determinação da densidade aparente foi obtida através da média de 10 replicatas.

A densidade real das partículas (ρ_r) foi determinada por picnometria com gás hélio na Central Analítica do Instituto de Química da Unicamp utilizando densímetro (Micrometrics, modelo Multivolume Pycnometer 1305, Norcross, EUA), uma balança analítica (QUIMIS, modelo AS 210 com precisão de $\pm 0,0001\text{g}$) e um pesa filtro. Todos os ensaios foram realizados em 10 replicatas. A porosidade do leito com as partículas (ε) foi determinada através da densidade aparente e da densidade real das partículas segundo Equação 4.3.

$$\varepsilon = 1 - \frac{\rho_a}{\rho_r} \quad 4.3$$

4.2.4 Umidade

Pesaram-se 5 g de amostra em um cadinho previamente tarado. Posteriormente, o cadinho juntamente com a amostra foi colocado em estufa (estufa de secagem, modelo TE 395-1, Tecnal, São Paulo, São Paulo) à 105°C e teve sua massa mensurada até valor constante (AOAC, 1997; método 931.04).

4.2.5 Análise da composição centesimal

A determinação do resíduo mineral fixo (cinzas) foi realizada pela incineração em mufla (tipo Microprocessado, modelo F1-DM, São Paulo, São Paulo) à 550°C (AOAC, 1997; método 972.15). As proteínas foram determinadas pelo método de micro-Kjeldahl, utilizando fator de 6,25 para conversão do nitrogênio em proteína (AOAC, 1997; método 970.22). Os lipídios totais foram determinados com extração da fração etérea por fluxo intermitente, utilizando éter de petróleo como solvente sob refluxo em aparelho de Soxhlet (AOAC, 1997; método 963.15). O teor de fibras totais foi realizado através do método AOAC (1997). Os carboidratos foram determinados por diferença. O valor energético total (VET) foi calculado considerando-se os fatores de conversão de 4 kcal/g de proteína, 4 kcal/g de carboidrato e 9 kcal/g de lipídio, conforme Kalil (1975) e Passmore et al. (1975).

4.3 EXTRAÇÃO COM LÍQUIDO PRESSURIZADO

Os experimentos de extração com líquido pressurizado (PLE) foram realizados na unidade de extração ARADIME (veja Item 4.3.1); foi utilizada uma célula de 6,57 cm³ segundo metodologia apresentada por Santos (2011) utilizando etanol, isopropanol e água como solventes. Os ensaios de extração foram realizados a pressão constante de 10,34 MPa e seis diferentes temperaturas (40, 60, 80, 100, 120 e 140 °C). Os tempos de extração estática (t_E) e dinâmica (t_D), a vazão do solvente (Q_{solvente}), e a razão (S/F) entre a massa de CO₂ (S) e a massa de matéria-prima (F) alimentada na célula foram mantidos constantes, as quais foram fixadas de acordo com condições operacionais previamente estudadas e reportadas na literatura (SANTOS, VEGGI e MEIRELES, 2012). Todos os ensaios foram realizados em duplicata. Os parâmetros utilizados nas extrações estão apresentados na Tabela 4.1.

Tabela 4.1 - Parâmetros operacionais adotados para os ensaios de extração com líquido pressurizado utilizando etanol, isopropanol e água como solventes.

Parâmetros						
S/F (kg solvente/kg)	5					
Q_{solvente} (kg/s)	$1,25 \times 10^{-5}$					
F (g)	4,5					
Temperatura (°C)	40	60	80	100	120	140
Pressão (MPa):	10,34					
t_E (min)	15					
t_D (min)	30					

4.3.1 Unidade de extração ARADIME®

A Figura 4.2 apresenta o diagrama do equipamento de extração com líquido pressurizado ARADIME®. O equipamento consiste de um banho termostático (Marconi, MA-184, Piracicaba, Brasil), bomba de dióxido de carbono (Maximator GmbH, PP 111, Zorge, Alemanha), bomba de alta pressão para solvente tipo HPLC (Thermoseparation Products, Model ConstaMetric 3200 P/F, Fremon, EUA) e célula de extração de aço inoxidável (6,57 cm³, Thar Designs, Pittsburg, EUA) contendo filtro metálico na entrada e saída da célula.

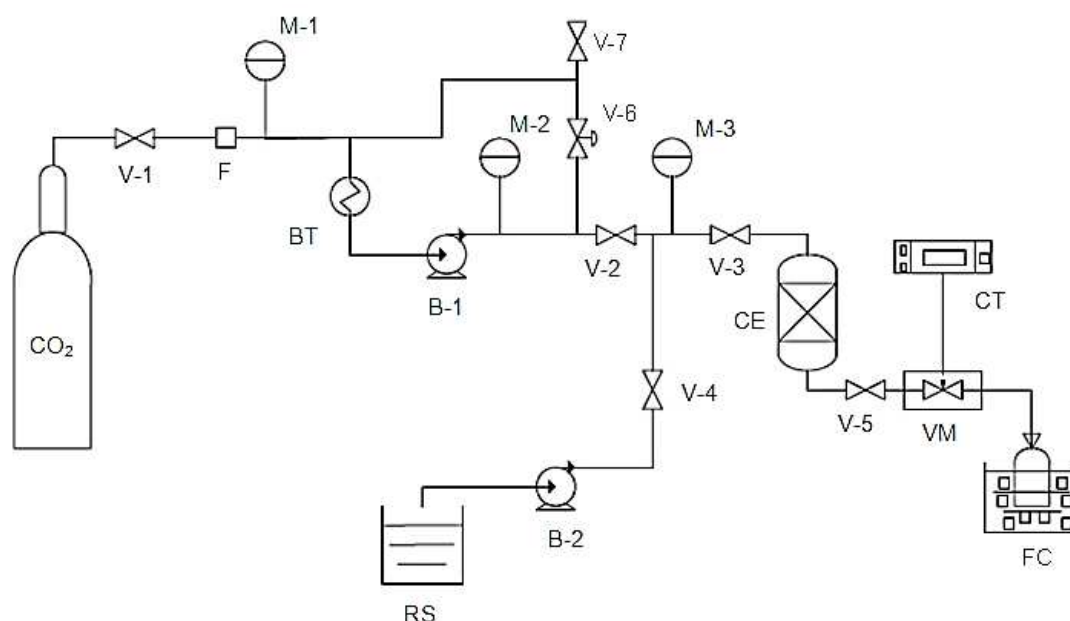


Figura 4.2 - Diagrama esquemático do processo de extração com líquido pressurizado na unidade de extração ARADIME. CO₂ - cilindro de CO₂; F - filtro de CO₂; M-1, 2, 3 - Manômetros; V-1, 2, 3, 4, 5, 7 - Válvulas; BT - Banho termostático; B-1 - Bomba de CO₂; V-6 - Regulador de pressão (back pressure); B-2 - Bomba tipo HPLC; RS - Reservatório do solvente; CE - Célula de extração; VM - Válvula micrométrica; CT - Controlador de temperatura; FC - Frasco coletor em banho de gelo (SANTOS, 2011).

4.3.2 Procedimento operacional

O procedimento operacional de extração com líquido pressurizado foi padrão para todas as condições utilizadas:

- Inserir a célula de extração (CE) contendo a matéria-prima no sistema de aquecimento desligado (CT);
- Conectar a tubulação de saída a um frasco de vidro coletor de 50 cm³ imerso em banho de gelo (FC);
- Verificar se as válvulas (V-1, 2, 3, 4, 5, e 7) e micrométrica (VM) estão fechadas;
- Ligar a bomba tipo HPLC (B-2) e programá-la para operar à pressão requerida do processo;
- Quando a pressão do líquido for atingida (controle por M-3), abrir as válvulas (V-3 e V-4) para pressurizar a célula extratora (CE);

- f) Ligar o controlador do sistema de aquecimento (CT) da célula de extração e programá-lo para operar à temperatura requerida do processo;
- g) Quando a pressão e temperatura do sistema estiverem estabilizadas, cronometrar o tempo estipulado para o período estático;
- h) Após o tempo do período estático, abrir cuidadosamente a válvula de saída (V-5) e micrométrica (VM) até que a vazão desejada seja alcançada;
- i) Após o tempo pré-estabelecido de extração, desligar a bomba tipo HPLC (B-2) e o controlador de aquecimento (CT) e fechar a válvula V-4;
- j) Para eliminar o extrato residual-solvente que ficou na célula extratora, purgar CO₂ através da abertura das válvulas: do cilindro (V-1 e V-2) durante 2 min.

4.3.3 Preparo do leito de extração

O preparo do leito seguiu um procedimento padrão para todas as extrações com líquido pressurizado. Com uma das extremidades da célula de extração fechada, depositou-se uma camada de lã de vidro em sua base cilíndrica (Figura 4.3). A matéria-prima foi empacotada em camisa de *nylon* de mesmo volume interno da célula com o auxílio de um bastão de aço inoxidável. Posteriormente, a camisa de *nylon* foi fechada com barbante e depositada dentro da célula de extração sendo adicionada mais uma camada de lã de vidro em sua outra base cilíndrica, fechando-se a célula em seguida. Cerca de 4,5 g de matéria-prima foram utilizadas para o estudo de extração com líquido pressurizado. A célula de extração foi então conectada a tubulação da unidade de extração.

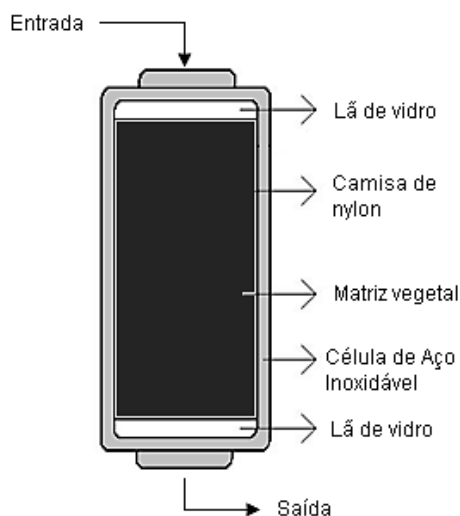


Figura 4.3 - Empacotamento do leito da célula de 6,57 cm³.

A densidade aparente do leito foi mantida constante. A célula de extração de 6,57 cm³ foi totalmente preenchida com matéria-prima totalizando cerca de 4,5 g de resíduo de geléia de jabuticaba. A lã de vidro e a camisa de *nylon* serviram como filtros para evitar a passagem de partículas que pudessem causar obstrução na tubulação.

4.4 EXTRAÇÃO COM FLUIDO SUPERCRÍTICO

Os experimentos de extração supercrítica foram realizados em unidade SFE-I utilizando célula de extração de 415 cm³ (dimensões: 3,4 cm de diâmetro interno e 37,5 cm de altura interna). Os ensaios SFE foram realizados em duas temperaturas distintas (50 e 60 °C), cinco pressões (10, 15, 20, 25 e 30 MPa) utilizando CO₂ adicionado de etanol, isopropanol ou água como co-solvente (80:20, m/m). O tempo de extração estática (t_E) e dinâmica (t_D), a vazão de CO₂ (Q_{CO_2}) e de co-solvente ($Q_{co-solvente}$) e a razão (S/F) entre a massa de CO₂ (S) e a massa de matéria-prima (F) alimentada na célula foram mantidos constantes. As condições operacionais fixadas foram selecionadas de acordo com estudos prévios de extração supercrítica de compostos fenólicos já publicados na literatura (PEREIRA, 2005; ADIL et al., 2007; GHAFORA, PARKA e CHOI, 20010). Os parâmetros utilizados nas extrações estão apresentados na Tabela 4.2:

Tabela 4.2 - Parâmetros operacionais adotados para os ensaios de extração com fluido supercrítico utilizando etanol, isopropanol e água como co-solventes.

Parâmetros					
S/F (kg /kg)	40				
Q_{CO_2} (kg/s)	$2,53 \times 10^{-4}$				
$Q_{co-solvente}$ (kg/s)	$6,32 \times 10^{-5}$				
m_{MP} (g)	28				
T (°C)	50	60			
P (MPa):	10	15	20	25	30
t_E (min)	15				
t_D (min)	60				

4.4.1 Unidade de extração supercrítica

A unidade de extração SFE - I (Figura 4.4) consiste em duas bombas de alta pressão para solvente (Thermo Separation Products, modelo 2000, Flórida, EUA), dois banhos termostáticos

programáveis (PolyScience, modelo 9510, Niles, EUA e Marconi, modelo MA-184, Piracicaba, SP) responsáveis pela manutenção da temperatura do extrator de aço inox e dos cabeçotes da bomba de CO₂, respectivamente, um totalizador de vazão (LAO, modelo G0,6, $\pm 0,001 \text{ m}^3$, São Paulo, SP), termopares e três manômetros (Record, 50 MPa $\pm 0,5$, São Paulo, SP). Esta unidade pode ser operada com ou sem o uso de co-solvente.

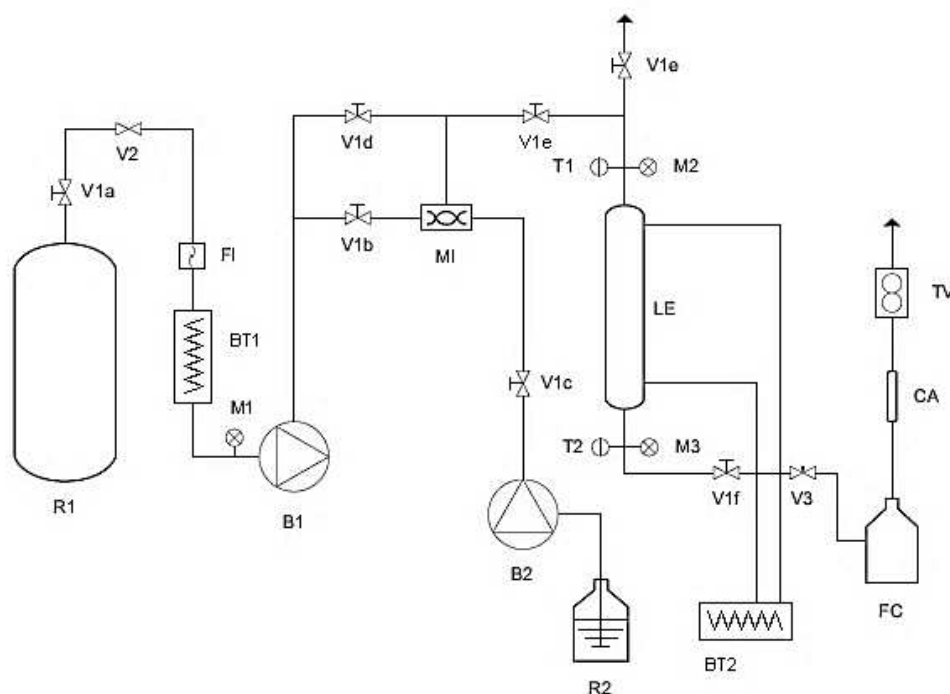


Figura 4.4 - SFE - I: (B1) bomba de CO₂; (B2) bomba de co-solvente; (CA) coluna de adsorção; (FC) frasco de coleta; (FI) filtro; (LE) leito de extração; (M) manômetros; (MI) misturador; (R1) reservatório de CO₂; (R2) reservatório de co-solvente; (BT-1) Banho termostático de resfriamento; (BT-2) Banho termostático de aquecimento; (T) termopares; (TV) totalizador de vazão; (V1) válvula de bloqueio; (V2) válvula de retenção; (V3) válvula micrométrica (adaptado de PRADO, 2010).

4.4.2 Procedimento operacional

- Antes da extração verificou-se que todas as válvulas estivessem fechadas e ligou-se o banho termostático (BT1) à -10 °C;
- A amostra previamente empacotada em célula de *nylon* foi inserida no leito de extração (LE); no caso de ser necessário o uso da coluna de teflon e/ou esferas de vidro para completar o volume do leito, estes foram inseridos na extremidade inferior do leito, na entrada de CO₂;

- c) Abriam-se as válvulas V1a e V2 do cilindro R1 e leu-se a pressão no manômetro M1;
- d) Abriu-se a válvula V1d, V1c e V1e para a pressurização do sistema com CO₂ e co-solvente;
- e) Atingida a pressão de trabalho a mesma foi monitorada através do manômetro M2;
- f) O leito de extração (LE) encamisado foi aquecido através de banho termostático (BT2) até a temperatura de trabalho a qual foi monitorada pelos termopares T1 e T2;
- g) Após período pré-estabelecido de modo estático, abriam-se as válvulas de saída V1f e V3 para que tivesse início o modo dinâmico de extração;
- h) O extrato foi recolhido em frasco de vidro de 50 cm³ (FC) imerso em banho de gelo conectado a coluna de adsorção (CA) (opcional) e totalizador de vazão (TV) no qual foi monitorada a vazão de CO₂;
- i) Após o fim da extração, fecharam-se as válvulas V1b, V1c e V1e e desligaram-se as bombas;
- j) Fecharam-se as válvulas V1a e V2 do cilindro;
- k) Aguardou-se a despressurização do sistema;
- l) Desligaram-se os banhos termostáticos;
- m) Abriu-se o extrator LE retirando a célula;

A vazão de CO₂ foi monitorada com o auxílio do totalímetro que mede o volume de CO₂ (m³) nas condições ambientes de temperatura e pressão. Estas condições foram registradas com termômetro de mercúrio (PolyScience, EUA) e manômetro (modelo 104, Veb Feingertebau 9362 Drebach/ERZC GDR, Alemanha), e serviram como dados de entrada no programa de dados de referência padrão do NIST - *National Institute of Standards and Technology* (2005), base de dados nº 69 publicada em junho de 2005 (<http://webbook.nist.gov/chemistry/fluid>), que disponibiliza as propriedades termofísicas de sistemas fluidos, onde se obteve a densidade do CO₂ nas condições ambientes. Com a densidade, a vazão volumétrica foi convertida em vazão mássica de CO₂ (kg/s), sendo possível determinar a massa de CO₂ utilizada em cada experimento de extração.

4.4.3 Preparo do leito de extração

O preparo do leito seguiu um procedimento padrão para todas as extrações supercríticas. Uma coluna de teflon perfurada equivalente a aproximadamente 70 % do volume da célula de extração (415 cm³) foi inserida na base do mesmo a fim de diminuir o seu volume útil para 124,5 cm³, diminuindo o tempo de pressurização e a perda de carga do sistema. Cerca de 28 g de matéria-prima foi empacotada com o auxílio de um bastão de aço inoxidável em camisa de *nylon* de mesmas dimensões do leito de extração disponível ocupando um volume de leito de 41,5 cm³ e o espaço

livre restante (cerca de 2/3 do volume da camisa de *nylon*) foi preenchido com esferas de vidro. Posteriormente, a camisa de *nylon* foi fechada e inserida dentro da célula de extração fechando-se a célula em seguida (Figura 4.5).

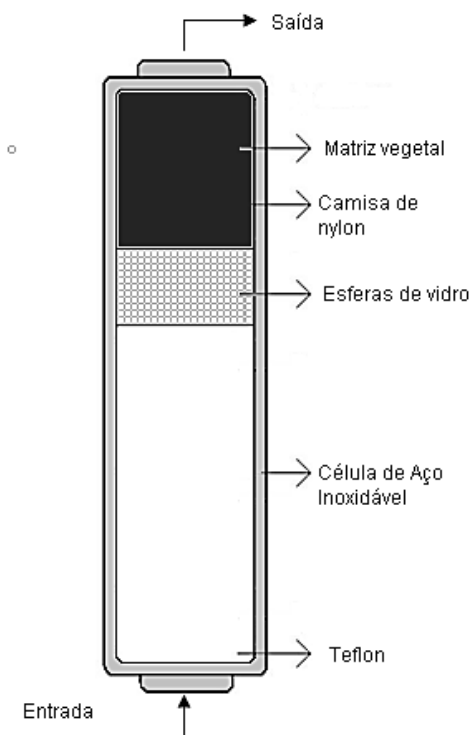


Figura 4.5 - Empacotamento do leito na célula de extração de 415 cm³ de volume.

4.5 DETERMINAÇÃO DO RENDIMENTO DE EXTRAÇÃO

O percentual do rendimento de extração obtido a uma determinada razão S/F ($X_{0,S/F}$) foi calculado relacionando a massa total de extrato ($M_{extrato}$) e a massa de alimentação de matéria-prima (F) em base seca, de acordo com a Equação 4.4:

$$X_{0,S/F} = \left(\frac{M_{extrato}}{F} \right) \times 100 \quad 4.4$$

O rendimento global foi dado como a soma entre o rendimento obtido no frasco de coleta, na coluna de adsorção e no frasco de limpeza com etanol após evaporação do solvente. Os resultados são apresentados como médias aritméticas de experimentos realizados em duplicata. Segundo Pereira (2005), se a razão S/F = 19 for mantida constante para cada experimento de rendimento de extração, o X_0 é suficiente para determinar a extensão da influência de temperatura e

pressão sobre o rendimento. Mesmo que a extração com $S/F = 19$ não possa ser considerada exaustiva, ela é um parâmetro de comparação para diferentes temperaturas e pressões, sem a necessidade de se realizar curvas completas de extração para cada condição. Portanto, no presente trabalho, as metodologias de extração tanto com líquido pressurizado como com fluido supercrítico tiveram seus valores de tempo de extração e razão S/F fixados, uma vez que o objetivo aqui é avaliar a influência da temperatura e da pressão no rendimento de extração e composição química do extrato. Na etapa de determinação das curvas globais de extração será possível avaliar e otimizar os parâmetros tempo de extração e a razão S/F para que se atinja o melhor rendimento e menor custo de manufatura.

Após os procedimentos de extração com líquido pressurizado e extração supercrítica os respectivos solventes e co-solventes utilizados foram removidos pelos seguintes procedimentos: (i) os alcoóis etílico e isopropílico foram removidos dos frascos de coleta de extrato utilizando rota evaporador (Laborota 4001 WB, Heidolph e CH-9230, Buchi, Flawil, Suíça) acoplado a bomba de vácuo (Rotavac Control, Heidolph, Instruments, GMBH, Viertrieb, Alemanha) à temperatura de 40 °C e à pressão de 11 kPa; (ii) a remoção de água dos extratos aquosos foi realizada utilizando liofilizador (Liotop L101, Liobras, São Carlos, SP). As massas de extratos contidas nos frascos foram medidas utilizando balança analítica (Sartorius analytic A200S, $\pm 0,0001$, Sartorius GMBH Gottingen, Alemanha). Após pesagem os extratos secos foram armazenados em frascos de vidro em freezer (Metalfrio, DA420, São Paulo, São Paulo) à -18 °C. Para os experimentos com extração supercrítica utilizou-se colunas de vidro (8×10^{-3} m de diâmetro e 0,1 m de comprimento) empacotadas com adsorvente Porapak-Q de mesh 80 a 100 (Supelco, área superficial de 0,5-0,6 m²/kg, densidade 340 kg/m³, suportando temperaturas de até 250 °C, Milford, EUA) com a finalidade de capturar os compostos voláteis que poderiam ser arrastados na corrente de CO₂.

4.6 DETERMINAÇÃO DAS CURVAS GLOBAIS DE EXTRAÇÃO

Para os experimentos cinéticos foram adotados os procedimentos operacionais das unidades de extração com líquido pressurizado e com fluido supercrítico. Contudo, utilizou-se a unidade SFE – I para ambas as metodologias de extração com fluido supercrítico (SFE) e com líquido pressurizado (PLE). Durante os experimentos cinéticos em períodos predeterminados de extração, os frascos de coleta de extratos foram substituídos por frascos limpos e previamente tarados para a determinação da massa de extrato coletada por tempo até o fim da extração. Por fim, as curvas globais de extração (OEC – *overall extraction curves*) foram apresentadas graficamente relacionando o rendimento global de extração em função do tempo e da razão S/F a fim de se determinar os parâmetros cinéticos, t_{CER} (duração do período de taxa constante de extração, (min.);

M_{CER} (taxa de transferência de massa do período CER, (kg/s); Y_{CER} (razão mássica de extrato na saída do leito, (g de extrato/100g de solvente); e R_{CER} (rendimento do período da taxa constante de extração, (%).

4.6.1 Cálculo dos parâmetros cinéticos

Os procedimentos PROC REG e PROC NLIN do *software SAS® for Windows* versão 9.2 foram utilizados para ajustar os dados experimentais da cinética adotando metodologia de Rodrigues et al. (2002). Inicialmente, foi utilizado o procedimento PROC REG para estimar os valores dos coeficientes lineares, que no programa são nomeados como Intercept (b0), tmin (b1), AL1 (b2), e AL2 (b3). Posteriormente, utilizou-se estes dados como valores de entrada para o procedimento PROC NLIN. Os valores iniciais dos parâmetros C1 e C2, que no programa são designados knot1 e knot2, respectivamente, foram estimados visualmente do primeiro ajuste da cinética de extração feito pelo procedimento PROC REG. Finalmente, foram obtidos os valores do modelo ajustado, onde C1 (knot1) e C2 (knot2) são os parâmetros t_{CER} e t_{FER} , respectivamente. Os dados ajustados fornecidos pelo aplicativo foram plotados em termos da razão entre a massa de extrato e a massa inicial de alimentação versus a razão S/F. O procedimento pode ser visualizado na Figura 4.6.

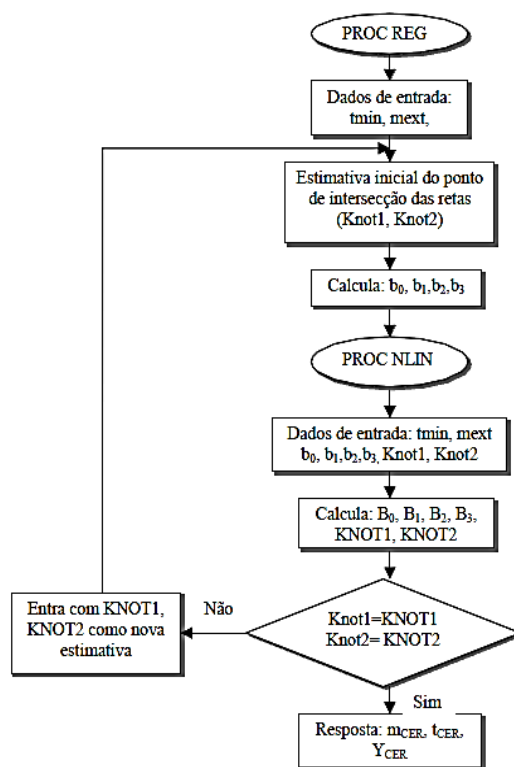


Figura 4.6 - Procedimento para a determinação dos parâmetros cinéticos

4.6.2 Cálculo da Densidade do Solvente

Os dados da densidade do CO₂, etanol, isopropanol e água foram obtidos através da literatura (Angus et al, 1976; NIST, 2012). Os dados de densidade de mistura foram determinados através do programa VLMU (Sandler, 1989), utilizando a equação de estado cúbica de Peng-Robinson, considerando uma mistura pseudo-binária para o caso do sistema SFE formada pelo CO₂ e cossolvente com os parâmetros de interação binária nulos.

4.6.3 Cálculo da Vazão do Solvente

A vazão do dióxido de carbono na saída do extrator foi monitorada com o auxílio de um totalizador de escoamento ($\pm 0,02$ L, LAO, modelo G-1, SP) que mede o volume de CO₂ que passa pelo sistema nas condições ambientes de temperatura e pressão. A vazão volumétrica de CO₂ foi medida periodicamente em intervalos de tempo suficientes para passar no interior do leito de extração um litro de CO₂. Com o valor da densidade do gás, a vazão volumétrica foi convertida em vazão mássica. A vazão volumétrica de etanol, isopropanol e água foi monitorada pela bomba de HPLC (Thermoseparation Products, Model ConstaMetric 3200 P/F, Fremoni, EUA) e sua vazão volumétrica foi convertida em vazão mássica através do valor de densidade dos líquidos nas condições de temperatura e pressão cujos ensaios foram realizados.

4.7 COMPOSIÇÃO QUÍMICA DOS EXTRATOS

4.7.1 Determinação dos Compostos Fenólicos Totais

Para a determinação do teor de fenólicos totais (TPC – *total phenolic content*) dos extratos utilizou-se o método do reagente Folin-Ciocalteu descrito por Singleton e Rossi (1965), com algumas adequações para extratos vegetais sugeridas por Singleton et al (1999).

Material:

Reagente fenólico de Folin e Ciocalteu (Lote 23690, Diadema, São Paulo); solução saturada de carbonato de sódio anidro PA ACS (Na₂CO₃) (99,5%, Lote 16.999, Ecibra, Santo Amaro, São Paulo); etanol ABS ACS (99,5%, Lote 17.439, Ecibra, Santo Amaro, São Paulo); água destilada em destilador (Marconi, modelo MA 078, Piracicaba, São Paulo); padrão de ácido gálico (Lote 023K01171, SIGMA, St Louis, MO, USA); balança analítica (Sartorius analytic A200S, $\pm 0,0001$, Sartorius GMBH Gottingen, Alemanha); balança semi-analítica (Marte, série AS2000, $\pm 0,01$ g,

Artlab, São Paulo, São Paulo); banho térmico (Marconi modelo MA 127/BO, Piracicaba, SP); e espectrofotômetro UV-vis (modelo U-3010, HITACHI, Tóquio, Japão).

Procedimento:

Inicialmente preparou-se uma solução estoque em balão volumétrico de 100 cm³ dissolvendo 0,5 g de ácido gálico em 10 cm³ de etanol e depois completou-se o volume com água destilada, esta solução tem validade máxima de 2 dias se conservada a menos de 5 °C. Em seguida, foram preparadas as soluções de calibração, (necessárias para a construção da curva padrão) em balões volumétricos de 10 cm³, diluindo com água destilada frações da solução estoque para conseguir concentrações de ácido gálico iguais a 0,05 mg/cm³, 0,10 mg/cm³, 0,15 mg/cm³, 0,25 mg/cm³ e 0,50 mg/cm³, respectivamente. As soluções de amostra foram preparadas dissolvendo 10 mg dos extratos em 1 cm³ de etanol e em seguida diluindo a mistura com água destilada até o volume final de 10 cm³. Também foi feita uma diluição 1:10 do reagente Folin-Ciocalteu em água destilada. O carbonato de sódio anidro foi diluído com água destilada até uma concentração final de 75 mg/cm³. A solução branco utilizada foi água destilada. Previamente ao início das reações, novas diluições (1:10) das soluções de calibração e de amostra foram feitas. As reações foram conduzidas misturando 2 cm³ destas novas diluições (calibração, amostra ou branco) com 10 cm³ da solução do reagente Folin-Ciocalteu. Transcorrido 1 min. e antes de 8 min. adicionaram-se 8 cm³ da solução de carbonato de sódio. Deixou-se em banho térmico a 50 °C por 5 min. e imediatamente depois a absorbância foi lida em espectrofotômetro UV-vis utilizando comprimento de onda de 760 nm. O conteúdo de fenóis totais nos extratos foi expresso em equivalentes de ácido gálico (GAE) utilizando a equação da reta resultante da regressão linear da curva padrão para a determinação da composição.

4.7.2 Determinação dos Flavonóides Totais

A determinação do teor de flavonóides totais (TFC – *total flavonoid content*) foi realizada através do método colorimétrico desenvolvido por Zhishen et al (1999).

Material:

Nitrito de sódio PA (NaNO₂) (99,9%, Lote 16.999, Ecibra, Santo Amaro, São Paulo); cloreto de alumínio PA (AlCl₃) (99,9%, Lote 17.439, Ecibra, Santo Amaro, São Paulo); hidróxido de sódio PA (NaOH) (99,9%, Lote 17.221, Ecibra, Santo Amaro, São Paulo); água destilada em destilador (Marconi, modelo MA 078, Piracicaba, São Paulo); padrão de quercetina (≥ 98%, Sigma-Aldrich, lot 034K3482, Milwaukee, EUA); balança analítica (Sartorius analytic A200S, ± 0,0001, Sartorius GMBH Gottingen, Alemanha); e espectrofotômetro UV-vis (modelo U-3010, HITACHI, Tóquio, Japão).

Procedimento:

Uma alíquota de 1 cm³ da amostra diluída e solução padrão foi adicionada a um balão volumétrico de 10 cm³ contendo 4 cm³ de água destilada. No tempo zero, 0,3 cm³ da solução NaNO₂ 5% foi adicionado ao balão volumétrico. Após 5 minutos, 0,3 cm³ da solução AlCl₃ 10% foi adicionada. Após 6 minutos, 2 cm³ da solução NaOH 1M foi adicionado a mistura. Imediatamente aferiu-se o balão com a adição de 2,4 cm³ de água destilada e a solução foi vigorosamente misturada. A absorbância da mistura foi determinada a 510 nm em espectrofotômetro. O teor de flavonóides foi expresso como equivalente de rutina. As amostras foram analisadas em triplicata.

4.7.3 Determinação das Antocianinas Monoméricas Totais

A determinação das antocianinas monoméricas totais (TMA – *total monomeric anthocyanins*) foi efetuada em triplicata pelo método de pH diferencial, conforme descrito por Giusti e Wrolstad (2001).

Material:

Ácido clorídrico (HCl) (> 99,5%, Ecibra, Santo Amaro, Brasil); cloreto de potássio (KCl) (P.A.-ACS, Synth, lote 116500, Diadema, São Paulo, Brasil); acetato de sódio (NaC₂H₃O₂) (P.A.-ACS, Ecibra, lote 17714, Santo Amaro, São Paulo, Brasil); padrão cianidina-3-glicosídeo (> 99,9%, Extrasynthèse, lote 09011533, Genay, França); água destilada em destilador (Marconi, modelo MA 078, Piracicaba, São Paulo); balança analítica (Sartorius analytic A200S, ± 0,0001, Sartorius GMBH Gottingen, Alemanha); pHâmetro (Digimed, modelo DM-22, São Paulo, Brasil); espectrofotômetro UV-vis (modelo U-3010, HITACHI, Tóquio, Japão).

Procedimento:

Os extratos aquosos foram apropriadamente diluídos em duas soluções: cloreto de potássio 0,025 M a pH 1,0 e acetato de potássio 0,4 M a pH 4,5. O ajuste do pH das soluções foi realizado através da adição de ácido clorídrico e a medição do pH foi realizada utilizando-se pHâmetro. Após 15 min de repouso à temperatura ambiente (22 ± 2 °C), foram feitas as medidas de absorbância a 510 nm e 700 nm em espectrofotômetro no UV-visível. O teor dos pigmentos foi calculado considerando a absorvidade molar (ε) de 26900 L/cm.mol, massa molecular de 449,2 g/ mol da cianidina-3-glicosídeo e os resultados expressos como equivalentes de mg de cianidina-3-glicosídeo/ 100g de extrato, utilizando a Equação 4.5:

$$\text{TMA} \left(\frac{\text{mg}}{\text{L}} \right) = \frac{A \cdot \text{MM} \cdot \text{FD} \cdot 1000}{\epsilon \cdot l} \quad 4.5$$

Onde:

TMA (*total monomeric anthocyanins*) = Antocianinas monoméricas totais;

$$A = (A_{\lambda \text{ vis-max}} - A_{700})^{\text{pH } 1,0} - (A_{\lambda \text{ vis-max}} - A_{700})^{\text{pH } 4,5}$$

MM = massa molecular;

FD = fator de diluição;

ϵ = absorvidade molar

l = fator de correção de caminho óptico de 1 cm.

4.7.4 Atividade Antioxidante

A atividade antioxidante dos extratos foi determinada segundo os métodos DPPH e FRAP, descritos a seguir.

4.7.4.1 Método DPPH (1,1- difenil-2-picrilhidrazila)

A atividade antioxidante foi determinada utilizando o radical DPPH (radical 1,1- difenil-2-picrilhidrazila) segundo método colorimétrico descrito por Kordali et al. (2005) com modificações.

Material:

Radical 1,1- difenil-2-picrilhidrazila (Sigma Aldrich Co, Steinheim, Alemanha); etanol ABS ACS (> 99,5%, Lote 17.439, Ecibra, Santo Amaro, São Paulo); água destilada em destilador (Marconi, modelo MA 078, Piracicaba, São Paulo); balança analítica (Sartorius analytic A200S, $\pm 0,0001$, Sartorius GMBH Gottingen, Alemanha); espectrofotômetro UV-vis (modelo U-3010, Hitachi, Tóquio, Japão).

Procedimento:

Inicialmente uma solução de DPPH (394,3 g/mol) 60 μM foi preparada dissolvendo-se 2,4 mg de radical DPPH em álcool etílico em um balão volumétrico de 100 cm^3 . Em seguida a solução foi homogeneizada e transferida para um frasco de vidro âmbar para evitar degradação pela luz. A partir da solução inicial de DPPH em tubos de ensaio preparou-se uma solução padrão de DPPH nas concentrações de 10, 20, 30, 40, 50 e 60 μM . A partir dos extratos foram preparadas soluções na concentração de 1 mg/cm^3 . A partir desta solução inicial de extrato foram preparadas diluições de extrato em etanol em pelo menos três concentrações diferentes (0,20, 0,10 e 0,05 mg/cm^3). Então uma alíquota de 0,1 cm^3 de cada diluição do extrato foi transferida para tubos de ensaio e, em seguida, adicionou-se 3,9 cm^3 do radical DPPH (solução de DPPH 60 μM) e a mistura foi homogeneizada em agitador de tubos. Utilizou-se 0,1 cm^3 de etanol como solução controle em substituição as soluções de extrato. Utilizou-se álcool etílico puro como branco para calibrar o espectrofotômetro. Fazer a leitura imediatamente e após 30 min em espectrofotômetro UV-vis

(modelo U-3010, Hitachi, Tóquio, Japão) no comprimento de onda de 517 nm. As medidas de absorção foram obtidas em triplicata, e a concentração efetiva de extrato necessária para a redução de 50 % da concentração de DPPH (EC₅₀) foi determinada graficamente por regressão linear. O percentual de inibição de oxidação (%PI) foi determinado pela Equação 4.6:

$$PI(\%) = \left[\frac{Abs_{controle} - (Abs_{amostra} - Abs_{branco})}{Abs_{controle}} \right] \times 100 \quad 4.6$$

Onde:

$Abs_{controle}$ é a absorbância inicial da solução etanólica de DPPH;

$Abs_{amostra}$ é a absorbância da mistura reacional (DPPH. + amostra);

Abs_{branco} é a absorbância do etanol puro.

Por fim, a quantificação da capacidade antioxidante também foi expressa como μmol equivalente de Trolox (ET)/ g de material seco através da utilização de uma curva padrão de Trolox variando de 50 a 500 $\mu\text{mol/L}$. A capacidade antioxidante foi apresentada por meio da média $\pm$ desvio padrão de pelo menos três repetições. A utilização do ET visa facilitar a comparação entre as atividades antioxidantes obtidas pelos métodos DPPH e FRAP.

4.7.4.2 Método FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power)

A metodologia FRAP foi realizada de acordo com o método proposto por Benzie e Strain (1996).

Material

Reagente TPTZ (2,4,6-Tris(2-piridil)-s-triazina) (Sigma Aldrich, St. Louis, Mo, EUA), , ácido clorídrico (HCl) (Synth, Diadema, SP, Brasil), sulfato ferroso heptahidratado (Sigma Aldrich, St. Louis, Mo, EUA).

Procedimento

Para o preparo do reagente FRAP misturou-se 25 cm³ de tampão acetato 0,3 mol/L (pH 3,6), 2,5 cm³ de uma solução de TPTZ 10 mmol/L (preparada com HCl 40 mmol/L) e 2,5 cm³ de uma solução aquosa de cloreto férrico 20 mmol/L. As amostras foram diluídas em seus respectivos solventes na proporção necessária a leitura dentro da faixa linear em espectrofotômetro. Uma alíquota de 90 μL de cada extrato diluído foi transferida para tubos de ensaio, juntamente com 270 μL de água e 2,7 cm³ de do reagente FRAP recém preparado. Esta mistura foi homogeneizada e mantida em banho-maria a 37°C. Decorridos 30 minutos, foi realizada a leitura a 595 nm em

espectrofotômetro UV-vis (modelo U-3010, Hitachi, Tóquio, Japão). O reagente FRAP foi utilizado como branco para calibrar o espectrofotômetro. Para a quantificação da capacidade antioxidante foi construída uma curva padrão de Trolox variando de 50 a 500 $\mu\text{mol/L}$. A capacidade antioxidante foi apresentada por meio da média $\pm$ desvio padrão de pelo menos três repetições expressa em μmol equivalente de Trolox (ET)/g de material seco.

4.7.5 Determinação da Cor

A cor dos extratos foi determinada em espectrofotômetro de bancada ScanVis, marca Hunter Lab (Riston, Virginia, EUA), utilizando-se as coordenadas da escala CIELAB (L^* , a^* e b^*). Foi utilizado o módulo de calibração de Reflectância Especular Excluída (RSEX), com o iluminante D65 e um ângulo de observação de 10° . As medições de coloração foram expressas em termos da luminosidade L^* ($L^*=0$ preto e $L^*=100$ branco), e da cromaticidade definida por a^* (verde (-) e vermelho (+)) e b^* (amarelo (-) e azul (+)). Com os parâmetros L^* , a^* e b^* , foram calculadas as coordenadas cilíndricas C_{ab}^* (croma) e h_{ab} , (ângulo Hue), os quais definem a intensidade e tonalidade das amostras de acordo com as Equações 4.7 e 4.8, respectivamente. As medições de cor dos extratos foram feitas todas na concentração de $0,01 \text{ g/cm}^3$. As análises foram realizadas a temperatura ambiente e a amostragem realizada em triplicata.

$$C_{ab}^* = \sqrt{(a^*)^2 + (b^*)^2} \quad 4.7$$

$$h_{ab} = \arctan(b^* a^*) \quad 4.8$$

4.7.6 Purificação e Fracionamento das Antocianinas

Os extratos obtidos dos processos de extração com fluido supercrítico (SFE) e extração com líquido pressurizado (PLE) nas condições otimizadas foram inicialmente submetidos a uma etapa de purificação por extração em fase sólida (SPE – *solid-phase extraction*). A purificação de antocianinas em cartuchos de SPE promove a remoção de vários compostos interferentes como açúcares e ácidos orgânicos que estão presentes nos extratos brutos. Para a realização deste procedimento foram utilizados cartuchos de extração em fase sólida com C18 ligado a sílica como adsorvente (Applied Separations, 500 mg, C18/ 18%) e um processador manual SPE modelo Spe-ed Mate 12, (Applied Separations) com capacidade para 12 cartuchos. Na Figura 4.7 podem ser visualizados os materiais utilizados nesta etapa. O processo de purificação e fracionamento do

extrato em antocianinas e compostos fenólicos não-antociânicos foi realizado segundo método proposto por Rodriguez-Sanoa e Wrolstald (2002) com algumas modificações.

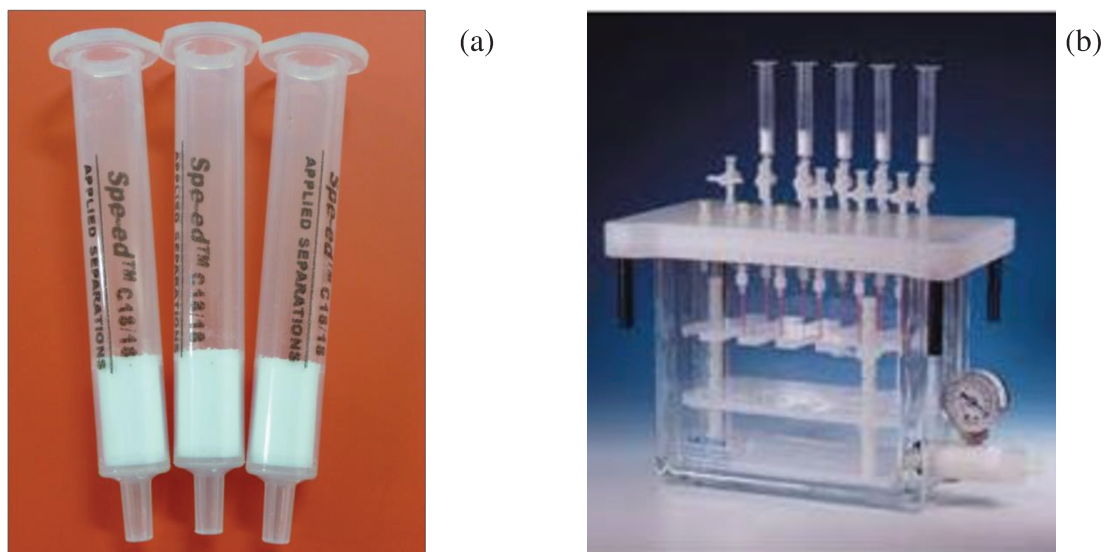


Figura 4.7 - Cartuchos SPE C18 (a) e processador manual SPE modelo Spe-ed Mate 12 (b).

A Figura 4.8 ilustra a etapa de purificação e fracionamento realizada. Inicialmente o cartucho foi ativado pela passagem de 2 volumes (cerca de $2,5 \text{ cm}^3$ cada) de acetato de etila e metanol e em seguida por 3 volumes (cerca de $2,5 \text{ cm}^3$ cada) de água acidificada com 0,01% HCl. Um volume conhecido ($200 \mu\text{l}$) do extrato previamente filtrado em filtro de seringa com membrana de PVDF - $0,45 \mu\text{m}$ foi carregado nos cartuchos. Os cartuchos foram lavados com 6 cm^3 de solução a 0,01% (m/m) de HCl para remover os compostos não adsorvidos (açúcares, ácidos orgânicos, etc.) e em seguida, foram secos pela passagem de gás nitrogênio durante 10 min. A etapa de secagem em nitrogênio é um ponto crítico da análise, pois se houver água no cartucho o processo de fracionamento é prejudicado. Após a secagem, 40 cm^3 de acetato de etila foram adicionados aos cartuchos para eluir a fração de compostos fenólicos não-antociânicos sendo coletados em balão de fundo redondo de 200 cm^3 . As antocianinas aprisionadas na sílica-C18 foram eluídas com 10 cm^3 de metanol acidificado com 0,01% HCl (m/m) e coletadas em balão de fundo redondo de 50 cm^3 . O acetato de etila e o metanol foram removidos a 20 e 40°C , respectivamente, em rotaevaporador sob baixa pressão. Cada fração foi redissolvida com 5 cm^3 de água ultrapura e estocada a -18°C até realização das análises em UPLC-ESI-MS. A etapa de purificação foi repetida três vezes para cada extrato obtido.

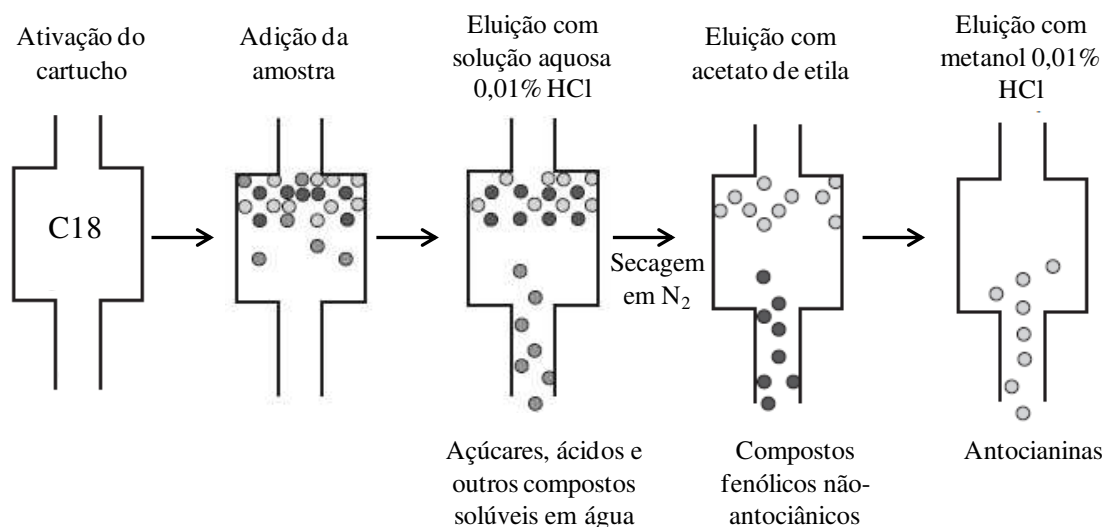


Figura 4.8 - Representação esquemática do processo de purificação e fracionamento dos compostos fenólicos em antocianinas e compostos fenólicos não-antociânicos em C18. Os componentes da amostra são representados por círculos em diferentes tons de cinza (Adaptação de Rodriguez-Sanoa e Wrolstald, 2002).

4.7.7 Cromatografia Líquida de Ultra Eficiência Acoplada a Espectrômetro de Massas com Ionização por Eletrospray (UPLC-ESI-MS)

Para a análise das frações de antocianinas e dos compostos fenólicos não-antociânicos foi utilizado o sistema de cromatografia líquida de ultra eficiência ACQUITY UPLC[®] acoplado a um espectrômetro de massas quadrupolo (Waters Corporation, Massachusetts, EUA) localizado nas dependências do laboratório EXTRAE/FEA/UNICAMP. O espectrômetro de massas opera com fonte de ionização ZSpray[™]/eletrospray no modo positivo (ESI⁺) ou negativo (ESI⁻). O equipamento é composto pelos seguintes módulos: bomba binária (ACQ-BSM versão 1.50.1521), detector de arranjo de diodos (ACQ-PDA versão 1.50.1121), injetor automático (ACQ-SM versão 1.50.2736), compartimento para a coluna e detector quadrupolo (SQ Detector). Os componentes do equipamento utilizado podem ser visualizados na Figura 4.9. Para o controle do instrumento e o processamento dos dados foi utilizado o MassLynx[™] Software (versão 4.1, Waters). Foi utilizada a coluna analítica ACQUITY UPLC[®] BEH C18, 1,7 μ m, 2,1 $\times$ 50 mm (Waters, Irlanda). A temperatura da coluna e do injetor automático foram mantidos a 30 e 10 °C, respectivamente. As duas frações obtidas da SPE (antocianinas e compostos fenólicos não-antociânicos) foram analisadas por dois diferentes métodos como relatado a seguir. Os métodos de identificação e quantificação de compostos fenólicos e antocianinas utilizados no presente trabalho foram

desenvolvidos no UPLC-ESI-MS por Vieira (2013). Para a eluição da fração de antocianinas foram utilizadas como fases móveis água (solvente A) e metanol (solvente B) ambos contendo 2% de ácido fórmico. O gradiente aplicado com interpolação linear (curva 6) foi: 0 min 90% de A; 3 min 90% de A; 4,5 min 40% de A; 5,5 min 40% de A; 6,5 min 90% de A e 7,0 min 90% de A. A vazão de solvente foi de 0,5 cm³/min. A eluição da fração de ácidos fenólicos e flavanóides não antociânicos foi realizada com as fases móveis, água (A) e acetonitrila (B) ambos contendo 0,01% de ácido fórmico. O gradiente aplicado com interpolação linear (curva 6) foi: 0 min 95% de A; 2,46 min 95% de A; 8,00 min 40% de A; 9,00 min 10% de A; 11 min 95% de A e 12,00 min 95% de A. A vazão de solvente foi de 0,5 cm³/min. O efluente do sistema cromatográfico passou pelo detector de arranjo de diodos onde os compostos fenólicos foram monitorados de 190 a 400 nm e as antocianinas de 200 a 600 nm com resolução de 1,2 nm, e em seguida ao deixar o detector o efluente entrou na fonte de ionização por eletrospray (ESI). As condições de análise dos íons no espectrômetro de massas são apresentadas na Tabela 4.3.



Figura 4.9 - Sistema de cromatografia líquida de ultra eficiência/ espectrômetro de massas utilizado nos experimentos. Legenda: 1 – Sistema de bombeamento, 2 – amostrador, 3- compartimento da coluna, 4 – detector de arranjo de diodos, 5 - espectrômetro de massas do tipo quadrupolo, 6 – sistema de aquisição de dados.

Tabela 4.3 - Condições analíticas do ESI-MS para as frações antociânica (ESI⁺) e de ácidos fenólicos e flavonoides não-antociânicos (ESI⁻) presentes nos extratos obtido a partir do resíduo de jabuticaba

Fonte	ESI ⁺	ESI ⁻
Voltagem do capilar (V)	2800	500
Cone (V)	33 a 35*	20 a 40*
Voltagem do extrator (V)	3	3
Temperatura da fonte (°C)	80	150
Temperatura de dessolvatação (°C)	200	450
Fluxo de gás N₂		
Cone (L/h)	50	20
Dessolvatação (L/h)	550	900

*A voltagem do cone foi otimizada para cada composto analisado.

4.7.7.1 Identificação e quantificação dos compostos analisados

Os componentes individuais detectados nas corridas cromatográficas foram tentativamente identificados pela comparação dos tempos de retenção e espectro de massa com os respectivos padrões. A concentração dos compostos identificados foi calculada pela interpolação da área do pico nas curvas de calibração obtidas usando soluções dos padrões puros. Foram preparadas curvas de calibração para cada padrão com concentração variando de 250 a 2000 µg/L. Os resultados foram expressos como µg/g de extrato em base seca (b.s.). Os resultados são apresentados como a média ± desvio padrão de três diferentes injeções.

Os padrões cianidina-3-O-rutinosídeo, delphinidina-3-O-glicosídeo, kaempferol-3-O-glicosídeo e kaempferol-3-O-rutinosídeo foram adquiridos da Extrasynthese (Genay Cedex, França). Perlagonidina-3-O-glicosídeo, malvinidina-3-O-glicosídeo, cianidina-3-O-glicosídeo, ácido gálico, ácido protocatecuico, ácido clorogênico, ácido elágico, ácido *trans*-cinâmico, ácido ferrúlico, ácido cafeico, ácido *p*-coumarico, (+) catequina, quercetina, rutina, kaempferol, crisina, apigenina, ácido sirínico, ácido sinápico, flavona, ácido hidroxicinâmico, ácido hidroxibenzóico, luteolina foram adquiridos da Sigma Aldrich (St. Louis, Mo, EUA).

4.8 MODELAGEM MATEMÁTICA

Os modelos matemáticos de Crank (1975), Sovová (1994) e Martínez et al (2003) foram aplicados aos dados experimentais de SFE e PLE. O ajuste dos modelos foi feito com auxílio do *software* MatLab® *for Windows* versão R2011a (Mathworks Inc., Natick, MA, USA). Os erros de cada ajuste foram calculados pelo desvio entre os dados experimentais e os preditos pelos modelos. Cada modelo, para a sua aplicação a curvas experimentais, exige uma série de parâmetros de processo que devem ser obtidos experimentalmente ou estimados.

Os parâmetros necessários para a modelagem do modelo de Sovová (1994) são: porosidade do leito (ϵ), rendimento global (X_0), densidade do sólido (ρ_r), densidade do solvente (ρ_{sol}), vazão de solvente (Q), altura (H_B) e diâmetro (d_B) do leito de extração, massa de matéria-prima (F), taxa de extração no período de taxa de extração constante (M_{CER}) e solubilidade do extrato no solvente (Y^*), nas condições de processo. Para o modelo de Crank (1975) e Martínez et al (2003), considerando o extrato como um único pseudocomposto, são necessários os seguintes parâmetros: rendimento global e massa de matéria-prima usada. Os parâmetros de cada modelo foram ajustados mediante o valor do erro quadrático médio. Os parâmetros ajustados para cada modelo foram os seguintes:

- Modelo de Sovová (1994): t_{CER} e k_{YA} , onde t_{CER} é o tempo de duração da etapa de taxa de extração constante e k_{YA} é o coeficiente de transferência de massa na fase fluida;
- Modelo de Crank (1975): D é o coeficiente de difusão de transferência de massa;
- Modelo de Martinez et al. (2003), b_i e t_{mi} , são parâmetros ajustáveis do modelo

4.9 SIMULAÇÃO DO PROCESSO, AUMENTO DE ESCALA E ANÁLISE ECONÔMICA

A simulação dos processos de extração com fluido supercrítico (SFE) e extração com líquido pressurizado (PLE) foi realizada utilizando o *software* SuperPro Designer® 6.0 (Intelligen Inc., EUA). A simulação do processo supercrítico foi adaptado da metodologia descrita por Prado (2009) enquanto o processo de extração com líquido pressurizado foi adaptado da metodologia descrita por Santos, Veggi e Meireles (2012). De acordo com Bravi et al. (2002) para que um processo de extração em batelada possa ser operado em modo semi-contínuo faz-se necessária a utilização de ao menos 2 células de extração operando de forma intermitente, ou seja, enquanto uma

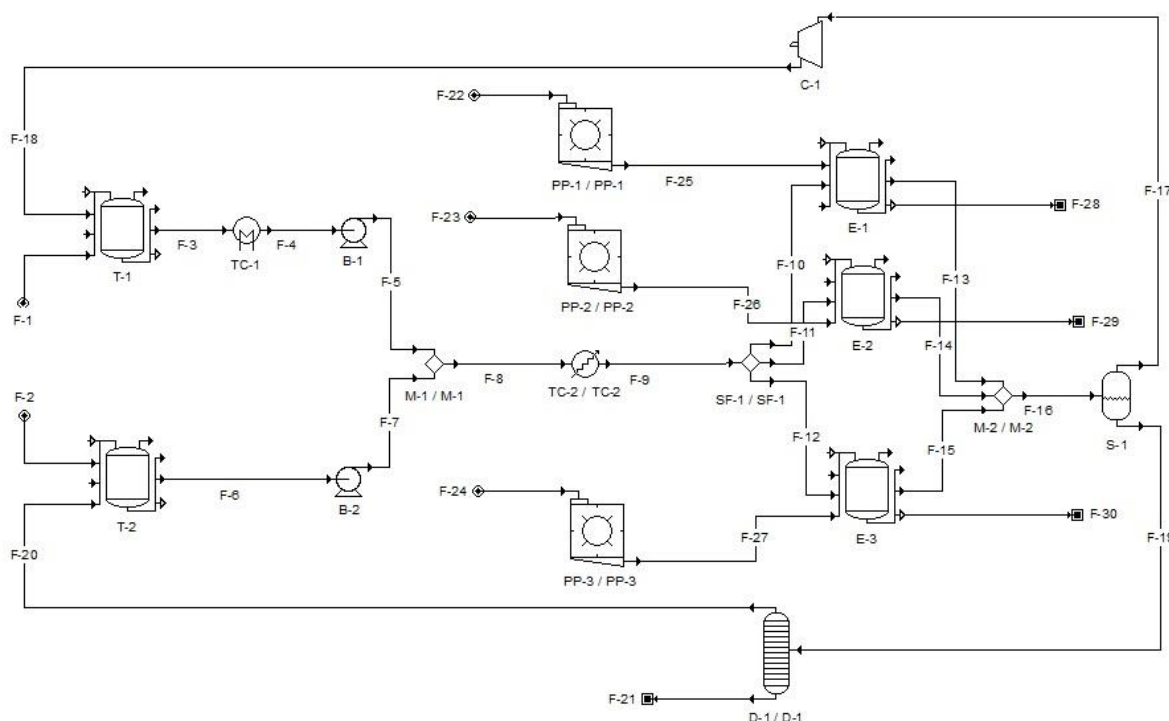
célula de extração está inativa (processos de despressurização, descarga, limpeza, recarga e repressurização do extrator) a outra está ativa (extração). A etapa inativa de operação requer um tempo mínimo determinado que pode ser estimado de acordo com suas etapas e número de operadores. A duração da fase inativa e de extração pode determinar a regularidade desejada da produção de extrato e o número mínimo de extratores necessários através da Equação 4.9:

$$n_e = 2 \left(\frac{t_e + t_i}{t_e} \right) \quad 4.9$$

Onde:

n_e é o número de extratores; t_e é o tempo de extração; t_i é o tempo da fase inativa do extrator, isto é, tempo gasto com despressurização, descarga, limpeza, recarga e repressurização do extrator.

O tempo inativo de operação foi estimado em 10 minutos (BRAVI et al., 2002) e o tempo de extração foi mantido constante entre escala laboratorial e industrial em 60 minutos para o processo SFE e 30 min para o processo PLE, obtendo valores de n_e de 2,3 e 2,7, respectivamente. Dessa maneira, os processos SFE e PLE foram simulados em modo semi-contínuo através da utilização de 3 células de extração de mesma capacidade volumétrica cada uma operando em modo intermitente. A simulação avaliou uma planta industrial operando durante 7920 h por ano, o que corresponde a 330 dias operando 24 horas-por-dia (ROSA e MEIRELES, 2005). O critério de aumento de escala utilizado considerou que uma unidade industrial possui o mesmo desempenho de uma unidade laboratorial se a razão massa de solvente por massa de alimentação (S/F), tempo de extração, densidade real, porosidade do leito e condições operacionais de extração forem mantidas constantes (ROSA e MEIRELES, 2005; PRADO et al., 2012). O aumento de escala avaliou células de extração com 3 capacidades volumétricas distintas: 0,05, 0,3 e 0,5 m³. Os fluxogramas dos processos SFE utilizando os cossolventes alcoois (Figura 4.10) e água (Figura 4.11) e dos processos PLE utilizando os solventes alcoois (Figura 4.12) e água (Figura 4.13) podem ser observados a seguir.



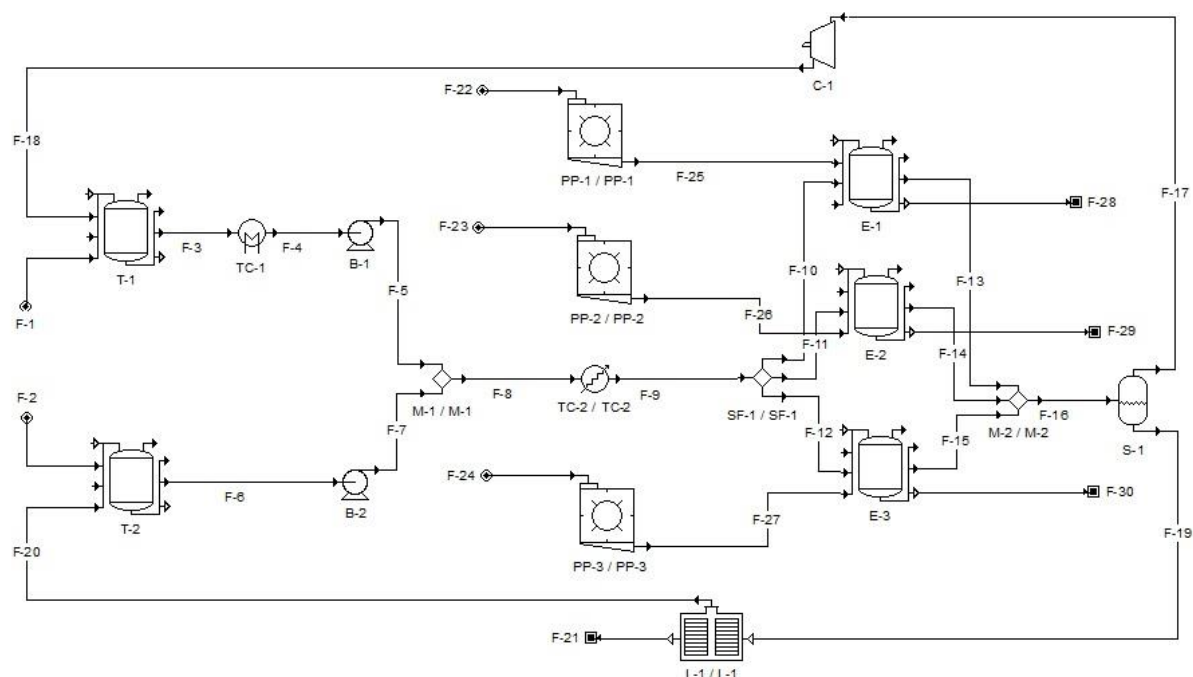
Correntes

F-1: Reposição de 2% de CO₂ perdido.
 F-2: Reposição de 2% de álcool perdido.
 F-3;F-4;F-5: Alimentação de CO₂.
 F-6;F-7: Alimentação de álcool.
 F-8;F-9;F-10;F-11;F-12: Alimentação da mistura CO₂ + álcool.
 F-13;F-14;F-15;F-16: Saída de CO₂ + álcool + extrato.
 F-17;F-18: Reciclo de CO₂.
 F-19: Mistura álcool + extrato.
 F-20: Reciclo de álcool.
 F-21: Coleta de extrato bruto.
 F-22;F-23;F-24: Alimentação de matéria-prima.
 F-25;F-26;F-27: Alimentação de matéria-prima pré-processada.
 F-28;F-29;F-30: Saída de resíduo orgânico.

Equipamentos:

T-1: Tanque de armazenamento de CO₂.
 T-2: Tanque de armazenamento de cossolvente.
 TC-1: Trocadores de calor (resfriamento).
 TC-2: Trocadores de calor (aquecimento).
 PP-1;PP-2;PP-3: Unidades de pré-processamento.
 E-1;E-2;E-3: Colunas de extração.
 S-1: Separador.
 D-1: Coluna de destilação.
 C-1: Compressor.
 B-1;B-2: bombas centrífugas.
 M-1;M-2: Misturador de fluxo.
 SF-1: Separador de fluxo.

Figura 4.10 - Fluxograma do processo de obtenção de extrato de resíduo de geléia de jaboticaba via extração com fluido supercrítico (SFE) utilizando etanol ou isopropanol como cossolvente.



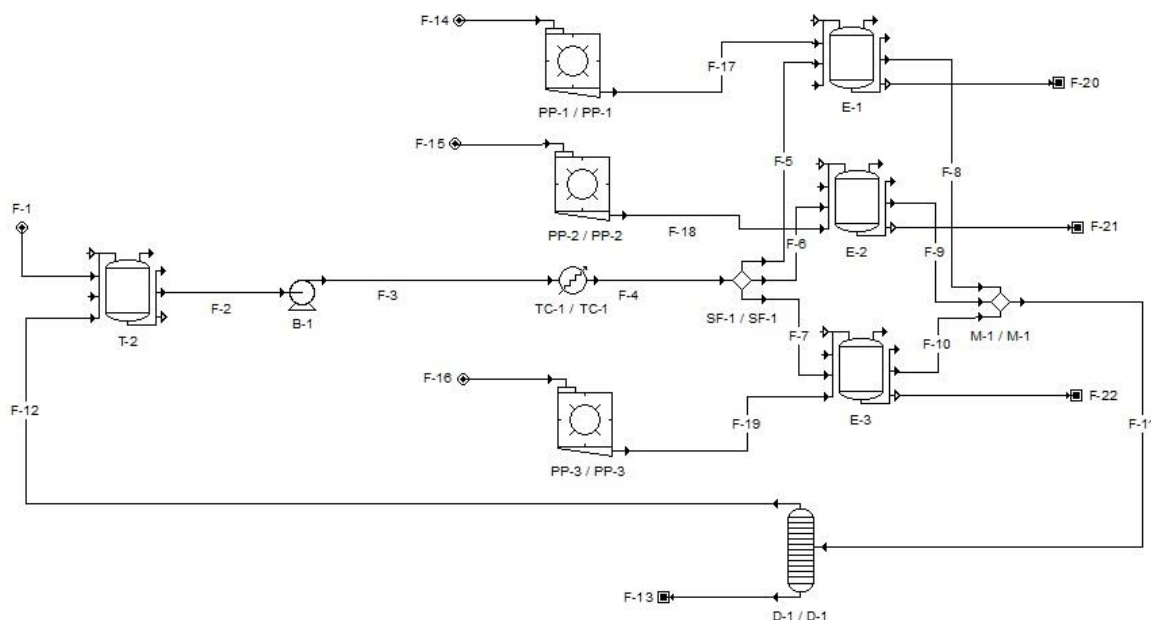
Correntes

F-1: Reposição de 2% de CO₂ perdido.
 F-2: Reposição de 2% de água perdida.
 F-3;F-4;F-5: Alimentação de CO₂.
 F-6;F-7: Alimentação de água.
 F-8;F-9;F-10;F-11;F-12: Alimentação da mistura CO₂ + água.
 F-13;F-14;F-15;F-16: Saída de CO₂ + água + extrato.
 F-17;F-18: Reciclo de CO₂.
 F-19: Mistura água + extrato.
 F-20: Reciclo de água.
 F-21: Coleta de extrato bruto.
 F-22;F-23;F-24: Alimentação de matéria-prima.
 F-25;F-26;F-27: Alimentação de matéria-prima pré-processada.
 F-28;F-29;F-30: Saída de resíduo orgânico.

Equipamentos:

T-1: Tanque de armazenamento de CO₂.
 T-2: Tanque de armazenamento de cossolvente.
 TC-1: Trocadores de calor (resfriamento).
 TC-2: Trocador de calor (aquecimento).
 PP-1;PP-2;PP-3: Unidades de pré-processamento.
 E-1;E-2;E-3: Colunas de extração.
 S-1: Separador.
 L-1: Liofilizador.
 C-1: Compressor.
 B-1;B-2: bombas centrífugas.
 M-1;M-2: Misturador de fluxo.
 SF-1: Separador de fluxo.

Figura 4.11 - Fluxograma do processo de obtenção de extrato de resíduo de geléia de jabuticaba via extração com fluido supercrítico (SFE) utilizando água como cossolvente.

**Correntes**

F-1: Reposição de 2% de álcool perdido

F-2;F-3;F-4;F-5;F-6;F-7: Alimentação de álcool.

F-8;F-9;F-10;F-11: Saída de álcool + extrato.

F-12: Reciclo de álcool.

F-13: Coleta de extrato bruto.

F-14;F-15;F-16: Alimentação de matéria-prima.

F-17;F-18;F-19: Alimentação de matéria-prima pré-processada.

F-20;F-21;F-22: Saída de resíduo orgânico.

Equipamentos:

T-1: Tanque de armazenamento de cossolvente.

TC-1: trocadores de calor.

PP-1;PP-2;PP-3: Unidades de pré-processamento.

E-1;E-2;E-3: Colunas de extração.

S-1: Separador.

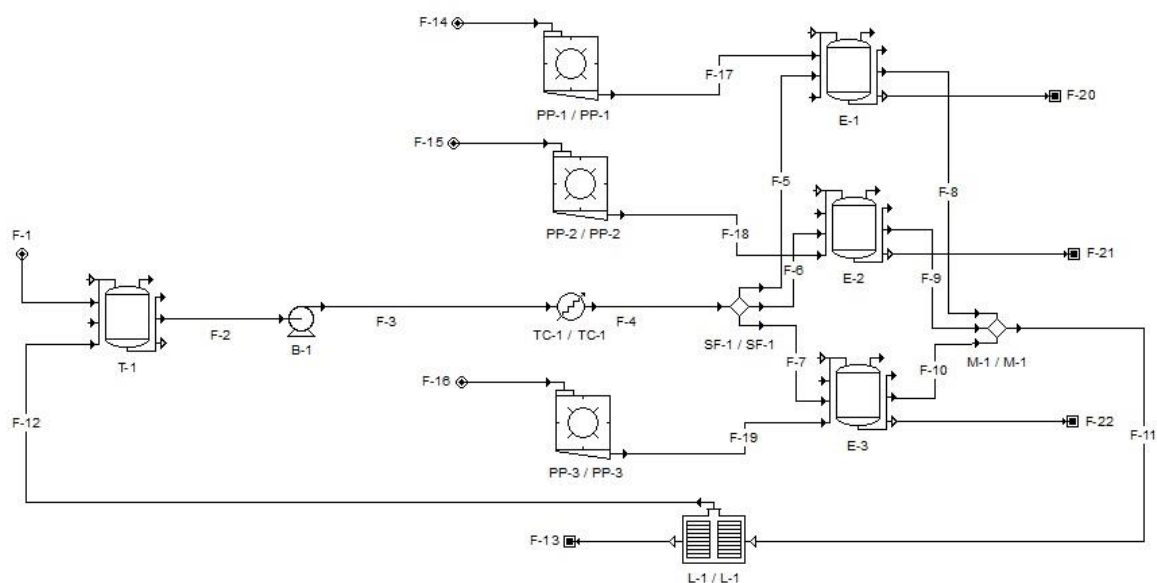
D-1: Coluna de destilação.

B-1: bombas centrífugas.

M-1: Misturador de fluxo.

SF-1: Separador de fluxo.

Figura 4.12 - Fluxograma do processo de obtenção de extrato de resíduo de geléia de jabuticaba via extração com líquido pressurizado (PLE) utilizando etanol ou isopropanol como cossolvente.

**Correntes**

F-1: Reposição de 2% de água perdida

F-2;F-3;F-4;F-5;F-6;F-7: Alimentação de água.

F-8;F-9;F-10;F-11: Saída de água + extrato.

F-12: Reciclo de água.

F-13: Coleta de extrato bruto.

F-14;F-15;F-16: Alimentação de matéria-prima.

F-17;F-18;F-19: Alimentação de matéria-prima pré-processada.

F-20;F-21;F-22: Saída de resíduo orgânico.

Equipamentos:

T-1: Tanque de armazenamento de cossolvente.

TC-1: trocadores de calor.

PP-1;PP-2;PP-3: Unidades de pré-processamento.

E-1;E-2;E-3: Colunas de extração.

S-1: Separador.

L-1: Liofilizador.

B-1: bombas centrífugas.

M-1: Misturador de fluxo.

SF-1: Separador de fluxo.

Figura 4.13 - Fluxograma do processo de obtenção de extrato de resíduo de geléia de jabuticaba via extração com líquido pressurizado (PLE) utilizando etanol ou isopropanol como cossolvente.

O custo de manufatura (COM, US\$ / ano) foi estimado utilizando a metodologia descrita por Turton et al (1998) que considera que o custo de manufatura é uma função de cinco principais custos: capital fixo de investimento (FCI, US\$ / ano), custo de mão-de-obra (COL, US\$ / ano), custo de utilidades (CUT, US\$ / ano), custo de tratamento de resíduos (CWT, US\$ / ano) e custo de matéria-prima (CRM, US\$ / ano).

A estimativa do FCI considerou os custos dos equipamentos envolvidos nos processos de extração e a depreciação anual de 10%. O COL baseou-se na quantidade de operadores necessários para operar cada unidade de extração 0,05, 0,3 e 0,5 m³ estimados em 2, 3 e 4 operadores, respectivamente, e utilizando como base de cálculo salário de US\$ 6.00 h⁻¹. O CUT avaliou o custo gasto com eletricidade e agentes térmicos como água gelada para resfriamento e vapor d'água saturado para aquecimento. O gasto com energia elétrica utilizada no processo foi estimado considerando a compressão como sendo isoentrópica com eficiência de 60% a um valor de US\$ 0,0703/Mcal. O custo da água de resfriamento foi estimado em US\$ 0,0837/Mcal. O gasto com vapor saturado para aquecimento foi estimado em US\$ 0,0133/Mcal. O CWT foi desprezado uma vez que os resíduos orgânicos gerados não apresentam risco ao meio ambiente bem como possuem valor agregado e podem ser vendidos para compostagem (BRAGA, 2005). O custo de manufatura por massa de extrato bruto produzido (COM, US\$/kg) (Equação 4.10) foi calculado como a razão entre o custo de manufatura (COM, US\$ / ano) e a taxa de produção (PR – *production rate*, kg / ano) obtidos por ano:

$$COM(US\$/kg) = \frac{COM(US\$/ano)}{PR(kg/ano)} \quad 4.10$$

O tempo de retorno (PT – *payback time*) foi calculado como a razão entre o investimento de capital inicial e o lucro líquido operacional (lucro bruto menos impostos mais depreciação). O CRM inclui não apenas o custo de aquisição da matriz vegetal bem como os custos relativos à aquisição e perda estimada em 2% dos solventes e cossolventes: CO₂, etanol, isopropanol e água. O custo da matriz vegetal foi considerado nulo uma vez que se trata de um subproduto da indústria de alimentos normalmente vendido para compostagem (BRAGA, 2005). Além disso, o cenário avaliado neste trabalho consiste na implantação de uma linha de produção de extratos naturais por parte dos detentores da linha de produção de geléia de jabuticaba e da fruta *in natura*. O preço de venda dos extratos de jabuticaba foi estimado de acordo com o preço de exportação concorrencial cotado na empresa 100% Amazonia Exp. Rep. Ltda em US\$ 69,90/kg para o extrato de jabuticaba em pó (100% Amazonia, 2012). Os parâmetros econômicos de entrada estão apresentados na Tabela 4.4.

Tabela 4.4 - Parâmetros econômicos de entrada do programa SuperPro Designer 6.0[®].

	SFE			PLE		
	0,05 m ³	0,3 m ³	0,5 m ³	0,05 m ³	0,3 m ³	0,5 m ³
<i>FCI</i>						
3 unidades de extração	US\$ 400.000,00 ^a	US\$ 1.085.000,00 ^a	US\$ 1.475.000,00 ^a	US\$ 350.000,00 ^b	US\$ 950.000,00 ^b	US\$ 1.250.000,00 ^b
Coluna de destilação ^c	US\$ 20.000,00	US\$ 53.000,00	US\$ 76.000,00	US\$ 20.000,00	US\$ 53.000,00	US\$ 76.000,00
Liofilizador ^d	US\$ 100.000,00	US\$ 260.000,00	US\$ 366.000,00	US\$ 100.000,00	US\$ 260.000,00	US\$ 366.000,00
Triturador (Pré-processamento) ^e	US\$ 45.000,00	US\$ 85.000,00	US\$ 100.000,0	US\$ 45.000,00	US\$ 85.000,00	US\$ 100.000,00
Taxa de depreciação ^f	10%/ano	10%/ano	10%/ano	10%/ano	10%/ano	10%/ano
<i>COL</i>	US\$ 6,00 h ⁻¹	US\$ 6,00 h ⁻¹	US\$ 6,00 h ⁻¹	US\$ 6,00 h ⁻¹	US\$ 6,00 h ⁻¹	US\$ 6,00 h ⁻¹
Número de operadores	2	3	4	2	3	4
<i>CRM</i>						
Pré-processamento	US\$ 0,10/kg	US\$ 0,10/kg	US\$ 0,10/kg	US\$ 0,10/kg	US\$ 0,10/kg	US\$ 0,10/kg
Dióxido de carbono ^g	US\$ 0,15/kg	US\$ 0,15/kg	US\$ 0,15/kg	US\$ 0,15/kg	US\$ 0,15/kg	US\$ 0,15/kg
Etanol ^h	US\$ 0,85/kg	US\$ 0,85/kg	US\$ 0,85/kg	US\$ 0,85/kg	US\$ 0,85/kg	US\$ 0,85/kg
Isopropanol ⁱ	US\$ 1,45/kg	US\$ 1,45/kg	US\$ 1,45/kg	US\$ 1,45/kg	US\$ 1,45/kg	US\$ 1,45/kg
Água	US\$ 0,04/kg	US\$ 0,04/kg	US\$ 0,04/kg	US\$ 0,04/kg	US\$ 0,04/kg	US\$ 0,04/kg
<i>CUT</i>						
Eleticidade ^g	US\$ 0,092/kWh	US\$ 0,092/kWh	US\$ 0,092/kWh	US\$ 0,092/kWh	US\$ 0,092/kWh	US\$ 0,092/kWh
Água de resfriamento ^g	US\$ 0,19/ton	US\$ 0,19/ton	US\$ 0,19/ton	US\$ 0,19/ton	US\$ 0,19/ton	US\$ 0,19/ton
Vapor d'água ^g	US\$ 4,20/ton	US\$ 4,20/ton	US\$ 4,20/ton	US\$ 4,20/ton	US\$ 4,20/ton	US\$ 4,20/ton
<i>Rentabilidade</i>						
Preço de venda ^j	US\$ 69,90/kg	US\$ 69,90/kg	US\$ 69,90/kg	US\$ 69,90/kg	US\$ 69,90/kg	US\$ 69,90/kg

^a:Applied Separations (2012); ^b:Autic (2012); ^c:Wuxi Rising Machinery Co., Ltd. (2012); ^d:Henan Yuheng Machinery Manufacturing Co., Ltd. (2012); ^e:Henan Name Brand Machinery Co., Ltd. (2012); ^f:PRADO (2009); ^g:PRADO (2010); ^h:Nguyen Khoi Trading Company Limited (2012); ⁱ:Zibo Pulisi Trading Co., Ltd. (2012); ^j:100% Amazonia Exp. & Rep. Ltda (2012).

4.10 ANÁLISE ESTATÍSTICA

As análises de variância (ANOVA) foram realizadas utilizando o procedimento PROC ANOVA do *software* SAS versão 9.2 *for Windows* (SAS Institute, Cary, NC). Utilizou-se o teste de Tukey para determinar diferenças estatisticamente significativas ao nível de 5%. As análises de componentes principais (PCA – *principal component analysis*) foram realizadas utilizando *software* XLSTAT *for Windows* versão *trial* 2012 (Addinsoft, Paris, França) através da matriz de correlação contendo dados autoescalados de acordo com Cavalcanti et al (2012). Um teste de correlação de Pearson foi utilizado para determinar as correlações entre as variáveis estudadas. A análise de componentes principais foi baseada nas correlações e as variâncias foram computadas como $SSD/(n-1)$, onde *square standard deviation* (SSD). O gráfico com as cargas dos parâmetros foi utilizado para avaliar o efeito das variáveis de processo nos parâmetros analisados.

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 CARACTERIZAÇÃO DA MATÉRIA-PRIMA

5.1.1 Composição Centesimal

Tendo em vista à consecução dos objetivos propostos, esta pesquisa se voltou, em sua primeira etapa, para a determinação da composição química da matéria-prima selecionada, por ensaios analíticos, utilizando métodos oficiais (AOAC, 1997). Os resultados da umidade e composição centesimal da matéria-prima resíduo de geléia de jabuticaba encontram-se dispostos na Tabela 5.1.

Tabela 5.1 – Teor de umidade e composição centesimal do resíduo da fabricação de geléia de jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*).

	Composição (g/ 100g MP, b.u.)	Composição (g/ 100g MP, b.s.)
Umidade	82 ± 3	-
Cinzas	0,48 ± 0,04	2,7 ± 0,2
Lipídios	0,22 ± 0,04	1,2 ± 0,2
Proteínas	2,0 ± 0,1	11,2 ± 0,6
Carboidratos	6,0 ± 0,4	33 ± 2
Fibras	9 ± 1	52 ± 8

* média ± desvio padrão; b.u.: base úmida; b.s.: base seca; MP: matéria-prima.

Os teores de umidade, cinzas e lipídios do resíduo de geléia de jabuticaba são similares aos resultados obtidos por Silva et al (2008) para a fruta *in natura*. Contudo, os teores de proteínas, carboidratos e fibras obtidos foram superiores. Dessa maneira, a composição centesimal do resíduo de geléia de jabuticaba indica que o mesmo constitui uma boa fonte de nutrientes para aplicação na indústria alimentícia. Apesar do alto teor de umidade, a matéria-prima foi utilizada sem nenhum pré-tratamento além da moagem a fim de evitar procedimentos adicionais de preparação da amostra e degradação dos compostos bioativos. Além disso, acredita-se que a água presente na matéria-prima possa apresentar um caráter pré-extrativo dos compostos de interesse devido a sua alta polaridade e seu poder de entumescimento facilitando assim o transporte de massa durante a período de extração estática e dinâmica. Apesar de a água ser um meio de transporte facilitador de reações químicas e, portanto, de degradação da matéria-prima utilizada, a mesma foi congelada a – 18°C o que pode ter auxiliado na manutenção da sua qualidade físico-química.

5.1.2 Diâmetro Médio da Partícula, Densidade Real, Densidade Aparente e Porosidade do Leito de Extração

A granulometria da matéria-prima após moagem foi determinada por difração a laser através da amostragem de 9 replicatas e seus resultados estão expressos na Figura 5.1. O valor médio do diâmetro da partícula, densidade aparente do leito, densidade real da partícula e porosidade do leito de extração estão apresentados na Tabela 5.2. Os valores referem-se aos leitos de extração dos processos de extração com fluido supercrítico (SFE) e extração com líquido pressurizado (PLE).

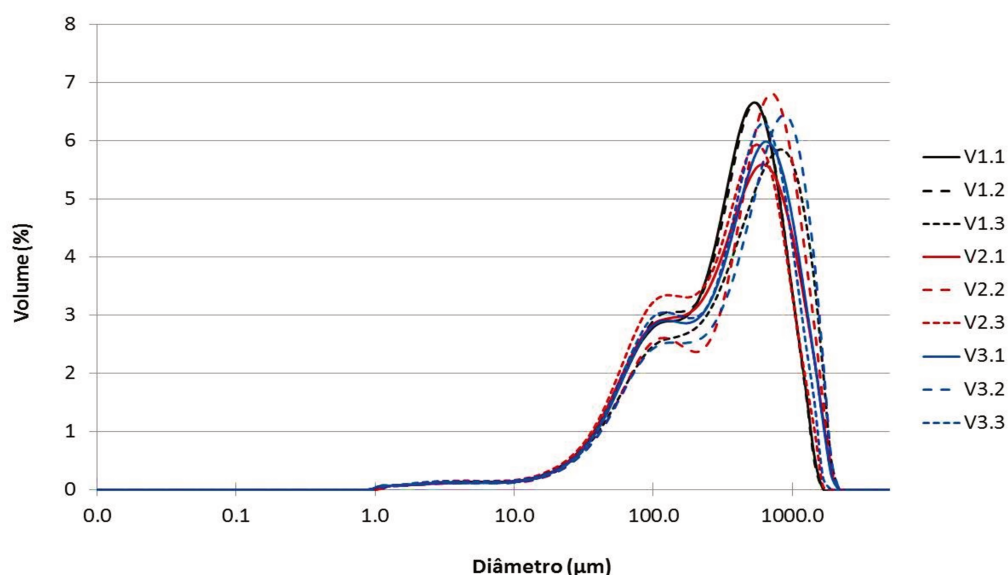


Figura 5.1 - Análise granulométrica por difração a laser do resíduo de geléia de jabuticaba após moagem.

Tabela 5.2 - Parâmetros do leito fixo de extração dos processos de extração com fluido supercrítico (SFE) e extração com líquido pressurizado (PLE).

Parâmetro	
Densidade aparente do leito (ρ_a , kg/m ³) ^a	685 ± 6
Densidade real da partícula (ρ_r , kg/m ³) ^a	2880 ± 3
Porosidade do leito (ϵ , -) ^a	0,76 ± 0,05
Diâmetro da partícula (d_p , μm) ^b	497 ± 26

^a: Médias ± desvio padrão obtidos de 10 replicatas. ^b: Média ± desvio padrão obtidos de 9 replicatas.

5.2 RENDIMENTO GLOBAL DE EXTRAÇÃO ($X_{0,S/F}$)

As Figura 5.2 e Figura 5.3 apresentam os rendimentos globais dos extratos obtidos por extração com fluido supercrítico ($X_{0,S/F=40}$) e extração com líquido pressurizado ($X_{0,S/F=5}$) utilizando razões de massa de solvente por massa de alimentação iguais a 40 e 5, respectivamente. Observando a Figura 5.2 é possível verificar que as extrações supercríticas utilizando etanol e isopropanol a 50°C e isopropanol a 60°C apresentaram perfis de rendimento global bem similares alcançando melhores rendimentos na pressão de 20 MPa. Por outro lado a utilização de etanol a 60°C apresentou um perfil oposto apresentando menor rendimento a 20 MPa. Os rendimentos obtidos utilizando água como cossolvente apresentaram maximização contínua com o aumento da pressão atingindo rendimento máximo a 30 MPa. Os melhores rendimentos globais obtidos foram todos a 60°C a pressão de 10 e 30 MPa para o etanol, 20 MPa para o isopropanol e 30 MPa para a água.

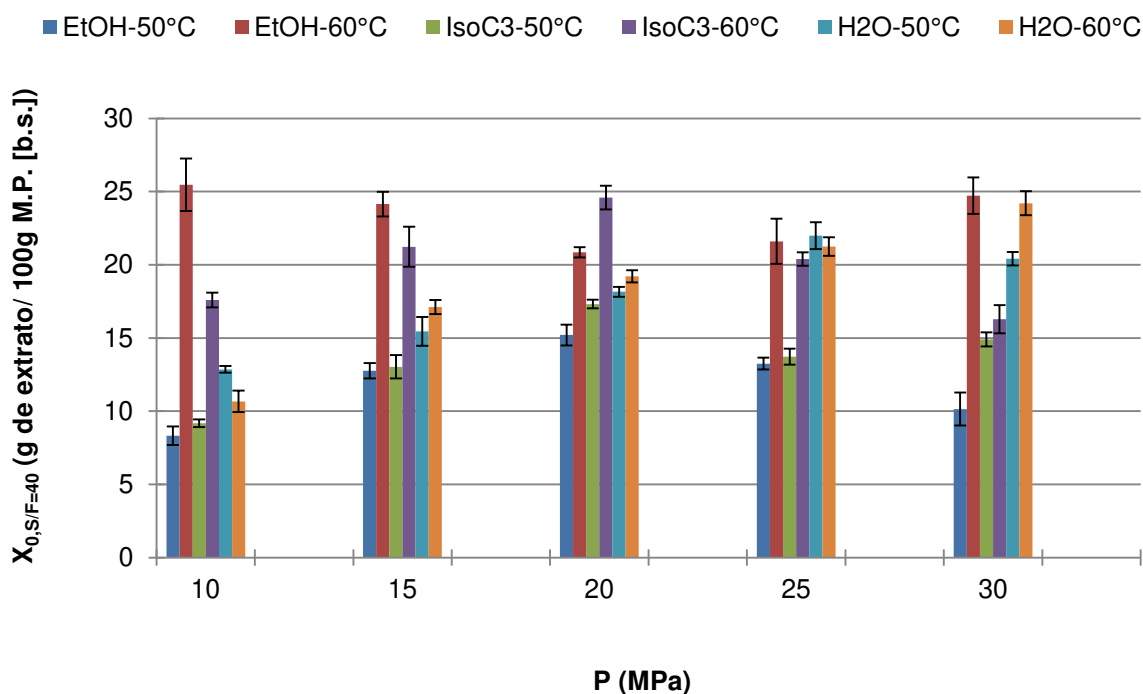


Figura 5.2 - Rendimentos ($X_{0,S/F=40}$) dos estratos obtidos por extração com fluido supercrítico utilizando etanol (EtOH), isopropanol (IsoC3) e água (H2O) à 50 e 60 °C com pressão variando de 10 a 30 MPa.

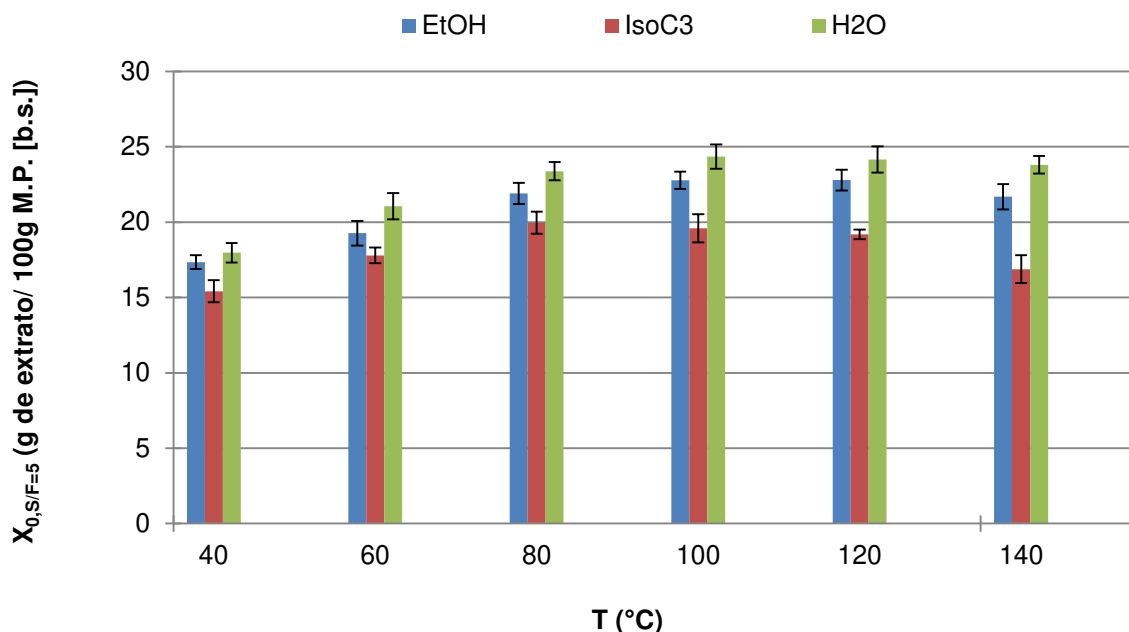


Figura 5.3 - Rendimentos ($X_{0,S/F=5}$) dos estratos obtidos por extração com líquido pressurizado utilizando etanol (EtOH), isopropanol (IsoC3) e água (H2O) como solventes à pressão constante de 10,34 MPa e temperatura variando de 40 a 140 °C.

De acordo com a Figura 5.3 todos os solventes apresentaram um perfil muito similar no qual verifica-se um aumento contínuo do rendimento global com o aumento da temperatura atingindo recuperação máxima na temperatura de 100°C depois da qual o rendimento tende a se estabilizar ou decair. Este fenômeno está intimamente relacionado com o fato de que a utilização de altas temperaturas diminui a viscosidade do solvente e tensão superficial solvente/matriz. Em adição têm-se um aumento no poder de solvatação e na taxa de difusividade obtendo-se, portanto melhores rendimentos. Os melhores rendimentos globais foram obtidos em ordem decrescente utilizando os solventes: água, etanol e isopropanol. Tais resultados indicam a influência da polaridade dos solventes nos rendimentos dos extratos obtidos uma vez que a matriz vegetal em questão é rica em compostos polares como ácidos fenólicos e flavonóides (REYNERTSON et al., 2008).

5.3 COMPOSIÇÃO QUÍMICA DOS EXTRATOS

5.3.1 Compostos Fenólicos Totais

A Figura 5.4 apresenta os teores de compostos fenólicos dos extratos obtidos por SFE, onde se observa que em geral foram alcançados melhores rendimentos de compostos fenólicos a 60°C do que a 50°C utilizando os co-solventes etanol, isopropanol e água em todas as pressões estudadas.

Além disso, é possível verificar que os rendimentos máximos foram obtidos a 60°C utilizando os co-solventes água, isopropanol e etanol a 30, 20 e 25 MPa, respectivamente..

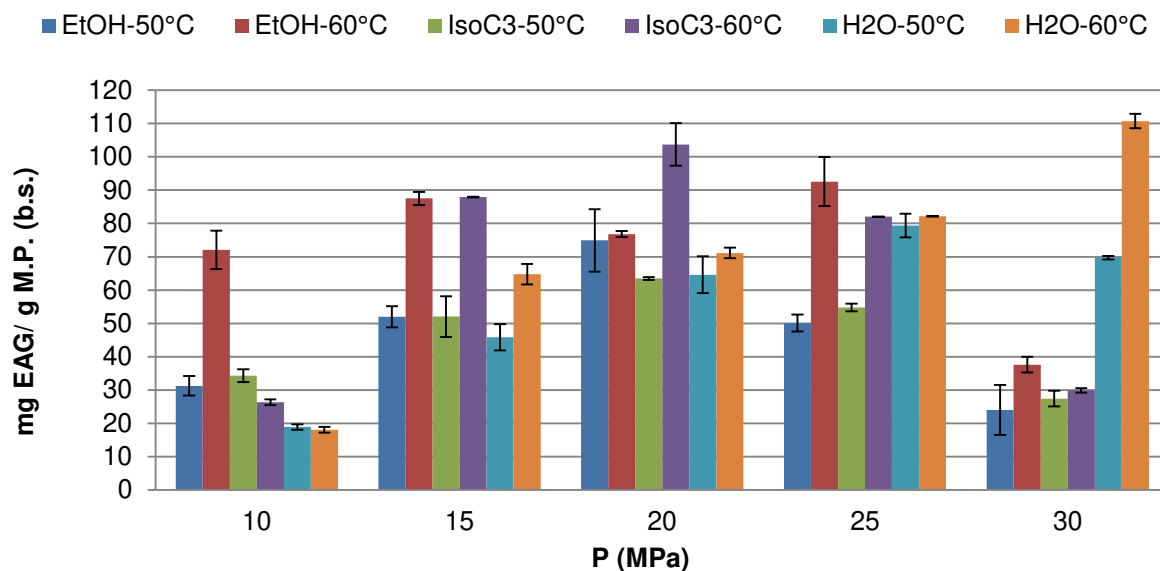


Figura 5.4 - Teor de compostos fenólicos dos extratos obtidos com fluido supercrítico expresso em equivalentes de ácido gálico (EAG).

A Figura 5.5 mostra o teor de compostos fenólicos obtidos por extração com líquido pressurizado. O rendimento dos compostos fenólicos com relação aos solventes utilizados demonstra que os maiores rendimentos de compostos fenólicos em ordem decrescente foram obtidos utilizando os solventes etanol e água seguido por isopropanol. O aumento de temperatura demonstrou um aumento no rendimento dos compostos fenólicos até valores intermediários de temperatura onde os maiores teores de compostos fenólicos foram obtidos a 80-100°C para os solventes alcoóis e a 80-120°C utilizando a água. Para valores de temperatura de extração acima de 120 °C verificou-se uma diminuição no teor de compostos fenólicos provavelmente devido ao efeito deletério da temperatura diante da termossensibilidade destes compostos.

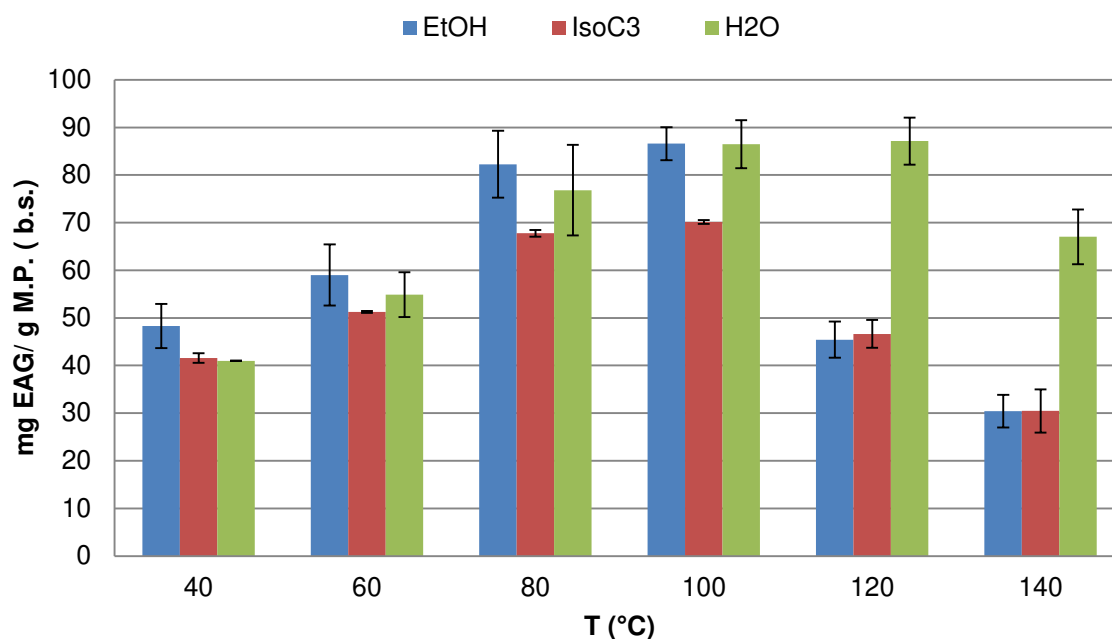


Figura 5.5 - Teor de compostos fenólicos dos extratos obtidos com líquido pressurizado expresso em equivalentes de ácido gálico (EAG).

Os teores de compostos fenólicos obtidos tanto por extração com fluido supercrítico quanto por extração com líquido pressurizado foram superiores aos dados reportados na literatura (REYNERTSON et al., 2008; SANTOS et al., 2010; SANTOS e MEIRELES, 2011). Reynertson et al (2008) estudaram a composição de compostos fenólicos de 14 espécies de frutas do gênero Myrtaceae via extração com leite agitado associado com ultrassom (ABE + UAE) utilizando razão S/F 20:1 de metanol com ácido fórmico (9:1) obtendo 2,78 mg EAG/ g de matéria-prima seca. Santos et al (2010) avaliaram a composição e os custos dos extratos obtidos a partir da casca de jabuticaba pelos métodos de extração ABE, UAE e ABE + UAE alcançando teores de compostos fenólicos de cerca de 23, 26 e 34 mg EAG/ g de matéria-prima seca, respectivamente. Santos e Meireles (2011) estudaram a otimização da obtenção de compostos bioativos a partir da casca de jabuticaba utilizando dióxido de carbono a alta pressão obtendo rendimento máximo (14,4 mg EAG/ g material seco) a 80°C e 13,5 MPa.

5.3.2 Flavonóides Totais

A Figura 5.6 apresenta o teor de flavonóides totais presentes nos extratos supercríticos nas condições operacionais estudadas. Nota-se que em ambas as temperaturas os co-solventes alcoóis

apresentam aumento no rendimento de flavonóides com a pressão até 20 MPa o qual em seguida descrece com a pressão. Por outro lado, a água possui um aumento contínuo com a pressão. Observou-se que os rendimentos máximos de flavonóides foram obtidos a 20 MPa utilizando etanol e isopropanol a 50 e 60°C, respectivamente, e logo em seguida a água a 30 MPa e 60°C.

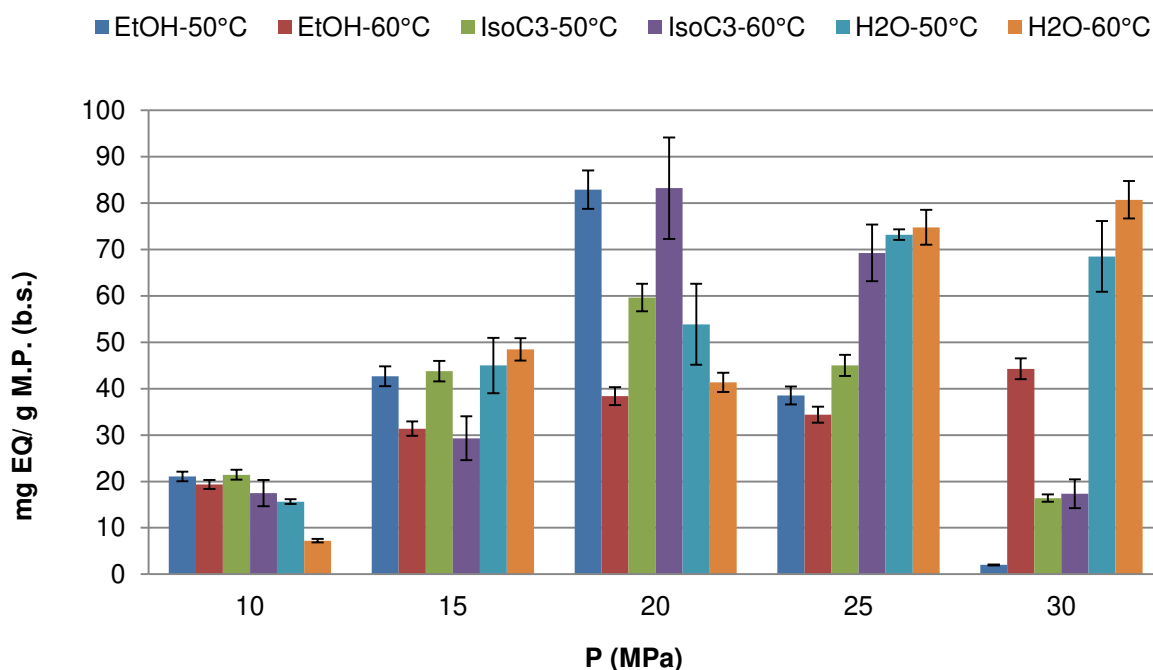


Figura 5.6 - Teor de flavonóides dos extratos obtidos com fluido supercrítico expresso em equivalentes de quercetina (EQ).

Observando a Figura 5.7 é possível verificar que os perfis dos teores de flavonóides dos extratos obtidos por PLE foram similares aos obtidos por SFE. Os melhores rendimentos de extrato foram obtidos utilizando os solventes álcoois (80-100°C) e água (100-120°C). Os rendimentos de flavonóides dos extratos obtidos via SFE e PLE foram superiores aos obtidos por Rufino et al (2010) utilizando método convencional de extração (10,42 mg EQ/ g de matéria-prima (b.s.)).

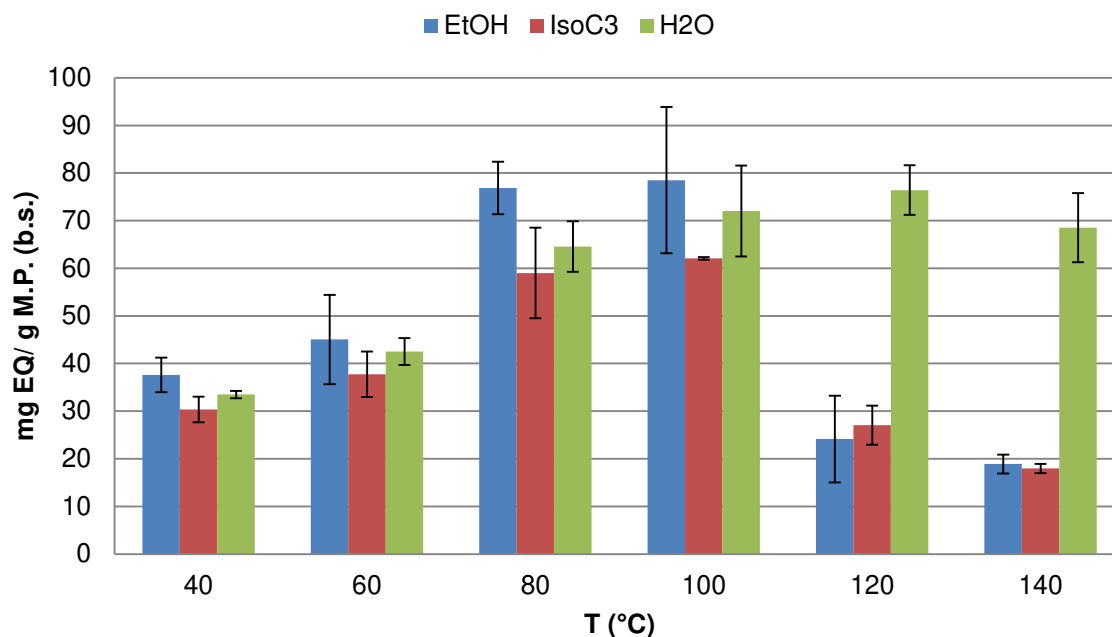


Figura 5.7 - Teor de flavonóides dos extratos obtidos com líquido pressurizado expresso em equivalentes de quercetina (EQ).

5.3.3 Antocianinas Monoméricas Totais

As Figura 5.8 e Figura 5.9 apresentam os teores de antocianinas monoméricas totais presentes nos extratos obtidos por SFE e PLE a partir do resíduo de geléia de jabuticaba, respectivamente. Os resultados foram expressos em equivalentes de cianidina-3-glicosídeo (EC3G) uma vez que a mesma é reportada em estudos prévios na literatura como antocianina majoritária presente na casca de jabuticaba (REYNERTSON et al., 2008). De acordo com a Figura 5.8 observa-se que os melhores rendimentos de antocianinas para os processos SFE foram obtidos em ordem decrescente utilizando etanol a 60°C e 15-30 MPa, isopropanol a 60°C e 20 MPa e água a 60°C e 30 MPa.

De acordo com a Figura 5.9 verifica-se que os solventes alcoóis apresentaram maiores rendimentos de antocianinas a temperaturas intermediárias de 80-100°C e a água obteve melhores resultados a 80-120°C. Os melhores rendimentos de antocianinas monoméricas totais foram obtidos em ordem decrescente utilizando os solventes água, etanol e isopropanol a 100, 80 e 100°C, respectivamente.

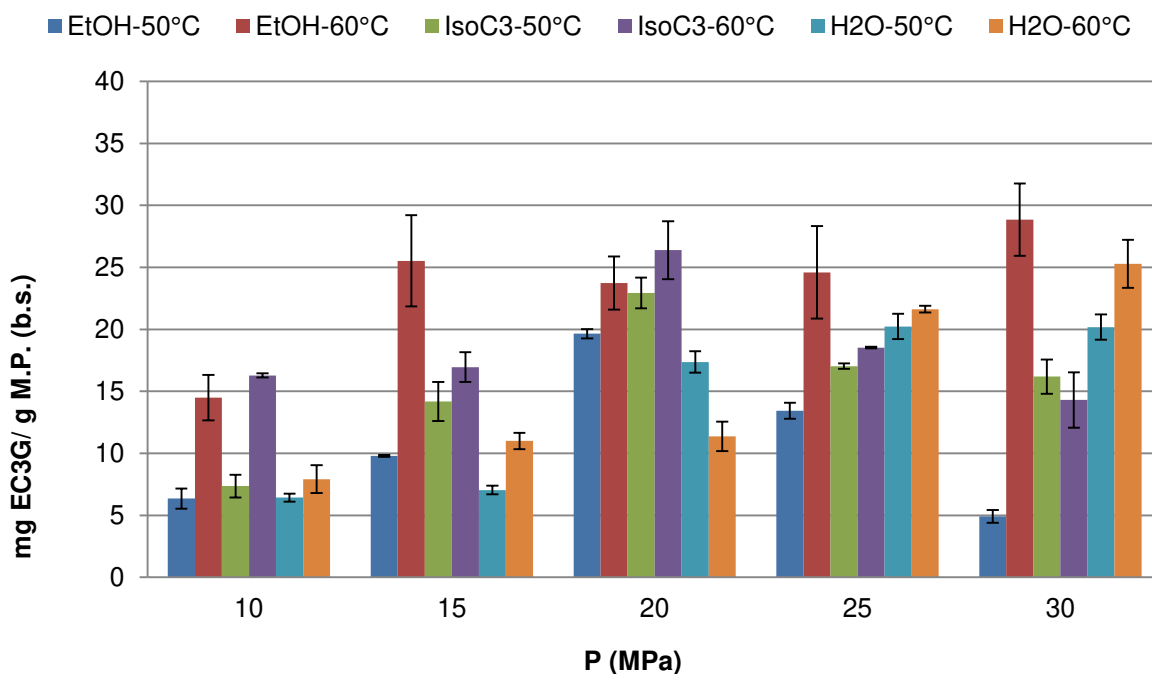


Figura 5.8 - Teor de antocianinas monoméricas dos extratos obtidos com fluido supercrítico expresso em equivalente de cianidina 3-glicosídeo (EC3G).

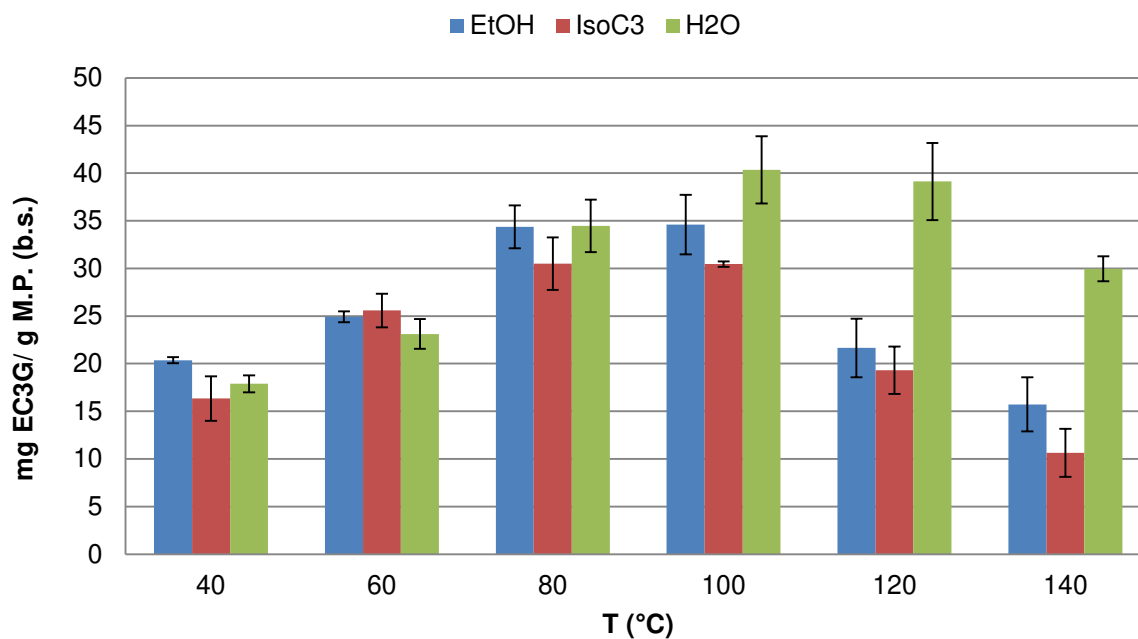


Figura 5.9 - Teor de antocianinas monoméricas dos extratos obtidos com líquido pressurizado expresso em equivalente de cianidina 3-glicosídeo (EC3G).

Os resultados de rendimento de antocianinas monoméricas reportados na literatura são bastante diversos variando não só com os métodos de extração, solventes e condições operacionais utilizados como também com a variedade da matéria-prima, época da colheita e tipos de pré-tratamento da matéria-prima utilizados. Os resultados reportados neste trabalho são superiores aos obtidos por Rufino et al (2010) e Santos et al (2010). Rufino et al (2010), utilizando método convencional, obtiveram teor de antocianinas de 4,12 mg/ g de matéria-prima (b.s.). Santos et al (2010) avaliaram a otimização de extração de antocianina a partir de casca de jabuticaba utilizando ABE, UAE, ABE + UAE e Soxhlet. Os teores de antocianinas variaram em torno de 4,5 a 6 mg EC3G/ g de matéria-prima seca de acordo com os métodos de extração utilizados. Por outro lado, Terci (2004) obteve um teor de antocianinas em torno de 314 mg/ g de matéria-prima (b.s.) obtidos por maceração por 24 h em metanol com razão S/F (3:1, v/m) a partir de casca de jabuticaba. Este resultado é bem superior ao obtido neste trabalho tanto por SFE quanto por PLE. A mesma autora identificou por HPLC as principais antocianinas presentes nos extratos de jabuticaba que em ordem decrescente de concentração são: cianidina-3-glicosídeo, peonidina-3-glicosídeo e delphinidina-3-glicosídeo.

5.3.4 Atividade antioxidante

Os resultados de atividade antioxidante pelo método colorimétrico com o radical DPPH expressam a capacidade de interação dos compostos antioxidantes presentes nas amostras com o radical DPPH de maneira que quanto maior a capacidade de degradação do radical DPPH de uma amostra maior a sua capacidade antioxidante. Nas Tabela 5.3 e Tabela 5.6 estão apresentados os perfis de atividade antioxidante obtidos pelos métodos DPPH e FRAP. A metodologia DPPH encontra-se expressa em 3 diferentes formas a fim de facilitar comparações com dados prévios e futuros da literatura: (i) percentual de inibição (PI, %), (ii) concentração efetiva (EC_{50} - *effective concentration*, mg/cm³), e (iii) equivalente de Trolox (μ mol ET/ g MP, b.s.). A atividade antioxidante obtida pelo método FRAP encontra-se expressa apenas em função de equivalente de Trolox (μ mol ET/ g MP, b.s.).

Observando as Tabela 5.3 e Tabela 5.4 é possível verificar que os perfis de percentagem de inibição (PI) dos extratos alcoólicos apresentaram-se maximizados a pressão intermediária de 20 MPa para ambas as temperaturas 50 e 60 °C. Por outro lado, os extratos aquosos (Tabela 5.5) apresentaram aumento crescente de atividade antioxidante com o aumento da pressão. O acréscimo de temperatura teve em geral um efeito deletério na atividade antioxidante dos extratos o que provavelmente está relacionado com a degradação térmica de compostos termossensíveis como é o

caso de alguns antioxidantes. O maior valor de PI foi obtido utilizando água a 30 MPa e 50°C seguido por isopropanol e etanol a 20 MPa e 50°C. No caso dos extratos obtidos por PLE (Tabela 5.6) é possível observar que para todos os três solventes utilizados a atividade antioxidante foi maximizada nas condições intermediárias de temperatura de 80 a 100°C. Os maiores valores de atividade antioxidante foram obtidos para o etanol a 80°C, água a 100°C e isopropanol também a 100°C.

A concentração efetiva (EC_{50} – *effective concentration*), é definida como a concentração de extrato ou amostra necessária para reduzir em 50% a concentração inicial da solução controle do radical DPPH. Dessa maneira, quanto menor os valores de EC_{50} maiores são os valores de atividade antioxidante de forma que PI e EC_{50} são inversamente proporcionais. Assim, a fim de facilitar a comparação entre os resultados e suas correlações dos mesmos, a concentração efetiva foi expressa como EC_{50}^{-1} , cujos valores confirmaram as PI, ou seja, maiores valores de atividade antioxidante foram obtidos para os cossolventes alcoóis a pressões intermediárias de 20 MPa e para os extratos aquosos a pressão máxima de 30 MPa para ambas as temperaturas. Assim como observado para os extratos supercríticos os resultados de atividade antioxidante expressos em EC_{50}^{-1} dos extratos obtidos por PLE confirmam os resultados expressos em PI onde observa-se que os maiores valores de atividade antioxidante foram obtidos a 80 e 100°C para o etanol, água e isopropanol, respectivamente. Os mesmos perfis de atividade antioxidante mencionados acima foram observados para os valores expressos em equivalentes de Trolox ($\mu\text{mol TE/g MP}$, b.s.) obtidos tanto por DPPH quanto por FRAP. Metodologias de análise de atividade antioxidante mais detalhadas como ORAC e métodos *in vivo* precisam ser realizadas a fim de avaliar a biodisponibilidade dos compostos antioxidantes.

Tabela 5.3 - Atividade antioxidante dos extratos obtidos por extração com fluido supercrítico (SFE) expressa pelos métodos DPPH e FRAP utilizando etanol (EtOH) como cossolvente.

Cossolvente	T (°C)	P (MPa)	DPPH			FRAP	
			PI (%)	EC ₅₀ (mg/cm ³)	EC ₅₀ ⁻¹	ET (μmol/g MP, b.s.)	ET (μmol/g MP, b.s.)
EtOH	50	10	13,1 ± 0,2	1,8 ± 0,1	0,56 ± 0,04	1087 ± 16	1072,15 ± 8,68
		15	13,8 ± 0,14	1,53 ± 0,01	0,66 ± 0,00	1142,49 ± 10,04	1126,82 ± 5,86
		20	15,31 ± 0,08	1,04 ± 0,05	0,96 ± 0,05	1249,50 ± 5,71	1228,53 ± 5,86
		25	11,7 ± 0,2	1,9 ± 0,2	0,52 ± 0,06	983,17 ± 17,58	960,76 ± 15,59
		30	8,6 ± 0,7	2,8 ± 0,9	0,4 ± 0,1	759,94 ± 50,22	735,04 ± 11,80
	60	10	9,0 ± 0,1	2,39 ± 0,08	0,42 ± 0,01	787,86 ± 7,53	769,04 ± 7,36
		15	12,10 ± 0,06	1,46 ± 0,03	0,69 ± 0,01	1015,62 ± 4,11	995,79 ± 3,92
		20	12,61 ± 0,06	1,8 ± 0,3	0,57 ± 0,09	1052,42 ± 4,57	1025,43 ± 1,55
		25	12 ± 2	1,3 ± 0,5	0,8 ± 0,3	1008,22 ± 162,95	1051,03 ± 68,83
		30	5 ± 1	3 ± 2	0,4 ± 0,2	495,22 ± 73,05	498,44 ± 67,16

T – Temperatura de extração.

P – Pressão de extração.

PI – Percentual de inibição de oxidação.

EC₅₀ – Concentração efetiva necessária para diminuir em 50% a concentração do radical DPPH.

ET – Equivalente de trolox.

Tabela 5.4 - Atividade antioxidante dos extratos obtidos por extração com fluido supercrítico (SFE) expressa pelos métodos DPPH e FRAP utilizando isopropanol (IsoC₃) como cossolvente.

Cossolvente	T (°C)	P (MPa)	DPPH			FRAP	
			PI (%)	EC ₅₀ (mg/cm ³)	EC ₅₀ ⁻¹	ET (μmol/g MP, b.s.)	ET (μmol/g MP, b.s.)
IsoC ₃	50	10	7,50 ± 0,38	2,23 ± 0,24	0,45 ± 0,05	680,04 ± 27,62	670,77 ± 20,94
		15	14,68 ± 1,15	1,09 ± 0,07	0,92 ± 0,06	1203,50 ± 84,00	1173,71 ± 75,70
		20	16,53 ± 0,07	1,00 ± 0,18	1,02 ± 0,18	1338,60 ± 5,25	1306,44 ± 7,79
		25	15,92 ± 0,48	1,10 ± 0,03	0,91 ± 0,02	1293,57 ± 35,15	1261,64 ± 22,54
		30	12,12 ± 0,20	1,50 ± 0,07	0,67 ± 0,03	1016,58 ± 14,61	983,02 ± 23,67
	60	10	7,76 ± 1,15	2,70 ± 0,52	0,38 ± 0,07	698,60 ± 83,55	697,77 ± 60,04
		15	10,96 ± 0,00	3,20 ± 0,05	0,31 ± 0,00	932,16 ± 0,23	922,21 ± 16,38
		20	14,15 ± 0,47	1,01 ± 0,13	1,00 ± 0,13	1164,60 ± 34,01	1119,13 ± 42,78
		25	10,16 ± 3,12	1,71 ± 1,16	0,76 ± 0,52	873,57 ± 227,82	948,50 ± 70,98
		30	11,80 ± 2,84	1,20 ± 0,67	0,98 ± 0,54	993,34 ± 206,82	948,97 ± 81,76

T – Temperatura de extração.

P – Pressão de extração.

PI – Percentual de inibição de oxidação.

EC₅₀ – Concentração efetiva necessária para diminuir em 50% a concentração do radical DPPH.

ET – Equivalente de trolox.

Tabela 5.5 - Atividade antioxidante dos extratos obtidos por extração com fluido supercrítico (SFE) expressa pelos métodos DPPH e FRAP utilizando água (H₂O) como cossolvente.

Cossolvente	T (°C)	P (MPa)	DPPH			FRAP	
			PI (%)	EC ₅₀ (mg/cm ³)	EC ₅₀ ⁻¹	ET (μmol/g MP, b.s.)	ET (μmol/g MP, b.s.)
H ₂ O	50	10	3,55 ± 0,54	5,55 ± 1,98	0,19 ± 0,07	391,27 ± 39,72	404,35 ± 12,18
		15	12,65 ± 0,54	1,20 ± 0,17	0,85 ± 0,12	1055,32 ± 39,72	1022,66 ± 15,19
		20	18,99 ± 0,14	0,73 ± 0,01	1,36 ± 0,02	1517,61 ± 10,04	1463,52 ± 43,41
		25	20,31 ± 0,13	0,69 ± 0,04	1,46 ± 0,09	1614,30 ± 9,82	1569,17 ± 5,71
		30	30,88 ± 0,26	0,48 ± 0,02	2,07 ± 0,10	2385,37 ± 18,72	2259,61 ± 77,37
	60	10	12,48 ± 0,15	2,16 ± 0,07	0,46 ± 0,01	1043,06 ± 10,96	1026,94 ± 8,59
		15	10,72 ± 0,33	3,03 ± 0,20	0,33 ± 0,02	914,25 ± 24,20	921,90 ± 17,54
		20	13,05 ± 2,83	1,93 ± 1,57	0,77 ± 0,63	1084,22 ± 206,59	1164,63 ± 64,00
		25	19,32 ± 0,10	0,66 ± 0,03	1,51 ± 0,06	1541,98 ± 7,08	1516,44 ± 8,54
		30	24,54 ± 0,36	0,41 ± 0,01	2,45 ± 0,05	1922,60 ± 26,25	1956,14 ± 13,87

T – Temperatura de extração.

P – Pressão de extração.

PI – Percentual de inibição de oxidação.

EC₅₀ – Concentração efetiva necessária para diminuir em 50% a concentração do radical DPPH.

ET – Equivalente de trolox.

Tabela 5.6 - Atividade antioxidante dos extratos obtidos por extração com líquido pressurizado (PLE) expressa pelos métodos DPPH e FRAP utilizando etanol (EtOH), isopropanol (IsoC₃) e água (H₂O) como solventes.

Solvente	P (MPa)	T (°C)	PI (%)	EC ₅₀ (mg/cm ³)	DPPH	FRAP	
					EC ₅₀ ⁻¹	ET (μmol/g MP, b.s.)	ET (μmol/g MP, b.s.)
EtOH	10,34	40	8,62 ± 1,33	2,24 ± 0,31	0,45 ± 0,06	761,55 ± 96,79	754,46 ± 63,03
		60	14,90 ± 0,56	1,10 ± 0,09	0,91 ± 0,08	1219,80 ± 40,86	1185,04 ± 19,54
		80	18,32 ± 0,30	0,70 ± 0,02	1,43 ± 0,04	1469,03 ± 21,69	1429,35 ± 43,86
		100	14,45 ± 0,56	1,09 ± 0,11	0,93 ± 0,09	1186,71 ± 40,63	1183,62 ± 89,16
		120	7,62 ± 0,35	2,23 ± 0,13	0,45 ± 0,03	688,75 ± 25,79	701,30 ± 14,96
		140	4,98 ± 0,14	3,64 ± 0,23	0,28 ± 0,02	495,70 ± 10,27	483,65 ± 13,93
IsoC ₃	10,34	40	8,32 ± 0,52	2,50 ± 0,41	0,41 ± 0,07	739,28 ± 37,89	726,94 ± 9,59
		60	11,42 ± 0,23	1,51 ± 0,03	0,66 ± 0,01	965,90 ± 16,89	951,05 ± 43,95
		80	13,88 ± 0,09	1,12 ± 0,02	0,89 ± 0,01	1145,07 ± 6,39	1128,27 ± 24,41
		100	15,15 ± 0,13	0,88 ± 0,00	1,14 ± 0,00	1237,56 ± 9,82	1222,53 ± 17,61
		120	9,47 ± 0,28	1,53 ± 0,04	0,65 ± 0,02	823,53 ± 20,54	837,93 ± 37,77
		140	8,85 ± 0,17	1,65 ± 0,08	0,61 ± 0,03	778,18 ± 12,56	781,64 ± 15,38
H ₂ O	10,34	40	6,78 ± 0,28	2,75 ± 0,07	0,36 ± 0,01	627,42 ± 20,32	605,41 ± 22,70
		60	10,32 ± 0,18	1,84 ± 0,07	0,54 ± 0,02	885,52 ± 12,78	865,04 ± 39,45
		80	14,61 ± 1,03	1,08 ± 0,15	0,93 ± 0,13	1198,34 ± 75,33	1210,35 ± 29,14
		100	16,82 ± 0,10	0,82 ± 0,00	1,23 ± 0,01	1359,75 ± 7,30	1337,57 ± 13,82
		120	16,09 ± 0,08	0,86 ± 0,02	1,17 ± 0,03	1306,64 ± 6,16	1289,39 ± 30,82
		140	12,84 ± 0,25	1,08 ± 0,06	0,92 ± 0,05	1069,37 ± 18,03	1043,42 ± 29,47

T – Temperatura de extração. P – Pressão de extração. PI – Percentual de inibição de oxidação. EC₅₀ – Concentração efetiva necessária para diminuir em 50% a concentração do radical DPPH. ET – Equivalente de trolox.

5.4 COR

A cor é um parâmetro visual de fundamental importância na percepção da qualidade indicando as nossas expectativas, percepções, a susceptibilidades e preferências por produtos. A cor frequentemente é a primeira característica sensorial avaliada ao se ter contato com um produto constituindo um importante parâmetro de qualidade podendo vir a ser utilizado como mecanismo de inspeção quanto a aceitação ou rejeição de um determinado produto (MONTES et al., 2005). A cor de produtos alimentícios, cosméticos e farmacêuticos pode ser o resultado da presença de pigmentos naturais na matriz utilizada, coloração formada durante processamento como aquecimento e estocagem ou ainda devido a adição de corantes sintéticos ou naturais aos produtos (WILSKA-JESZKA, 2006; SOCACIU, 2007).

A aplicação de sistemas colorimétricos baseados em sistemas uniformes de cor (CIELUV e CIELAB) e sistemas não-uniformes (CIEXYZ) constituem ferramentas valiosas na quantificação e caracterização instrumental da cor (MONTES et al., 2005). No presente estudo a cor foi caracterizada através do sistema CIELAB cujas coordenadas de cor L^* , a^* e b^* indicam a intensidade da cor bem como sua percepção cromática. O parâmetro relativo a luminosidade (L^*) é o atributo relacionado com a transmissão de luz observada indicando a sua intensidade através da sua similaridade com a cor preta ($L^* = 0$) e com a cor branca ($L^* = 100$) (MONTES et al., 2005). Portanto, a luminosidade de um material pode ser um importante parâmetro avaliador da concentração de uma solução. O parâmetro a^* indica a proximidade da cor das amostras da coloração verde (-) e vermelho (+), enquanto o parâmetro b^* indica a proximidade as cores amarelo (-) e azul (+). Além destes parâmetros outros parâmetros podem ser obtidos através dos mesmos como o *chroma* e o ângulo *hue*. O Chroma (C_{ab}^*) é o componente quantitativo de cromaticidade enquanto o ângulo hue (h_{ab}) é sua expressão qualitativa (MONTES et al., 2005). Hue é uma das principais propriedades de uma cor definida de acordo com o modelo CIELAB como o grau no qual um estímulo luminoso pode ser descrito como similar ou diferente dos estímulos descritos como vermelho, verde, azul e amarelo.

Nas Tabelas 5.7, 5.8 e 5.9 estão apresentados os atributos de cor L^* , a^* , b^* , h_{ab} e C_{ab}^* dos extratos supercríticos obtidos utilizando etanol, isopropanol e água como cossolventes, respectivamente. É possível observar que o parâmetro a^* apresentou valor positivo (+) para todas as condições analisadas indicando que os extratos apresentaram coloração avermelhada. Além disso, este parâmetro demonstra sofrer um aumento em seu valor com o aumento da temperatura indicando que os extratos obtidos a 60°C apresentaram coloração vermelha mais intensa que os extratos obtidos a 50°C. Além disso, maiores valores de a^* foram obtidos utilizando água como cossolvente seguido em ordem decrescente de intensidade pelo etanol e isopropanol. Este parâmetro

não sofreu influência significativa da pressão, exceto para o caso da água em que foi observado um aumento no valor do parâmetro a^* com a pressão. O parâmetro b^* apresentou valores negativos (-) para os extratos alcóolicos o que indica uma tendência para cor amarela, enquanto os extratos aquosos apresentaram valores positivos (+) para este parâmetro indicando coloração azul.

O parâmetro de luminosidade apresentou valores baixos variando de 5,2 a 13,5 indicando que todos os extratos supercríticos apresentaram coloração bem escura ($L^*=0$, preto). Através da combinação dos parâmetros a^* e b^* observa-se que os extratos aquosos apresentaram coloração violeta enquanto os extratos alcóolicos apresentaram coloração avermelhada. Tais resultados podem ser confirmados através da análise dos valores do ângulo Hue (h_{ab}), onde verifica-se que os extratos alcóolicos apresentaram valores que variaram de 338 a 359, enquanto os extratos aquosos apresentaram valores que variaram de 0,34 a 6,09. Contudo, esta percepção é mascarada pelos baixos valores de luminosidade os quais variaram de 5,22-14,78 % para os extratos etanólicos, 6,49-10,88 % para os extratos isopropílicos e 3,75 a 13,54 % para os extratos aquosos. De forma geral isto indica que os extratos supercríticos apresentaram alta concentração de sólidos solúveis. Além disso, observou-se que este parâmetro apresentou uma alta e significativa correlação ($r=0,89$) com o teor de antocianinas de forma que quanto maior o teor de antocianinas menor o valor do atributo L^* . O atributo L^* , o chroma (C_{ab}^*) apresentou correlação ($r = 0,74$) diretamente proporcional com o teor de antocianinas nos extratos supercríticos. A alta correlação desses atributos de cor indica sua possível utilização como parâmetros para a inspeção da qualidade química do teor de antocianinas nos extratos de jabuticaba obtidos via tecnologia supercrítica e líquido pressurizado minimizando os custos com controle de qualidade.

Na Tabela 5.10 estão apresentados os resultados de cor dos extratos obtidos utilizando líquido pressurizado. A coordenada a^* apresentou valores positivos (+) indicando cor vermelha para os extratos. Não foi observada grande variação de a^* com a temperatura de extração exceto para as temperaturas limites 40°C e 140°C. O atributo b^* dos extratos obtidos utilizando líquido pressurizado apresentou resultados bem similares aos extratos supercríticos observando-se valores negativos (-) para os extratos alcóolicos e positivos (+) para os extratos aquosos. Assim, a combinação das coordenadas a^* e b^* indica que os extratos alcóolicos apresentaram similarmente coloração avermelhada enquanto os extratos aquosos apresentaram coloração violeta. Os resultados de h_{ab} para os extratos alcóolicos não apresentaram grande variação cujos valores foram de 335,12 a 358,98. Por outro lado os extratos aquosos apresentaram valores que variaram de 9,82 a 58,36 indicando uma maior variação deste atributo com a temperatura. Os resultados apresentados neste trabalho são diferentes dos resultados reportados por Montes et al (2005) onde extratos de jabuticaba foram obtidos através do uso de misturas etanol:água e metanol:água. Uma possível

explicação para isto é a utilização de método de extração e solventes distintos dos utilizados no presente trabalho. A característica diferença de cor entre os estratos aquosos e etanólicos pode estar relacionada ao pH das soluções uma vez que a cor das antocianinas varia intensamente com a variação do pH. Além disso, outra hipótese é que o tipo de antocianina presente nas soluções bem como seus mecanismos de acilação podem interferir na coloração dos extratos obtidos.

Tabela 5.7 - Parâmetros de cor L^* , a^* , b^* , h_{ab} e C_{ab}^* dos extratos obtidos via extração com fluido supercrítico utilizando etanol (EtOH) como cossolvente.

Cossolvente	T (°C)	P (MPa)	L^*		a^*		b^*		h_{ab}		C_{ab}^*	
EtOH	50	10	10.93	± 0.09	7.00	± 0.07	-0.21	± 0.05	358.29	± 0.39	7.01	± 0.07
		15	14.78	± 0.04	4.72	± 0.05	-0.07	± 0.03	359.11	± 0.37	4.72	± 0.05
		20	5.22	± 0.69	5.82	± 0.23	-0.99	± 0.12	350.35	± 1.53	5.91	± 0.21
		25	6.01	± 0.14	3.47	± 0.49	-0.52	± 0.02	351.30	± 1.30	3.51	± 0.49
		30	11.82	± 0.09	5.83	± 0.04	-0.29	± 0.06	357.18	± 0.59	5.84	± 0.04
	60	10	5.22	± 0.07	6.58	± 0.13	-0.91	± 0.02	352.13	± 0.13	6.64	± 0.13
		15	9.01	± 1.09	4.25	± 0.09	-0.90	± 0.08	348.05	± 0.78	4.34	± 0.10
		20	5.22	± 0.69	5.82	± 0.23	-0.99	± 0.12	350.35	± 1.53	5.91	± 0.21
		25	7.68	± 0.72	3.47	± 0.49	-0.55	± 0.05	350.85	± 1.10	3.51	± 0.49
		30	10.65	± 0.56	5.83	± 0.04	-0.95	± 0.08	350.72	± 0.73	5.91	± 0.05

T: temperatura de extração; P: pressão de extração; h_{ab} : ângulo hue (cromaticidade qualitativa); C_{ab}^* : Chroma (cromaticidade quantitativa); L^* : luminosidade ($L^*=0$ preto e $L^*=100$ branco); a^* : verde (-) e vermelho (+); b^* : amarelo (-) e azul (+).

Tabela 5.8 - Parâmetros de cor L^* , a^* , b^* , h_{ab} e C_{ab}^* dos extratos obtidos via extração com fluido supercrítico utilizando isopropanol (IsoC3) como cossolvente.

Cossolvente	T (°C)	P (MPa)	L^*		a^*		b^*		h_{ab}		C_{ab}^*	
IsoC3	50	10	8.31	± 1.04	5.72	± 0.46	-0.43	± 0.28	355.74	± 2.46	5.74	± 0.47
		15	7.77	± 1.73	4.04	± 0.26	-1.57	± 0.61	338.80	± 8.15	4.36	± 0.23
		20	7.85	± 0.50	2.74	± 0.32	-0.23	± 0.31	353.31	± 5.53	2.76	± 0.35
		25	6.70	± 0.43	6.01	± 0.51	-0.81	± 0.16	352.35	± 1.14	6.07	± 0.53
		30	8.11	± 0.05	6.98	± 0.05	-0.36	± 0.35	355.44	± 0.95	6.99	± 0.05
	60	10	10.88	± 0.16	4.81	± 0.24	-1.21	± 0.36	346.03	± 3.42	4.97	± 0.32
		15	8.22	± 0.35	5.67	± 0.13	-0.57	± 0.26	354.32	± 2.49	5.70	± 0.15
		20	7.84	± 0.53	2.74	± 0.32	-0.07	± 0.06	358.45	± 1.29	2.74	± 0.32
		25	6.49	± 0.07	6.01	± 0.51	-0.59	± 0.14	354.30	± 1.54	6.04	± 0.51
		30	8.64	± 0.32	6.66	± 0.22	-0.38	± 0.31	356.68	± 2.78	6.68	± 0.20

T: temperatura de extração; P: pressão de extração; h_{ab} : ângulo Hue (cromaticidade qualitativa); C_{ab}^* : Chroma (cromaticidade quantitativa); L^* : luminosidade ($L^*=0$ preto e $L^*=100$ branco); a^* : verde (-) e vermelho (+); b^* : amarelo (-) e azul (+).

Tabela 5.9 - Parâmetros de cor L^* , a^* , b^* , h_{ab} e C_{ab}^* dos extratos obtidos via extração com fluido supercrítico utilizando água (H₂O) como cossolvente.

Cossolvente	T (°C)	P (MPa)	L^*		a^*		b^*		h_{ab}		C_{ab}^*	
H ₂ O	50	10	13.54	± 0.48	10.15	± 0.12	1.08	± 0.05	6.09	± 0.22	10.20	± 0.12
		15	10.95	± 0.76	9.04	± 0.07	0.55	± 0.06	3.46	± 0.40	9.05	± 0.06
		20	10.75	± 0.26	8.97	± 0.17	0.05	± 0.03	0.34	± 0.21	8.97	± 0.17
		25	7.06	± 0.06	8.25	± 0.21	0.24	± 0.05	1.66	± 0.29	8.25	± 0.21
		30	4.74	± 0.27	7.99	± 0.08	0.29	± 0.05	2.05	± 0.35	8.00	± 0.08
	60	10	11.95	± 0.11	6.12	± 0.11	0.27	± 0.08	2.56	± 0.79	6.13	± 0.10
		15	10.34	± 0.81	5.66	± 0.28	0.36	± 0.06	3.63	± 0.78	5.67	± 0.27
		20	10.73	± 0.45	5.90	± 0.13	0.15	± 0.03	1.42	± 0.22	5.90	± 0.13
		25	6.88	± 0.17	5.93	± 0.08	0.28	± 0.03	2.74	± 0.33	5.94	± 0.08
		30	3.75	± 0.52	6.90	± 0.12	0.42	± 0.32	3.51	± 2.75	6.92	± 0.09

T: temperatura de extração; P: pressão de extração; h_{ab} : ângulo hue (cromaticidade qualitativa); C_{ab}^* : Chroma (cromaticidade quantitativa); L^* : luminosidade ($L^*=0$ preto e $L^*=100$ branco); a^* : verde (-) e vermelho (+); b^* : amarelo (-) e azul (+).

Tabela 5.10 - Parâmetros de cor L^* , a^* , b^* , h_{ab} e C_{ab}^* dos extratos obtidos via extração com líquido pressurizado utilizando etanol (EtOH), isopropanol (IsoC3) e água (H2O) como solventes.

Solvente	T (°C)	L^*		a^*		b^*		h_{ab}		C_{ab}^*	
EtOH	40	5.983	± 0.117	5.893	± 0.205	-1.130	± 0.053	349.13	± 0.821	6.001	± 0.194
	60	5.983	± 0.117	5.893	± 0.205	-0.497	± 0.081	355.19	± 0.646	5.914	± 0.210
	80	4.843	± 0.202	8.873	± 0.080	-1.087	± 0.040	353.02	± 0.227	8.940	± 0.082
	100	5.380	± 0.255	5.607	± 0.610	-0.757	± 0.134	352.21	± 1.899	5.660	± 0.595
	120	7.963	± 0.391	6.300	± 0.148	-0.113	± 0.091	358.98	± 0.806	6.301	± 0.149
	140	10.813	± 0.156	5.893	± 0.205	-0.463	± 0.061	355.49	± 0.715	5.912	± 0.201
IsoC3	40	11.653	± 1.098	7.200	± 0.066	-0.827	± 0.158	353.46	± 1.184	7.248	± 0.083
	60	11.157	± 0.834	6.467	± 0.189	-0.717	± 0.372	353.69	± 3.262	6.513	± 0.196
	80	4.153	± 0.060	7.140	± 0.147	1.327	± 0.091	10.52	± 0.547	7.262	± 0.159
	100	4.750	± 0.488	6.807	± 0.430	-0.683	± 0.221	354.33	± 1.549	6.842	± 0.449
	120	6.047	± 0.057	5.073	± 0.047	-0.683	± 0.221	352.33	± 2.492	5.122	± 0.040
	140	12.963	± 0.076	1.487	± 0.224	-0.683	± 0.221	335.12	± 8.840	1.649	± 0.193
H2O	40	10.503	± 0.099	6.017	± 1.159	5.777	± 0.756	44.04	± 9.303	8.413	± 0.322
	60	7.223	± 0.266	4.527	± 0.367	4.417	± 0.377	44.29	± 4.613	6.338	± 0.121
	80	6.540	± 0.200	5.530	± 0.370	8.970	± 0.236	58.36	± 1.611	10.540	± 0.325
	100	4.673	± 0.170	6.210	± 0.121	9.777	± 0.267	57.57	± 0.528	11.583	± 0.273
	120	6.853	± 0.110	5.750	± 0.242	2.757	± 0.311	25.63	± 3.267	6.383	± 0.157
	140	8.620	± 0.335	5.453	± 0.424	0.933	± 0.184	9.82	± 2.574	5.536	± 0.391

T: temperatura de extração; P: pressão de extração; h_{ab} : ângulo hue (cromaticidade qualitativa); C_{ab}^* : Chroma (cromaticidade quantitativa); L^* : luminosidade ($L^*=0$ preto e $L^*=100$ branco); a^* : verde (-) e vermelho (+); b^* : amarelo (-) e azul (+).

5.5 ANÁLISE ECONÔMICA

5.5.1 Extração com Fluido Supercrítico

Na Figuras 5.10a, b e c estão apresentadas as estimativas dos custos de manufatura (COM – *cost of manufacturing*) dos extratos brutos secos obtidos via tecnologia supercrítica utilizando etanol, isopropanol e água como cossolventes, respectivamente. A linha tracejada representa o preço de venda de exportação do extrato de jabuticaba o qual foi cotado em US\$ 69,90/kg na empresa 100% Amazonia Exportação e Representação Ltda (100% Amazonia, 2012). Este valor foi utilizado como valor de venda para os extratos supercríticos para estimativa do tempo de retorno do investimento. O cenário no qual os custos de manufatura foram estimados consiste na implantação de uma linha de produção de extrato supercrítico de jabuticaba na Fazenda Santa Maria, local onde as frutas são colhidas e a geléia de jabuticaba é produzida. Por esta razão e pelo fato deste resíduo ser comumente vendido para compostagem, o custo do resíduo de geléia de jabuticaba foi considerado nulo no estudo de viabilidade econômica apresentado neste trabalho.

Observando os dados apresentados na figura abaixo verifica-se que embora os custos de manufatura sofram influência das condições operacionais de extração como custo do cossolvente, temperatura e pressão utilizados na extração, o parâmetro que exerceu maior influência direta sobre a variação dos valores do COM foi o rendimento de extração onde o custo de manufatura (COM, \$/kg) é inversalmente proporcional ao rendimento global de extração ($X_{0,S/F}$). Através da Equação 4.11 observa-se que quanto maior o rendimento de extração maior é a taxa de produção (PR) e, portanto, menor é o custo de manufatura para a mesma condição de extração. Esta análise poderá ser melhor elucidada através da análise de componentes principais (PCA) realizada na Seção 5.6.1 a seguir. Outro efeito relevante é a influência do aumento de escala nos custos de manufatura o qual diminuiu com o aumento da capacidade volumétrica dos extratores de 0,05 a 0,5 m³. Isso demonstra que embora a taxa de produção (PR) de extrato e os custos de manufatura (COM, US\$/ano) cresçam ambos linearmente com o aumento da capacidade dos extratores, este último apresenta um aumento menos acentuado que o primeiro. Este fenômeno deve-se provavelmente devido a aplicação da metodologia de Chilton (regra dos 0,6) para a estimativa dos custos dos equipamentos com o aumento de escala.

Observando a Figura 5.10 nota-se que os menores valores de COM foram obtidos a 60°C para os cossolventes alcoois, não observando diferença significativa entre as temperaturas de extração ($p < 0,05$) quando utilizou-se água como cossolvente. Como mencionado anteriormente o aumento da capacidade dos extratores implica numa diminuição no COM de forma que os menores custos foram obtidos a 0,5 m³. Na Figura 5.10a o processo de extração supercrítica utilizando etanol

obteve menor COM a 60°C e 15 MPa. Para a extração utilizando isopropanol como cossolvente (Figura 5.10b) o menor COM foi obtido a 60 °C e 20 Mpa. No caso dos extratos aquosos os valores mínimos de custo de manufatura foram obtidos a 50 °C e 25 MPa e a 60°C e 30 MPa. Santos, Veggi e Meireles (2010) trabalharam com extração em leite agitado e extração assistida por ultrasom de casca de jabuticaba obtendo os valores mínimos de custos de manufatura iguais a US\$ 1016,88/kg e US\$ 794,46/kg a 0,05 m³ e US\$ 422,18/kg e US\$ 401,21/kg a 0,3 m³, respectivamente. Tais valores são bem mais altos do que os custos de manufatura dos extratos obtidos no presente trabalho utilizando fluido supercrítico. Este fenômeno deve-se provavelmente aos baixos rendimentos de extração obtidos utilizando estes métodos quando comparados aos rendimentos obtidos por SFE.

Nas Tabelas 5.11, 5.12 e 5.13 estão apresentados os tempos de retorno de investimento e os componentes percentuais dos custo de manufatura dos extratos supercríticos obtidos utilizando etanol, isopropanol e água como cossolventes, respectivamente. Observa-se que para todas as condições de extração estudadas houve um aumento em CRM e CUT e diminuição em COL e FCI com o aumento de escala. A temperatura e a pressão de extração não exerceram influência significativa nos componentes dos custos de manufatura. Contudo, o cossolvente ou solvente utilizado exerceu influência significativa no CRM e FCI. O custo do cossolvente e solvente utilizados nos processos SFE e PLE, respectivamente, exerceu influência no CRM obtendo valores mais baixos para a água (US\$ 0,04/ kg), seguido do etanol (US\$ 0,85/ kg) e o valor mais alto foi obtidos para o isopropanol (US\$ 1,45/ kg). Os custos da coluna de destilação e do liofilizador exerceram impacto significativo no FCI onde verifica-se que os maiores valores foram obtidos utilizando água devido ao alto custo dos liofilizadores empregados para a sua remoção.

O presente trabalho avaliou o tempo de retorno do investimento (PT – *payback time*) como parâmetro de viabilidade econômica do projeto de implantação de uma indústria de extratos naturais tendo como base um tempo de 15 anos. O tempo de retorno foi obtido através da razão entre o investimento total inicial e o lucro líquido (lucro bruto menos impostos) mais depreciação. Verifica-se que o tempo de retorno diminuiu significativamente com o aumento de escala e com o aumento do rendimento de extração. Sabendo-se que o lucro bruto é a receita menos o custo e gastos e que o preço de venda do extrato bruto de jabuticaba foi fixado de acordo com o preço concorrencial de US\$ 69,90/ kg, o tempo de retorno está diretamente relacionado com o COM. Dessa maneira, altos custos de manufatura implicam em altos tempos de retorno e vice-versa. Custos de manufatura acima de 15 anos foram considerados não viáveis economicamente (NV).

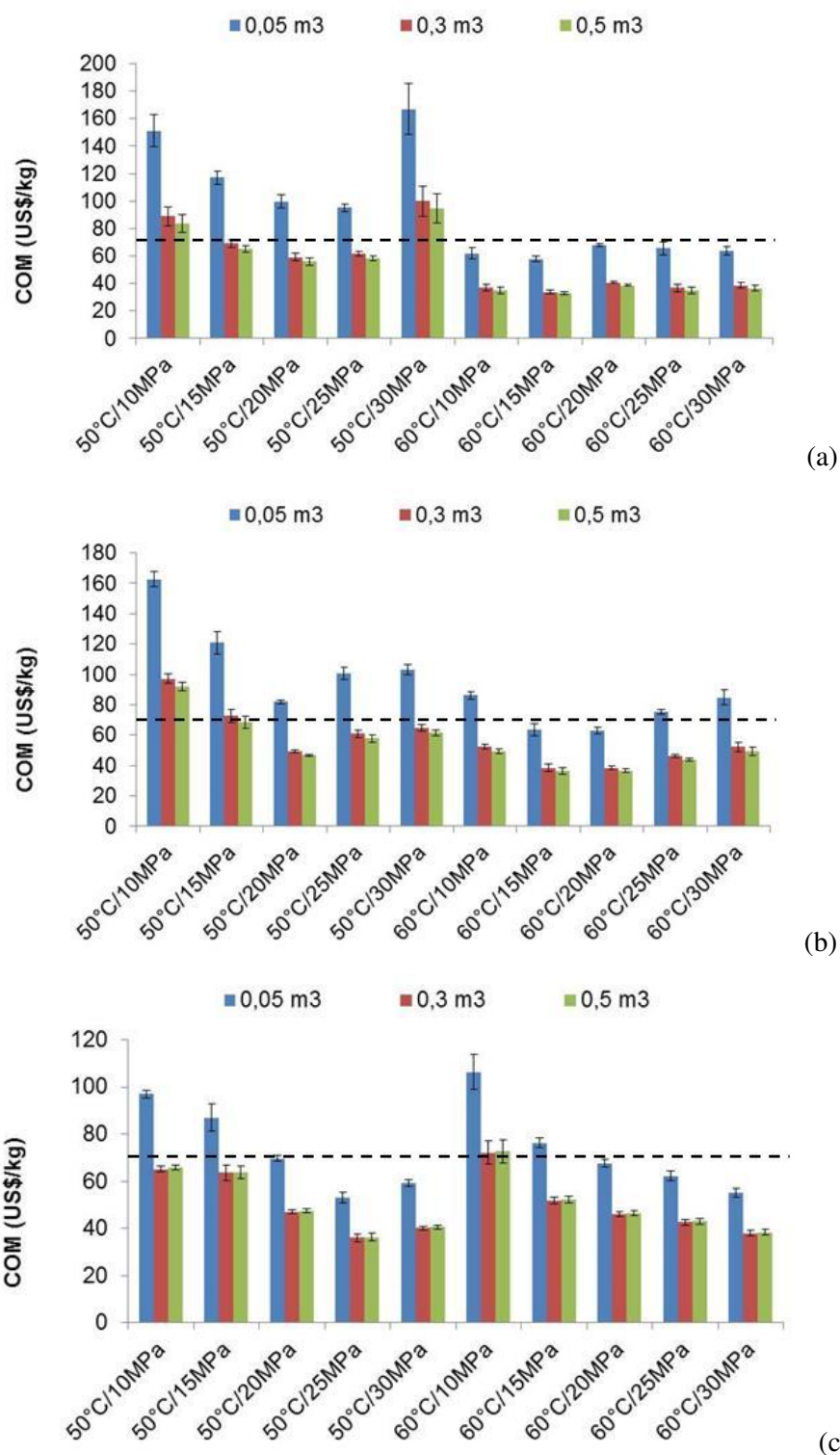


Figura 5.10 - Custo de manufatura (COM) dos extratos obtidos via extração com fluido supercrítico (SFE) utilizando etanol (a), isopropanol (b) e água (c) como cossolventes. A linha pontilhada representa o preço de comercialização do extrato cotado em US\$ 69,90/kg no mercado internacional (100% Amazonia, 2012).

Tabela 5.11 - Componentes dos custos de manufatura e tempo de retorno de investimento obtidos através de análise econômica dos extratos obtidos via extração com fluido supercrítico (SFE) utilizando etanol como cossolvente para os extratores com capacidade volumétrica de 0,05, 0,3 e 0,5 m³.

T (°C)	P (MPa)	Capacidade dos Extratores														
		0,05 m ³					0,3 m ³					0,5 m ³				
		CRM (%)	COL (%)	FCI (%)	CUT (%)	PT (anos)	CRM (%)	COL (%)	FCI (%)	CUT (%)	PT (anos)	CRM (%)	COL (%)	FCI (%)	CUT (%)	PT (anos)
50	10	10,6	40,5	16,4	32,5	NV	18,0	16,7	10,0	55,3	NV	19,1	14,0	8,3	58,7	NV
	15	11,2	40,2	16,3	32,3	NV	18,9	16,5	9,9	54,7	6,4 ± 0,3	20,0	13,8	8,2	58,0	4,0 ± 0,2
	20	11,8	39,9	16,2	32,1	NV	19,8	16,3	9,8	54,1	2,9 ± 0,1	21,0	13,6	8,1	57,3	2,1 ± 0,1
	25	12,3	39,7	16,1	31,9	NV	20,7	16,1	9,7	53,5	4,1 ± 0,1	21,9	13,4	8,0	56,7	2,8 ± 0,1
	30	12,9	39,4	16,0	31,7	NV	21,6	16,0	9,6	52,9	NV	22,8	13,3	7,9	56,0	NV
60	10	10,4	39,7	16,1	33,8	4,6 ± 0,3	17,4	16,2	9,7	56,7	0,9 ± 0,1	18,4	13,5	8,0	60,1	0,7 ± 0,0
	15	11,0	39,5	16,0	33,6	4,3 ± 0,2	18,3	16,0	9,6	56,1	0,8 ± 0,0	19,4	13,3	7,9	59,4	0,6 ± 0,0
	20	11,6	39,2	15,9	33,4	9,0 ± 0,2	19,2	15,8	9,5	55,5	1,1 ± 0,0	20,3	13,2	7,8	58,7	0,8 ± 0,0
	25	12,1	38,9	15,8	33,2	9,1 ± 0,7	20,1	15,6	9,4	54,9	0,9 ± 0,1	21,2	13,0	7,7	58,0	0,7 ± 0,1
	30	12,7	38,7	15,7	33,0	5,3 ± 0,3	21,0	15,5	9,3	54,3	0,9 ± 0,0	22,1	12,9	7,6	57,4	0,7 ± 0,0

T – temperatura de extração. P – pressão de extração. CRM (*cost of raw material*) – custo de matéria-prima. COL (*cost of labor*) – custo de mão-de-obra. FCI (*fixed cost of investment*) – custo fixo de investimento. CUT (*cost of utilities*) – custo de utilidades. PT (*payback time*) – tempo de retorno. NV – não viáveis economicamente.

Tabela 5.12 - Componentes dos custos de manufatura e tempo de retorno de investimento obtidos através de análise econômica dos extratos obtidos via extração com fluido supercrítico (SFE) utilizando isopropanol como cossolvente para os extratores com capacidade volumétrica de 0,05, 0,3 e 0,5 m³.

T (°C)	P (MPa)	Capacidade dos Extratores														
		0,05 m ³					0,3 m ³					0,5 m ³				
		CRM (%)	COL (%)	FCI (%)	CUT (%)	PT (anos)	CRM (%)	COL (%)	FCI (%)	CUT (%)	PT (anos)	CRM (%)	COL (%)	FCI (%)	CUT (%)	PT (anos)
50	10	14,1	39,6	16,0	30,4	NV	23,5	16,1	9,6	50,8	NV	24,9	13,4	8,0	53,8	NV
	15	14,6	39,3	15,9	30,2	NV	24,3	15,9	9,5	50,3	NV	25,8	13,2	7,9	53,2	NV
	20	15,2	39,0	15,8	30,0	NV	25,2	15,7	9,4	49,7	5,3 ± 5,1	26,6	13,1	7,8	52,6	3,3 ± 2,8
	25	15,7	38,8	15,7	29,8	NV	26,0	15,5	9,3	49,2	2,9 ± 1,7	27,4	12,9	7,7	52,0	2,0 ± 1,0
	30	16,3	38,5	15,6	29,6	NV	26,8	15,4	9,2	48,7	4,0 ± 0,3	28,2	12,8	7,6	51,4	2,8 ± 0,2
60	10	13,8	38,8	15,7	31,6	NV	22,8	15,6	9,3	52,3	3,2 ± 1,8	24,1	13,0	7,7	55,2	2,2 ± 1,2
	15	14,4	38,6	15,6	31,5	7,0 ± 0,5	23,6	15,4	9,2	51,8	1,5 ± 0,6	25,0	12,8	7,6	54,7	1,1 ± 0,5
	20	14,9	38,3	15,5	31,3	5,2 ± 0,2	24,4	15,2	9,1	51,2	0,9 ± 0,0	25,8	12,6	7,5	54,1	0,7 ± 0,0
	25	15,5	38,0	15,4	31,1	NV	25,2	15,1	9,0	50,7	1,1 ± 0,3	26,6	12,5	7,4	53,5	0,9 ± 0,2
	30	16,0	37,8	15,3	30,9	NV	26,0	14,9	8,9	50,2	1,8 ± 0,6	27,4	12,4	7,4	52,9	1,3 ± 0,4

T – temperatura de extração. P – pressão de extração. CRM (*cost of raw material*) – custo de matéria-prima. COL (*cost of labor*) – custo de mão-de-obra. FCI (*fixed cost of investment*) – custo fixo de investimento. CUT (*cost of utilities*) – custo de utilidades. PT (*payback time*) – tempo de retorno. NV – não viáveis economicamente.

Tabela 5.13 - Componentes dos custos de manufatura e tempo de retorno de investimento obtidos através de análise econômica dos extratos obtidos via extração com fluido supercrítico (SFE) utilizando água como cossolvente para os extratores com capacidade volumétrica de 0,05, 0,3 e 0,5 m³.

T (°C)	P (MPa)	Capacidade dos Extratores														
		0,05 m ³					0,3 m ³					0,5 m ³				
		CRM (%)	COL (%)	FCI (%)	CUT (%)	PT (anos)	CRM (%)	COL (%)	FCI (%)	CUT (%)	PT (anos)	CRM (%)	COL (%)	FCI (%)	CUT (%)	PT (anos)
50	10	5,9	36,0	24,9	33,3	NV	8,8	14,2	27,5	49,6	NV	8,7	11,6	30,6	49,2	NV
	15	6,5	35,7	24,7	33,1	NV	9,6	14,0	27,2	49,1	7,4 ± 0,1	9,5	11,4	30,3	48,7	7,9 ± 0,1
	20	7,1	35,5	24,6	32,9	10,0 ± 0,2	10,4	13,9	27,0	48,7	5,0 ± 0,3	10,3	11,3	30,1	48,3	8,4 ± 0,5
	25	7,6	35,3	24,4	32,7	4,2 ± 0,2	11,2	13,8	26,7	48,3	3,1 ± 0,1	11,1	11,2	29,8	47,8	3,4 ± 0,1
	30	8,2	35,1	24,3	32,5	5,6 ± 0,1	12,0	13,7	26,5	47,8	1,9 ± 0,1	11,9	11,1	29,5	47,4	2,1 ± 0,1
60	10	5,8	35,1	24,3	34,8	NV	8,5	13,7	26,5	51,3	2,3 ± 0,1	8,4	11,2	29,6	50,9	2,5 ± 0,1
	15	6,3	34,9	24,1	34,6	NV	9,3	13,6	26,3	50,9	NV	9,2	11,1	29,3	50,4	NV
	20	6,9	34,7	24,0	34,4	8,6 ± 0,2	10,1	13,4	26,1	50,4	3,8 ± 0,1	10,0	11,0	29,1	50,0	4,1 ± 0,1
	25	7,5	34,5	23,9	34,2	6,1 ± 0,2	10,9	13,3	25,8	50,0	2,9 ± 0,1	10,8	10,9	28,8	49,6	3,2 ± 0,1
	30	8,0	34,3	23,7	34,0	4,2 ± 0,1	11,7	13,2	25,6	49,5	2,5 ± 0,1	11,6	10,8	28,6	49,1	2,7 ± 0,1

T – temperatura de extração. P – pressão de extração. CRM (*cost of raw material*) – custo de matéria-prima. COL (*cost of labor*) – custo de mão-de-obra. FCI (*fixed cost of investment*) – custo fixo de investimento. CUT (*cost of utilities*) – custo de utilidades. PT (*payback time*) – tempo de retorno. NV – não viáveis economicamente.

5.5.2 Extração com Líquido Pressurizado

Na Figura 5.11 estão apresentadas as estimativas dos valores de COM dos extratos brutos secos obtidos utilizando líquido pressurizado. O valor do preço de venda de exportação dos extratos obtidos foi cotado com o mesmo valor dos extratos supercríticos, isto é, valor de exportação de US\$ 69,90/kg para extrato de jabuticaba liofilizado. Da mesma forma que para o caso do processo de extração supercrítica, o cenário no qual os custos de manufatura dos extratos obtidos com líquido pressurizado foram estimados consiste na implantação de uma de uma linha de produção de extrato de jabuticaba na Fazenda Santa Maria, local onde as frutas são colhidas e a geléia de jabuticaba é produzida. O custo do resíduo de geléia de jabuticaba foi considerado nulo no estudo de viabilidade econômica apresentado neste trabalho devido ao fato de o resíduo ser comumente vendido para compostagem. Observando os dados apresentados na Figura 5.11 a seguir verifica-se que embora os custos de manufatura sofram influência das condições operacionais de extração como custo do solvente, temperatura e pressão utilizados na extração, o parâmetro que exerce maior influência direta sobre a variação dos valores do COM é o rendimento de extração. Da mesma forma que para os extratos supercríticos observa-se que para todas as condições operacionais estudadas o custo de manufatura (COM, \$/kg) é inversalmente proporcional ao rendimento global de extração ($X_{0,S/F}$) e que os custos de manufatura diminuíram com o aumento da capacidade volumétrica dos extratores de 0,05 a 0,5 m³ assim como observado para os extratos supercríticos.

Os valores de COM dos extratos obtidos utilizando líquido pressurizado (Figura 5.11) foram menores que os custos dos extratos obtidos utilizando fluido supercrítico (Figura 5.10). Este comportamento provavelmente está associado a dois fatores: custo dos equipamentos e rendimento de extração. O custo das células de extração que utilizam fluido supercrítico foi maior que o das células que utilizam líquido pressurizado. Isto se deve provavelmente a um maior gasto com materiais e requisitos de segurança associados aos equipamentos que utilizam fluido supercrítico. Além disso, os rendimentos globais dos extratos que utilizaram líquido pressurizado foram um pouco maiores que os extratos supercríticos proporcionando uma diminuição dos seus custos. Os valores mínimos de COM foram observados utilizando célula de extração de 0,5 m³ nas faixas de temperatura de 80-120°C, 80-100°C e 80-140°C utilizando etanol, isopropanol e água, respectivamente. Santos, Veggi e Meireles (2012) estudaram a otimização e avaliação econômica da extração de casca de jabuticaba utilizando líquido pressurizado obtendo valores de custo de manufatura do extrato bruto de US\$ 19,26/kg, US\$ 17,24/kg e US\$ 15,53kg utilizando células de extração de capacidade de 0,05, 0,1 e 0,3 m³. No presente trabalho a extração com líquido pressurizado do resíduo de jabuticaba obteve valores mais altos de COM (US\$ 20-30/kg).

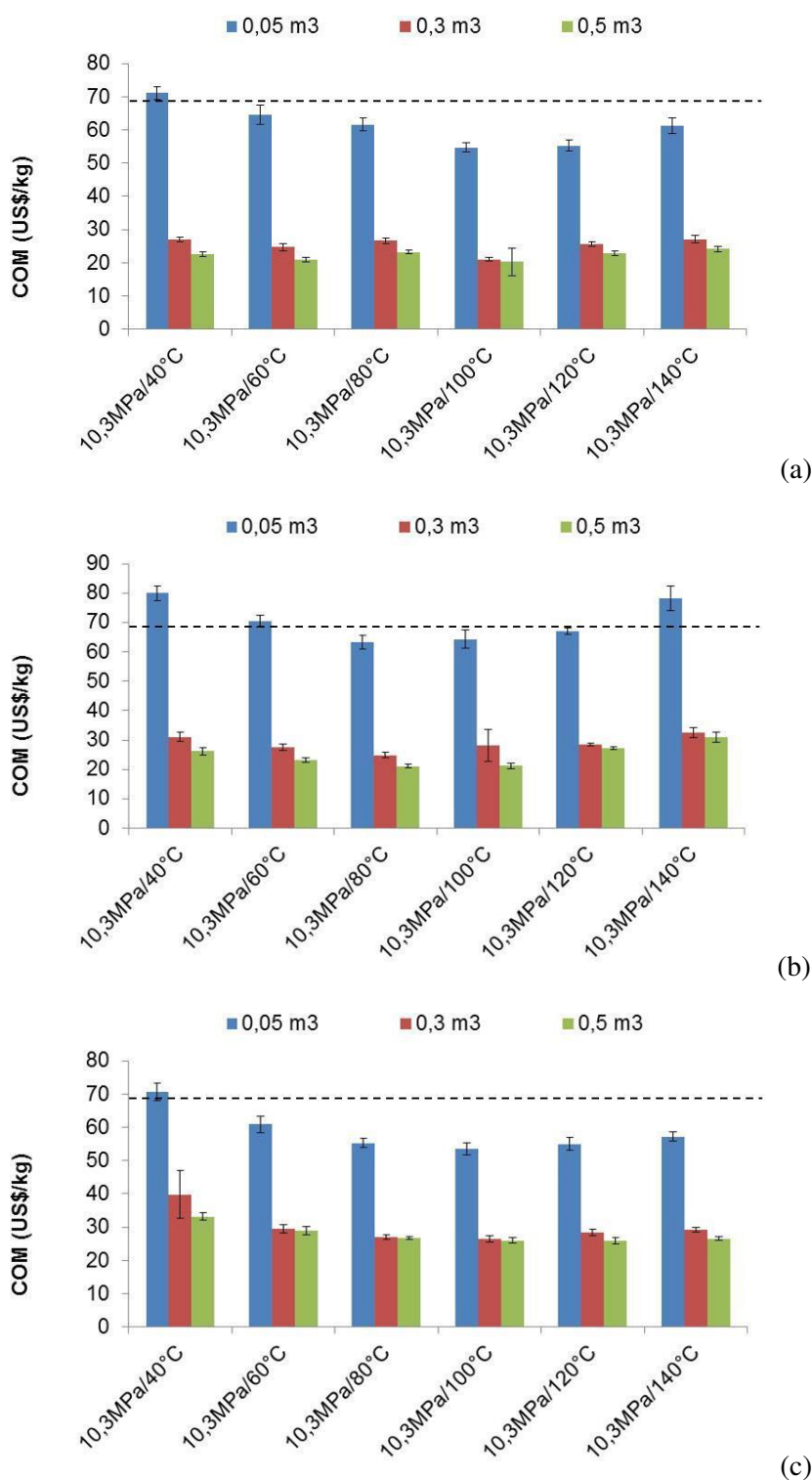


Figura 5.11 - Custo de manufatura (COM) dos extratos obtidos via extração com líquido pressurizado (PLE) utilizando etanol (a), isopropanol (b) e água (c) como solventes. A linha pontilhada representa o preço de comercialização do extrato cotado em US\$ 69,90/kg no mercado internacional (100% Amazonia, 2012)..

Na Tabela 5.14 estão apresentados os tempos de retorno de investimento e os componentes percentuais dos custos de manufatura dos extratos obtidos utilizando etanol, isopropanol e água como líquidos pressurizados. Observa-se que para todas as condições de extração estudadas houve um aumento em CRM e CUT e diminuição em COL e FCI com o aumento de escala. A temperatura e a pressão de extração não exerceram influência significativa nos componentes dos custos de manufatura. Contudo, o solvente utilizado exerceu influência significativa no CRM e FCI. O custo do cossolvente e solvente utilizados no processo PLE, exerceu influência no CRM obtendo valores mais baixos para a água (US\$ 0,04/ kg), seguido do etanol (US\$ 0,85/ kg) e o valor mais alto foi obtido para o isopropanol (US\$ 1,45/ kg). Os custos da coluna de destilação e do liofilizador exerceram impacto significativo no FCI onde verifica-se que os maiores valores foram obtidos utilizando água devido ao alto custo dos liofilizadores empregados para a sua remoção.

O presente trabalho avaliou o tempo de retorno do investimento (PT – *payback time*) como parâmetro de viabilidade econômica do projeto de implantação de uma indústria de extratos naturais obtidos utilizando líquido pressurizado tendo como base um tempo de vida de projeto de 15 anos. O tempo de retorno foi obtido através da razão entre o investimento total inicial e o lucro líquido (lucro bruto menos impostos) mais depreciação. Verifica-se que o tempo de retorno diminuiu significativamente com o aumento de escala e com o aumento do rendimento de extração. Sabendo-se que o lucro bruto é a receita menos o custo e gastos e que o preço de venda do extrato bruto de jabuticaba foi fixado de acordo com o preço concorrencial de US\$ 69,90/ kg, o tempo de retorno está diretamente relacionado com o COM. Dessa maneira, altos custos de manufatura implicam em altos tempos de retorno e vice-versa. Custos de manufatura acima de 15 anos foram considerados não viáveis economicamente (NV). A comparação entre a análise econômica realizada para os processos SFE e PLE mostra que os custos de manufatura obtidos utilizando líquido pressurizado foram cerca de US\$ 40/kg menor que os custos obtidos utilizando fluido supercrítico. Isso demonstra que com relação a avaliação econômica o processo PLE demonstrou ser mais economicamente viável que o processo SFE.

Tabela 5.14 - Componentes dos custos de manufatura e tempo de retorno de investimento obtidos através de análise econômica dos extratos obtidos via extração com líquido pressurizado (PLE) utilizando etanol (EtOH), isopropanol (IsoC₃) e água (H₂O) como solvente para os extratores com capacidade volumétrica de 0,05, 0,3 e 0,5 m³.

Capacidade dos Extratores																								
		0,05m ³							0,3m ³							0,5m ³								
	P (MPa)	T (°C)	CRM (%)	COL (%)	FCI (%)	CUT (%)	PT (ano)		CRM (%)	COL (%)	FCI (%)	CUT (%)	PT (ano)			CRM (%)	COL (%)	FCI (%)	CUT (%)	PT (ano)				
EtOH	10,34	40	4,9	30,6	54,7	9,8	12,0	± 1,20	12,8	13,5	47,8	25,9	1,9	± 0,07		15,3	9,7	44,1	30,9	1,4	± 0,05			
	10,34	60	4,8	30,4	54,3	10,5	9,3	± 0,98	12,7	13,3	47,1	27,0	1,7	± 0,09		15,0	9,4	43,1	32,5	1,3	± 0,06			
	10,34	80	12,0	28,0	50,1	9,9	8,2	± 0,61	27,8	10,8	38,4	23,0	1,6	± 0,07		31,8	7,4	33,9	26,8	1,2	± 0,05			
	10,34	100	3,9	30,4	54,3	11,4	6,5	± 0,31	10,3	13,2	46,8	29,8	1,4	± 0,04		31,3	7,3	33,3	28,1	1,1	± 0,11			
	10,34	120	3,8	29,2	52,2	14,8	6,2	± 0,19	9,9	12,7	45,0	32,4	1,3	± 0,04		30,1	7,0	32,1	30,8	1,0	± 0,03			
	10,34	140	3,4	26,5	47,3	22,7	5,9	± 0,23	9,0	11,5	40,8	38,8	1,3	± 0,05		27,3	6,4	29,1	37,3	1,0	± 0,04			
IsoC ₃	10,34	40	7,5	30,3	54,2	8,0	NV	± 6,08	19,5	13,2	46,6	20,8	2,3	± 0,15		23,2	9,4	42,8	24,7	1,7	± 0,11			
	10,34	60	7,5	30,1	53,9	8,5	11,7	± 1,12	19,2	12,9	45,6	22,4	1,9	± 0,08		22,7	9,1	41,7	26,5	1,4	± 0,06			
	10,34	80	7,4	30,0	53,5	9,1	8,8	± 0,74	19,0	12,7	45,1	23,2	1,7	± 0,08		22,3	9,0	40,9	27,8	1,2	± 0,05			
	10,34	100	6,6	30,0	53,7	9,7	9,2	± 1,03	24,5	11,6	41,0	22,8	1,8	± 0,29		19,9	9,1	41,5	29,5	1,3	± 0,08			
	10,34	120	6,1	28,1	50,3	15,4	8,0	± 0,13	15,7	12,0	42,5	29,7	1,5	± 0,03		18,6	8,5	38,9	34,0	1,1	± 0,02			
	10,34	140	5,1	23,5	42,0	29,3	7,1	± 0,38	13,2	10,0	35,6	41,2	1,4	± 0,07		15,6	7,1	32,5	44,8	1,0	± 0,06			
H ₂ O	10,34	40	1,0	39,9	55,9	3,2	11,8	± 1,40	2,1	13,9	77,3	6,7	4,7	± 1,12		2,1	8,5	82,6	6,9	3,8	± 0,17			
	10,34	60	1,0	39,5	55,4	4,1	8,2	± 0,72	2,0	13,6	75,9	8,5	3,1	± 0,16		2,1	8,3	80,9	8,7	3,2	± 0,16			
	10,34	80	1,0	39,2	54,9	5,0	6,7	± 0,34	2,0	13,4	74,4	10,2	2,8	± 0,09		2,0	8,1	78,9	10,9	2,8	± 0,08			
	10,34	100	1,0	38,8	54,4	5,9	6,3	± 0,40	2,0	13,1	73,0	11,9	2,6	± 0,11		2,0	8,0	77,9	12,1	2,7	± 0,11			
	10,34	120	1,0	38,4	53,8	6,7	6,7	± 0,24	2,0	13,0	72,3	12,7	2,8	± 0,10		2,0	7,9	77,1	12,9	2,8	± 0,10			
	10,34	140	0,9	36,3	50,8	12,0	6,6	± 0,16	1,9	12,3	68,3	17,6	2,7	± 0,07		1,9	7,5	72,8	17,8	2,8	± 0,07			

T – temperatura de extração. P – pressão de extração. CRM (*cost of raw material*) – custo de matéria-prima. COL (*cost of labor*) – custo de mão-de-obra. FCI (*fixed cost of investment*) – custo fixo de investimento. CUT (*cost of utilities*) – custo de utilidades. PT (*payback time*) – tempo de retorno. NV – não viáveis economicamente.

5.6 ANÁLISE DE COMPONENTES PRINCIPAIS

5.6.1 Extração com Fluido Supercrítico

As cargas fatoriais, os autovalores e o percentual de variância das análises de componentes principais dos extratos supercríticos estão apresentados na Tabela 5.15. A dimensão dos dados foi reduzida de 11 variáveis parcialmente correlacionadas para 2 componentes principais não-correlacionados PC1 e PC2, os quais somados foram capazes de explicar 88,55% dos resultados. O valor absoluto da carga fatorial é um indicador da participação do parâmetro analisado nos componentes principais. PC1 correlacionou-se inversamente com as variáveis em ordem decrescente $TPC > X_0 > TMA > TFC > EC_{50}^{-1} > TEAA^{FRAP} > TEAA^{DPPH} > PI$, enquanto apresentou-se altamente correlacionado com os custos de manufatura $COM_{X_0}^{0,3m^3} > COM_{X_0}^{0,5m^3} > COM_{X_0}^{0,05m^3}$. PC2 demonstrou alta correlação com os parâmetros de atividade antioxidante ($TEAA^{FRAP} > TEAA^{DPPH} > PI > EC_{50}^{-1}$).

Tabela 5.15 - Cargas fatoriais, autovalor e variância das variáveis com relação aos componentes principais PC1 e PC2 para os extratos obtidos utilizando fluido supercrítico.

Variável	PC1	PC2
X_0	-0,803	-0,536
TPC	-0,841	-0,135
TFC	-0,794	0,202
TMA	-0,798	-0,343
PI	-0,732	0,660
EC_{50}^{-1}	-0,775	0,553
$TEAA^{DPPH}$	-0,732	0,660
$TEAA^{FRAP}$	-0,749	0,646
$COM_{X_0}^{0,05m^3}$	0,837	0,444
$COM_{X_0}^{0,3m^3}$	0,845	0,495
$COM_{X_0}^{0,5m^3}$	0,838	0,516
Autovalor	6,973	2,767
Variância (%)	63,39	25,15
Variância acumulada (%)	63,39	88,55

PC (principal components): componentes principais; X_0 : rendimento global de extração; TPC (total phenolic content): teor de compostos fenólicos totais; TFC (total flavonoid content): teor de flavonoides totais; TMA (total monomeric anthocyanins): antocianinas monoméricas totais; PI: percentual de inibição de oxidação; EC_{50}^{-1} : concentração efetiva inversa; $TEAA^{DPPH}$ (Trolox equivalent antioxidant activity): atividade antioxidante expressa em Trolox equivalente pelo método DPPH; $TEAA^{FRAP}$ (Trolox equivalent antioxidant activity): atividade antioxidante expressa em Trolox equivalente pelo método FRAP; $COM_{X_0}^{0,05m^3}$: custo de manufatura para célula de extração de 0,05 m³; $COM_{X_0}^{0,3m^3}$: custo de manufatura para célula de extração de 0,05 m³; $COM_{X_0}^{0,5m^3}$: custo de manufatura para célula de extração de 0,05 m³.

É importante observar que a concentração efetiva máxima necessária para a redução da concentração do radical DPPH em 50 % (EC_{50}) possui uma relação inversa com a atividade antioxidante de forma que, quanto menor o valor de EC_{50} , maior a atividade antioxidante do material avaliado. Portanto, este valor foi transformado em um parâmetro chamado concentração efetiva inversa (EC_{50}^{-1}) a fim de avaliar melhor a sua correlação com os demais parâmetros de atividade antioxidante: $TEAA^{FRAP}$, $TEAA^{DPPH}$ e PI.

A representação gráfica das cargas fatoriais das variáveis estudadas e os *scores* das observações avaliadas está apresentado nas Figuras 5.12a e 5.12b, respectivamente. As relações entre os parâmetros analisados bem como as similaridades e as diferenças entre os experimentos SFE podem ser detectados através da investigação do gráfico PCA. Os parâmetros que apresentaram correlação significativa entre si estão apresentados em negrito na matriz de Pearson (Tabela 5.16). Os custos de manufatura apresentaram significativos coeficientes de correlação entre si como esperado; contudo, apresentaram-se inversamente correlacionados aos parâmetros X_0 , TMA, TPC, , TFC, AA, EC_{50}^{-1} , $TEAA^{FRAP}$, $TEAA^{DPPH}$. Este comportamento corrobora a premissa de que quanto maior o rendimento global de extração menor é o custo de manufatura. Portanto, analisando as Figura 5.12a e 5.12b é possível determinar as condições otimizadas onde obteve-se os melhores perfis químicos e os menores valores de custo de manufatura as quais estão destacadas com linhas tracejadas em vermelho. A condição de extração que apresentou maiores valores dos parâmetros de atividade antioxidante ($TEAA^{FRAP}$, $TEAA^{DPPH}$, PI, EC_{50}^{-1}) foi o extrato aquoso obtido a 50°C e 30. Por outro lado, as condições que apresentaram maiores rendimentos globais de extração, de compostos fenólicos e de antocianinas foram os extratos alcóolicos obtidos a 60°C utilizando etanol a 25 MPa e isopropanol a 20 MPa, respectivamente. Os baixos valores de coeficiente de correlação entre os compostos fenólicos e antocianinas com os métodos de atividade antioxidante avaliados sugerem uma possível co-extração de outros compostos antioxidantes, provavelmente menos polares que os compostos fenólicos, como vitamina C e taninos já reportados em outros estudos sobre a composição química da jabuticaba (REYNERTSON et al., 2008; MORTON, 1987). Futuros trabalhos científicos a fim de determinar a possível presença e quantificar o teor destes compostos nos extratos supercríticos deve ser realizada a fim de verificar sua possível influência na atividade antioxidante.

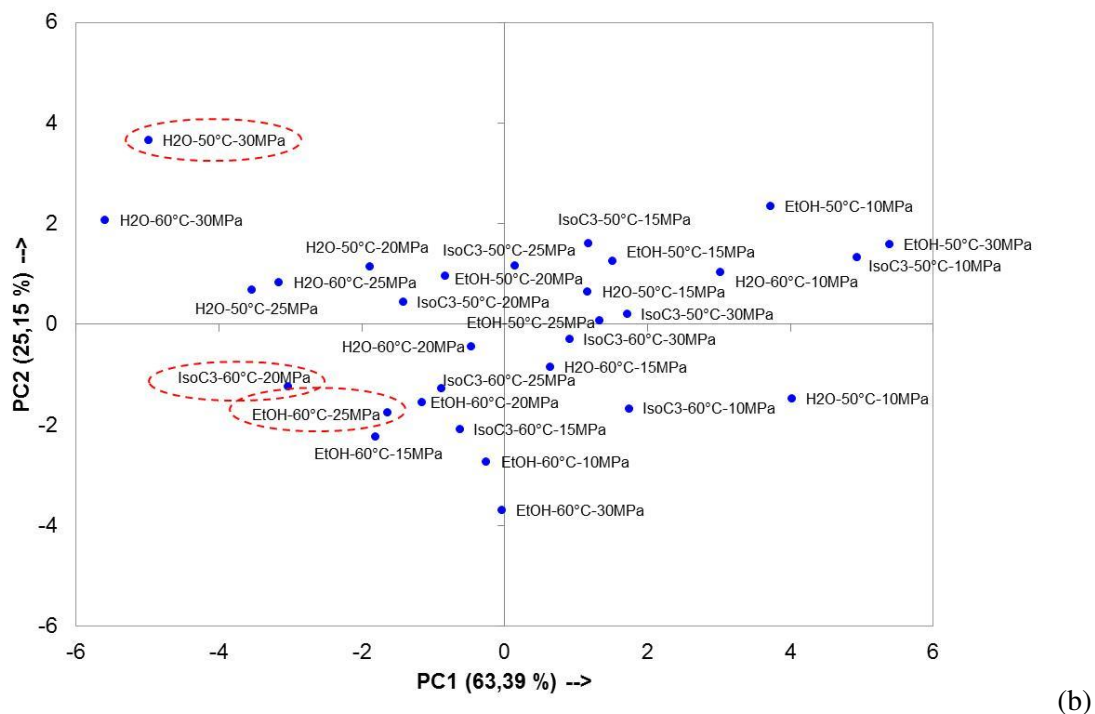
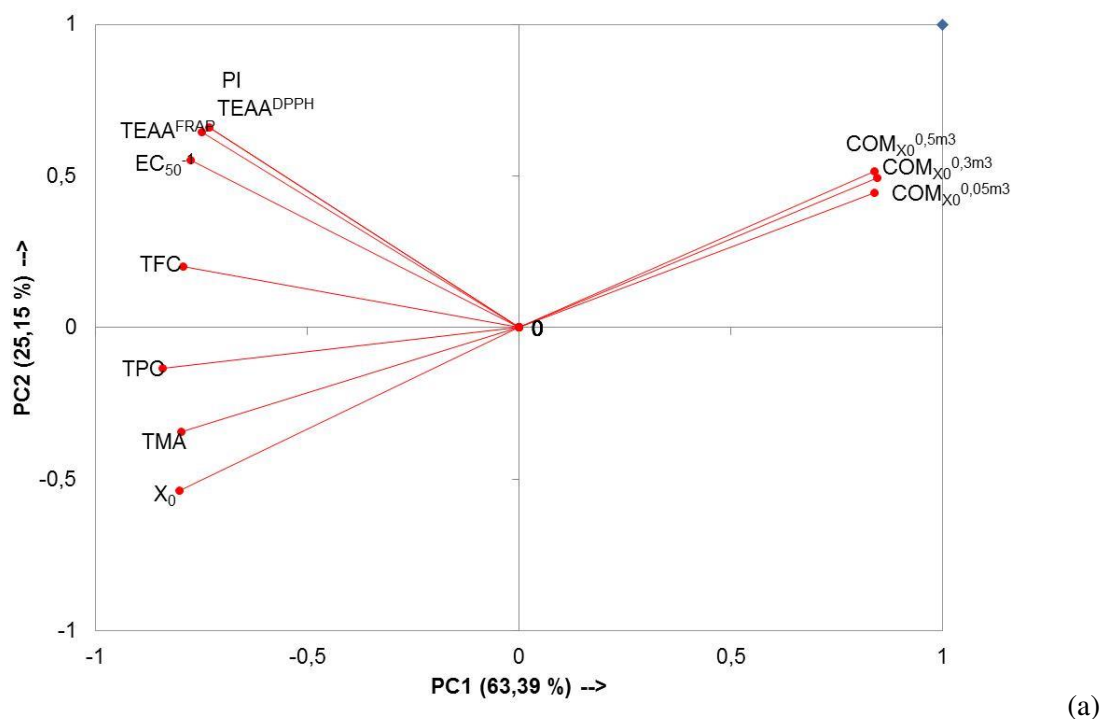


Figura 5.12 - Cargas fatoriais (a) e *scores* (b) das análises de componentes principais dos experimentos SFE utilizando etanol (EtOH), isopropanol (IsoC3) e água (H2O) como cossolventes. A linha tracejada em vermelho (---) indica a condição otimizada para a temperatura (T°C) e pressão (PMPa) de extração avaliadas.

Tabela 5.16 - Matrix de Pearson referente as correlações entre as análises químicas e avaliação econômica dos extratos obtidos utilizando fluido supercrítico.

	X_0	TPC	TFC	TMA	PI	EC_{50}^{-1}	TEAA ^{DPPH}	TEAA ^{FRAP}	COM _{X0} ^{0,05m³}	COM _{X0} ^{0,3m³}	COM _{X0} ^{0,5m³}
X_0	1	0,748	0,487	0,808	0,236	0,358	0,236	0,255	-0,897	-0,931	-0,936
TPC		1	0,728	0,683	0,491	0,527	0,491	0,525	-0,675	-0,718	-0,727
TFC			1	0,595	0,641	0,701	0,641	0,661	-0,516	-0,510	-0,504
TMA				1	0,344	0,448	0,344	0,353	-0,718	-0,791	-0,817
PI					1	0,913	1,000	0,996	-0,345	-0,316	-0,295
EC_{50}^{-1}						1	0,913	0,923	-0,406	-0,376	-0,355
TEAA ^{DPPH}							1	0,996	-0,345	-0,316	-0,295
TEAA ^{FRAP}								1	-0,363	-0,334	-0,313
COM _{X0} ^{0,05m³}									1	0,984	0,965
COM _{X0} ^{0,3m³}										1	0,996
COM _{X0} ^{0,5m³}											1

Em negrito estão destacados valores significativos ao nível de significância de 5% ($p < 0,05$). X_0 : rendimento global de extração; TPC (*total phenolic content*): teor de fenólicos totais; TFC (*total flavonoid content*): teor de flavonoides totais; TMA (*total monomeric anthocyanins*): antocianinas monoméricas totais; PI: percentual de inibição de oxidação; EC_{50}^{-1} : concentração efetiva inversa; TEAA^{DPPH} (DPPH Trolox equivalent antioxidant activity): atividade antioxidante expressa em Trolox equivalente pelo método DPPH; TEAA^{FRAP} (FRAP Trolox equivalent antioxidant activity): atividade antioxidante expressa em Trolox equivalente pelo método FRAP; COM_{X0}^{0,05m³}: custo de manufatura para célula de extração de 0,05 m³; COM_{X0}^{0,3m³}: custo de manufatura para célula de extração de 0,3 m³; COM_{X0}^{0,5m³}: custo de manufatura para célula de extração de 0,5 m³.

5.6.2 Extração com Líquido Pressurizado

Na Tabela 5.17 estão apresentados os resultados referentes as cargas fatoriais, os autovalores e o percentual de variância das análises de componentes principais dos extratos obtidos utilizando líquido pressurizado Tabela 5.15. Assim como para os extratos supercríticos, a dimensão dos dados foi reduzida de 11 variáveis parcialmente correlacionadas para 2 componentes principais não-correlacionados PC1 e PC2, os quais somados apresentam variância acumulada de 85,19%. PC1 apresentou alta correlação em ordem decrescente com as variáveis $TPC > TMA > TEAA^{FRAP} > TEAA^{DPPH} > PI > EC_{50}^{-1} > TFC > X_0$, enquanto PC 2 apresentou-se correlacionado em ordem decrescente com os custos de manufatura da seguinte forma: $COM_{X_0}^{0,3m^3} > COM_{X_0}^{0,5m^3} > COM_{X_0}^{0,05m^3}$.

Tabela 5.17 - Cargas fatoriais, autovalor e variância das variáveis com relação aos componentes principais PC1 e PC2 para os extratos obtidos utilizando líquido pressurizado.

Variável	PC1	PC2
X_0	0,713	-0,147
TPC	0,974	0,105
TFC	0,941	0,175
TMA	0,965	0,063
PI	0,947	0,200
EC_{50}^{-1}	0,925	0,247
$TEAA^{DPPH}$	0,947	0,200
$TEAA^{FRAP}$	0,950	0,188
$COM_{X_0}^{0,05m^3}$	-0,726	0,280
$COM_{X_0}^{0,3m^3}$	-0,599	0,750
$COM_{X_0}^{0,5m^3}$	-0,481	0,739
Autovalor	7,94	1,43
Variância (%)	72,18	13,01
Variância acumulada (%)	72,18	85,19

PC (principal components): componentes principais; X_0 : rendimento global de extração; TPC (total phenolic content): teor de compostos fenólicos totais; TFC (total flavonoid content): teor de flavonoides totais; TMA (total monomeric anthocyanins): antocianinas monoméricas totais; PI: percentual de inibição de oxidação; EC_{50}^{-1} : concentração efetiva inversa; $TEAA^{DPPH}$ (Trolox equivalent antioxidant activity): atividade antioxidante expressa em Trolox equivalente pelo método DPPH; $TEAA^{FRAP}$ (Trolox equivalent antioxidant activity): atividade antioxidante expressa em Trolox equivalente pelo método FRAP; $COM_{X_0}^{0,05m^3}$: custo de manufatura para célula de extração de 0,05 m³; $COM_{X_0}^{0,3m^3}$: custo de manufatura para célula de extração de 0,05 m³; $COM_{X_0}^{0,5m^3}$: custo de manufatura para célula de extração de 0,05 m³.

Nas Figuras 5.13a e 5.13b estão apresentadas as cargas fatoriais das variáveis estudadas e os scores das observações avaliadas, respectivamente. As relações entre os parâmetros analisados bem como as similaridades e as diferenças entre os experimentos PLE podem ser detectados através da investigação do gráfico PCA. Os parâmetros que apresentaram correlação significativa entre si estão apresentados em negrito na matriz de Pearson (Tabela 5.18). Quanto maior a correlação entre as variáveis mais próximos são os vetores na Figura 5.13a e mais próximo do valor 1,0 é o fator de correlação na matriz de Pearson. Os custos de manufatura apresentaram significativos coeficientes de correlação entre si como esperado; contudo, apresentaram-se inversamente correlacionados aos parâmetros X_0 , TMA, TPC, , TFC, AA, EC_{50}^{-1} , $TEAA^{FRAP}$, $TEAA^{DPPH}$. Assim como discutido com relação aos extratos supercríticos, este comportamento corrobora a premissa de que quanto maior o rendimento global dos extratos menor é o custo de manufatura. Portanto, analisando as Figura 5.13a e 5.13b é possível determinar as condições otimizadas onde obteve-se os melhores perfis químicos e os menores valores de custo de manufatura as quais estão destacadas com linhas tracejadas em vermelho. As condições de extração que apresentaram os maiores valores dos parâmetros de atividade antioxidante ($TEAA^{FRAP}$, $TEAA^{DPPH}$, PI, EC_{50}^{-1}) e dos rendimentos de compostos fenólicos, flavonóides e de antocianinas foram os extratos etanólico obtido a 80°C e o aquoso e isopropílico obtidos a 100°C, respectivamente. Diferentemente dos resultados obtidos com fluido supercrítico, os teores de fenólicos, flavonóides e antocianinas dos extratos obtidos via extração com líquido pressurizado apresentaram alta e significativa correlação com os parâmetros de atividade antioxidante avaliados. Assim, comparando as duas metodologias de extração é possível verificar a influência da polaridade total do solvente frente a presença ou ausência do CO_2 na mistura. Os líquidos pressurizados apresentaram polaridade elevada quando comparados ao CO_2 supercrítico modificado, o que explicaria uma maior extração de compostos polares e menor teor de compostos menos polares como taninos, por exemplo.

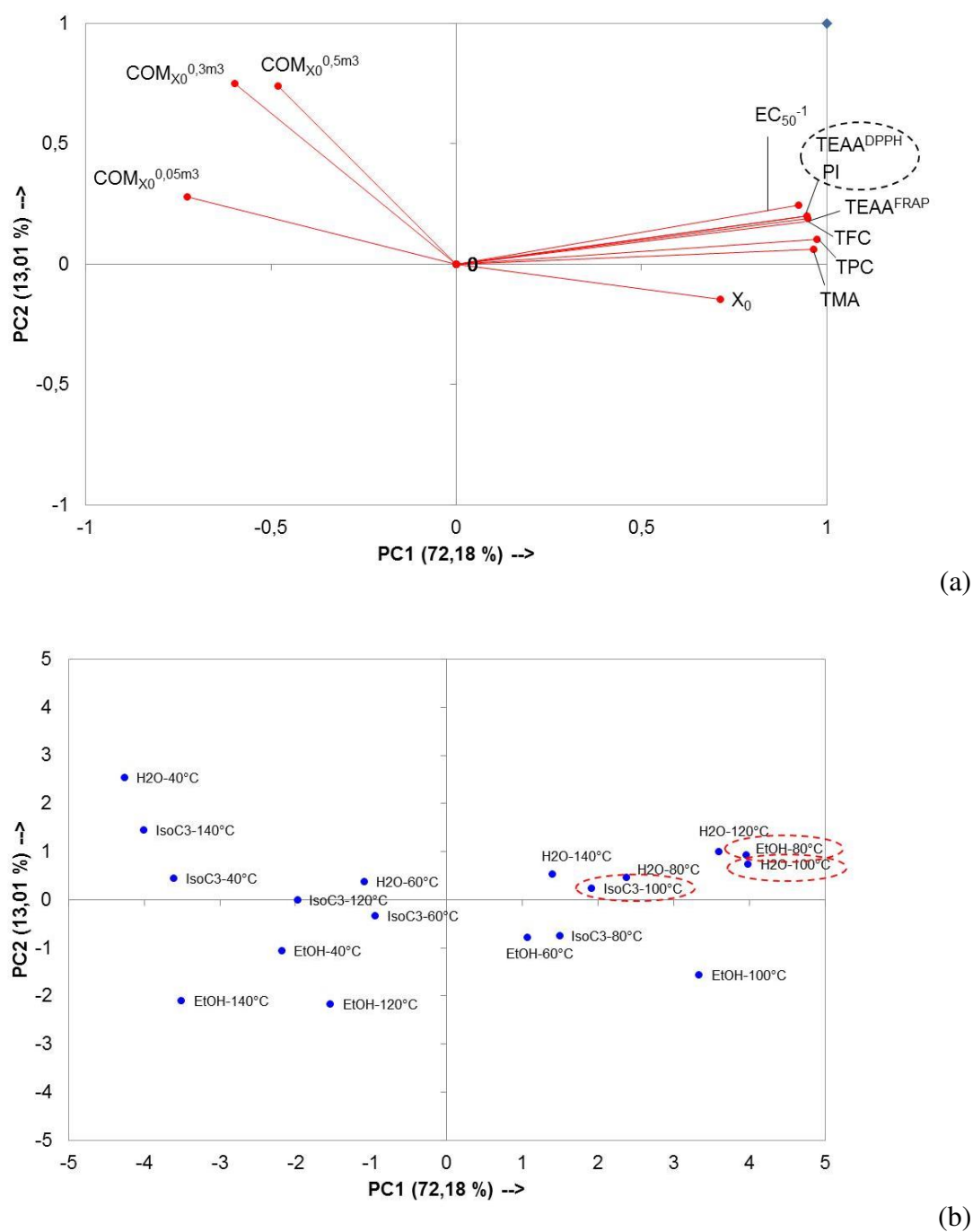


Figura 5.13 - Cargas fatoriais (a) e *scores* (b) das análises de componentes principais dos experimentos PLE utilizando etanol (EtOH), isopropanol (IsoC3) e água (H2O) como solventes. A linha tracejada em vermelho (---) indica a condição otimizada para a temperatura ($T^{\circ}C$) de extração avaliada.

Tabela 5.18 - Matriz de Pearson referente as correlações entre as análises químicas e avaliação econômica dos extratos obtidos utilizando líquido pressurizado.

	X_0	TPC	TFC	TMA	PI	EC_{50}^{-1}	TEAA ^{DPPH}	TEAA ^{FRAP}	COM _{X0} ^{0,05m³}	COM _{X0} ^{0,3m³}	COM _{X0} ^{0,5m³}
X_0	1	0,681	0,641	0,737	0,500	0,535	0,500	0,508	-0,969	-0,436	-0,166
TPC		1	0,974	0,978	0,918	0,884	0,918	0,922	-0,694	-0,496	-0,377
TFC			1	0,943	0,896	0,872	0,896	0,893	-0,634	-0,410	-0,336
TMA				1	0,884	0,854	0,884	0,887	-0,752	-0,493	-0,384
PI					1	0,974	1,000	0,999	-0,497	-0,463	-0,393
EC_{50}^{-1}						1	0,974	0,973	-0,500	-0,397	-0,335
TEAA ^{DPPH}							1	0,999	-0,497	-0,463	-0,393
TEAA ^{FRAP}								1	-0,506	-0,477	-0,396
COM _{X0} ^{0,05m³}									1	0,536	0,305
COM _{X0} ^{0,3m³}										1	0,861
COM _{X0} ^{0,5m³}											1

Em negrito estão destacados valores significativos ao nível de significância de 5% ($p < 0,05$). X_0 : rendimento global de extração; TPC (*total phenolic content*): teor de fenólicos totais; TFC (*total flavonoid content*): teor de flavonoides totais; TMA (*total monomeric anthocyanins*): antocianinas monoméricas totais; PI: percentual de inibição de oxidação; EC_{50}^{-1} : concentração efetiva inversa; TEAA^{DPPH} (DPPH Trolox equivalent antioxidant activity): atividade antioxidante expressa em Trolox equivalente pelo método DPPH; TEAA^{FRAP} (FRAP Trolox equivalent antioxidant activity): atividade antioxidante expressa em Trolox equivalente pelo método FRAP; COM_{X0}^{0,05m³}: custo de manufatura para célula de extração de 0,05 m³; COM_{X0}^{0,3m³}: custo de manufatura para célula de extração de 0,3 m³; COM_{X0}^{0,5m³}: custo de manufatura para célula de extração de 0,5 m³.

5.7 CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ULTRA EFICIÊNCIA

Devido a limitada disponibilidade de padrões de referência bem como a dificuldade na simultânea identificação de uma grande quantidade de compostos baseado apenas em comportamentos cromatográficos e espectro UV, a identificação e quantificação dos compostos fenólicos dos extratos obtidos nas condições otimizadas no presente trabalho foi realizada mediante utilização de cromatografia líquida de ultra-eficiência acoplada a espectrometria de massas (UPLC-ESI-MS). Para a identificação e quantificação dos compostos fenólicos e antocianinas foram utilizados os métodos desenvolvidos por Vieira (2013).

Neste trabalho 26 compostos, incluindo 5 antocianinas (definidina-3-glicosídeo, cianidina-3-glicosídeo, cianidina-3-rutinosídeo, perlagonidina-3-glicosídeo, malvinidina-3-glicosídeo), 12 ácidos fenólicos (ácidos: gálico, protocatecuico, hidroxibenzóico, clorogênico, cafeico, siríngico, p-coumárico, ferrúlico, sinápico, elágico, hidroxicinâmico, cinâmico), 1 flavanol (catequina), 3 flavonas (luteolina, crisina, apigenina) e 5 flavonóis (kaempferol, kaempferol-3-glicosídeo; kaempferol-3-rutenosídeo, quercetina, rutina), foram simultaneamente e tentativamente identificados nos extratos de jabuticaba obtidos via extração supercrítica e extração com líquido pressurizado. Previamente a identificação e quantificação dos compostos fenólicos os extratos foram submetidos ao processo de purificação com o objetivo de minimizar o *overlap* dos picos que foi notório quando extratos brutos foram diretamente injetados no sistema UPLC-MS. Através do processo de purificação via extração em fase sólida (SPE – *solid phase extraction*) utilizando cartuchos C18 os extratos foram fracionados em duas porções: uma porção constituída de compostos fenólicos não-antociânicos como ácidos fenólicos e demais flavonóides, e outra porção constituída por compostos antociânicos.

A cromatografia líquida de ultra eficiência (UPLC - *Ultra performance liquid chromatography*) é uma importante ferramenta de detecção de analitos em nível de traços e possibilita desenvolver análises mais rápidas e com maior eficiência de separação quando comparada ao sistema de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC - *High performance liquid chromatography*). Utilizando o sistema UPLC acoplado a um espectrometro de massas, obteve-se a completa separação de 5 padrões de antocianinas dentro de 7 min (VIEIRA, 2013). Na Figura 5.14 podem ser visualizados os cromatogramas dos íons monitorados. Em um sistema cromatográfico do tipo HPLC, a separação de antocianinas ocorre entre 40 e 60 min (WU e PRIOR, 2005; VIEIRA, 2013).

A separação das 5 antocianinas foi alcançada utilizando metanol e água acidificados com 2% de ácido fórmico como fases móveis. No sistema UPLC-ESI-MS a detecção dos componentes que eluem da coluna pode ser realizada pelo detector de arranjo de diodos, quando os componentes

absorvem na região do UV-vis e, em seguida esses compostos podem ser analisados no espectrômetro de massas, tendo cada íon molecular monitorado num dado intervalo de tempo.

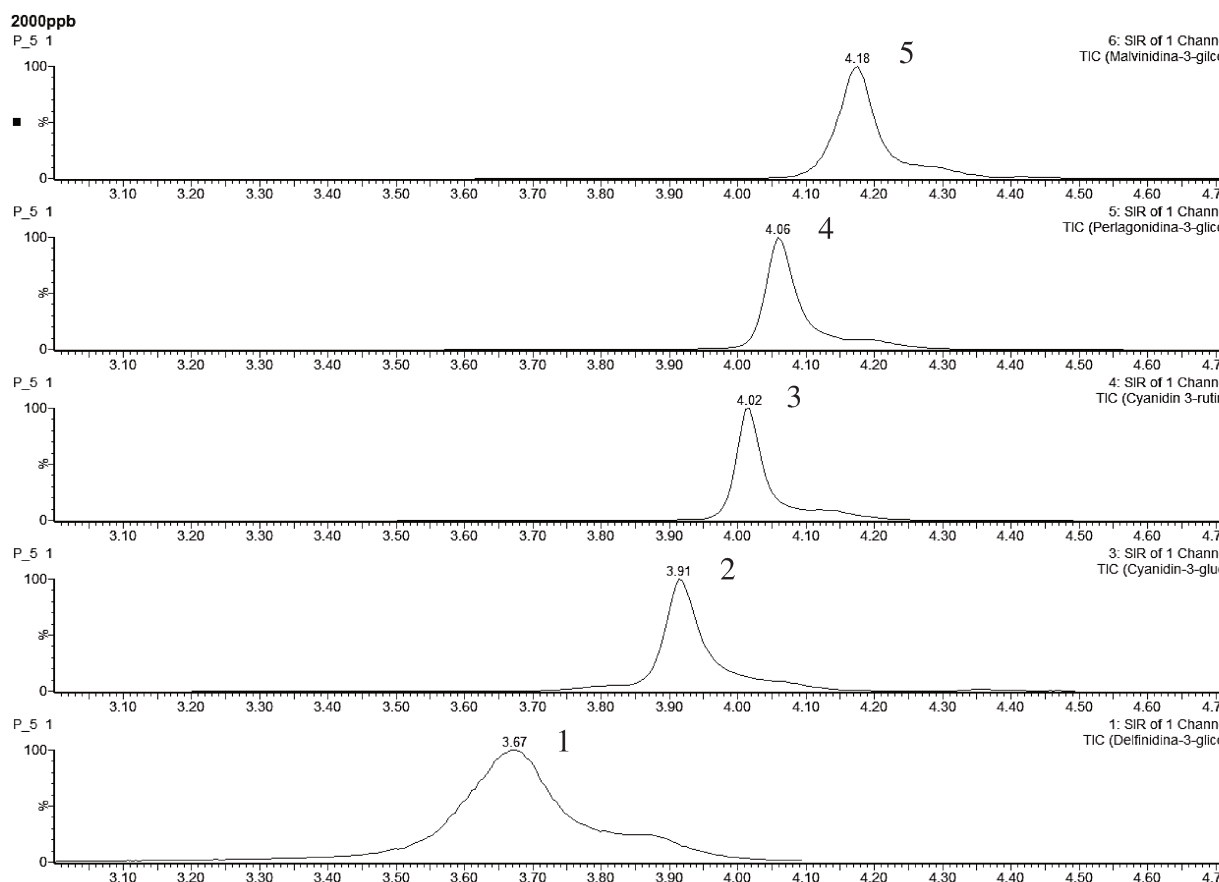


Figura 5.14 - Cromatograma dos íons das antocianinas analisadas: delphinidina-3-glicosídeo (1); cianidina-3-glicosídeo (2), cianidina-3-rutinosídeo (3), perlagonidina-3-glicosídeo (4) e malvinidina-3-glicosídeo (5).

Como as antocianinas apresentam boa ionização do cátion flavilium no modo positivo, este foi o modo utilizado para analisar estes compostos. Para a análise da mistura de antocianinas outros fatores foram otimizados como a voltagem do capilar e do extrator, a temperatura da fonte e a de dessolvatação, além dos fluxos de N_2 para o cone e para a dessolvatação (VIEIRA, 2013). A Tabela 5.19 apresenta o tempo de retenção, a voltagem do cone e a relação massa/ carga para cada antocianina analisada.

Tabela 5.19 - Tempo de retenção, relação massa/carga monitorada e voltagem do cone das antocianinas analisadas.

Nº	Composto	t _R ¹ (min)	VC ² (V)	Massa (m/z)
1	Definidina-3-glicosideo	3,67	33	465,2
2	Cianidina-3-glicosideo	3,91	35	449,2
3	Cianidina-3-rutinosideo	4,02	35	595,2
4	Perlagonidina-3-glicosideo	4,06	34	433,2
5	Malvinidina-3-glicosideo	4,18	33	493,2

¹ t_R: tempo de retenção; ² VC: voltagem do cone.

Os compostos fenólicos são amplamente distribuídos nos tecidos vegetais e encontrados em grande quantidade no extrato de jabuticaba como já foi visto nos tópicos anteriores. Dessa forma o conhecimento do perfil de compostos fenólicos no extrato de jabuticaba é de grande relevância. Assim, de forma análoga ao método de análise de antocianinas em UPLC-ESI-MS, foi utilizado o método de análise para compostos fenólicos desenvolvido também por Vieira (2013).

O método inclui 12 ácidos fenólicos (ácidos: gálico, protocatecuico, hidroxibenzóico, clorogênico, cafeico, sirínico, p-coumárico, ferrúlico, sinápico, elágico, hidroxicinâmico, cinâmico), 1 flavanol (catequina), 3 flavonas (luteolina, crisina, apigenina) e 5 flavonóis (kaempferol, kaempferol-3-glicosídeo; kaempferol-3-rutenosídeo, quercetina, rutina), totalizando 21 compostos fenólicos. No sistema UPLC-ESI-MS foi possível separar estes compostos em 12 min (VIEIRA, 2013).

Na Tabela 5.20 podem ser visualizados os tempos de retenção, a relação massa/carga monitorada nas análises e a voltagem do cone encontrada para cada compostos. Com relação ao tempo de análise, os resultados encontrados neste trabalho foram similares aos encontrados por Ojwang et al. (2012), que separou 8 antocianinas e 23 flavonóides de feijão-de-corda (*Vigna unguiculata*) em 7 e 11 min, respectivamente, utilizando um sistema UPLC-ESI-MS. Na Figura 5.15 podem ser visualizados os cromatogramas dos íons monitorados.

Tabela 5.20 - Tempo de retenção, relação massa/carga monitorada e voltagem do cone dos compostos fenólicos analisados.

Nº	Composto	t _R ¹ (min)	VC ² (V)	Massa (m/z)
1	Ácido gálico	0,43	30	169,0
2	Ácido protocatecuico	0,78	30	153,1
3	Acido hidroxibenzóico	1,35	30	137,1
4	(+) Catequina	2,04	35	289,0
5	Ácido clorogênico	2,13	30	353,0
6	Ácido cafeico	2,29	30	179,1
7	Ácido siríngico	2,88	35	197,0
8	Ácido p-coumárico	3,54	30	163,1
9	Ácido ferrúlico	3,92	30	193,1
10	Ácido sinápico	4,01	30	223,0
11	Ácido elágico	4,05	40	300,9
12	Ácido hidroxicinâmico	4,11	30	163,0
13	Rutina	4,11	40	609,0
14	Kaempferol-3-rutinosídeo	4,33	40	593,0
15	Kaempferol-3-glicosídeo	4,40	35	447,0
16	Luteolina	5,05	40	285,0
17	Quercetina	5,06	35	301,0
18	Ácido cinâmico	5,13	20	147,0
19	Apigenina	5,43	40	269,0
20	Kaempferol	5,51	40	285,0
21	Crisina	6,43	40	253,1

¹ t_R: tempo de retenção; ² VC: voltagem do cone.

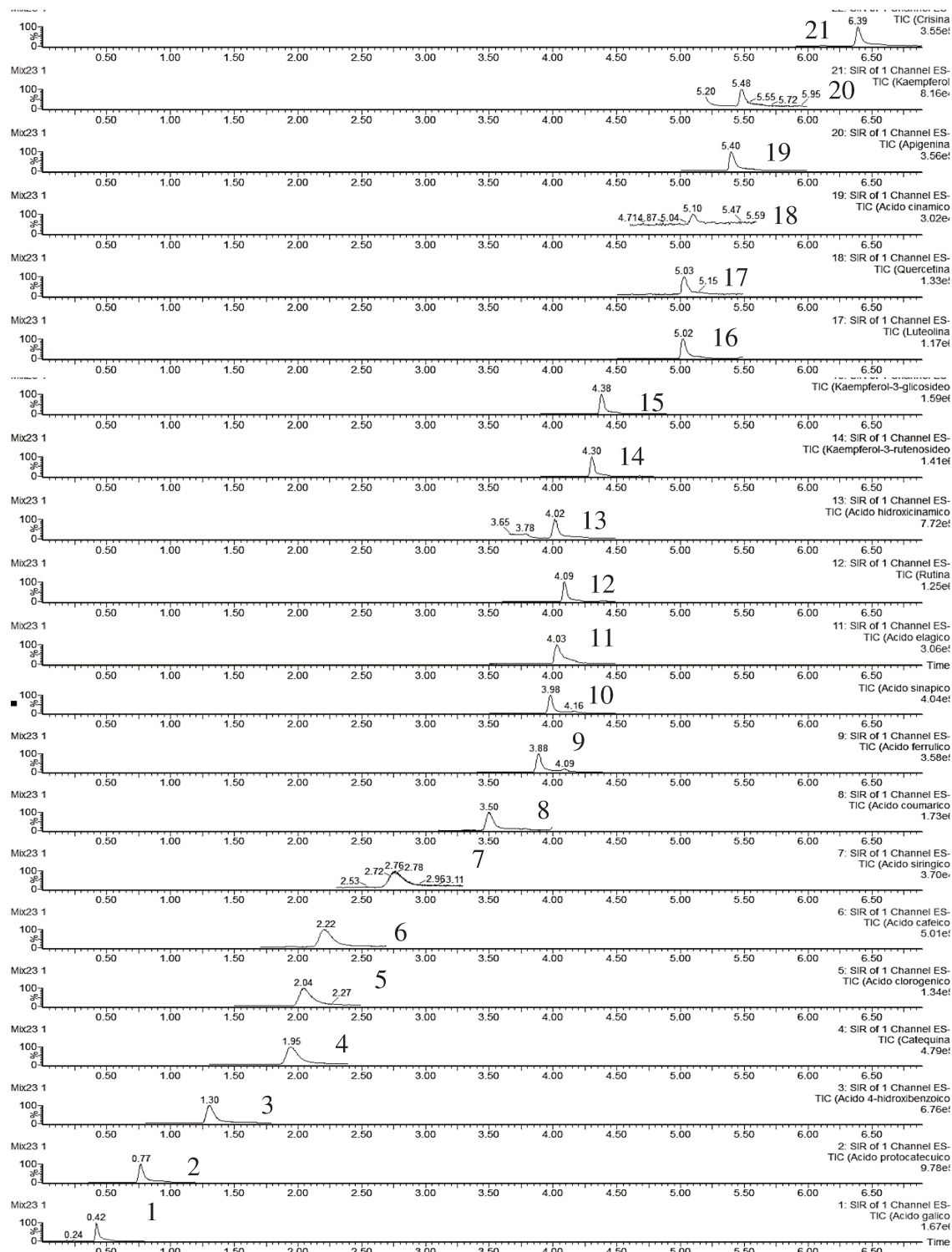


Figura 5.15 - Cromatograma dos íons dos compostos fenólicos analisados: ácido gálico (1), ácido protocatecuico (2), ácido hidroxibenzóico (3), catequina (4), ácido clorogênico (5), ácido cafeico (6), ácido sirínico (7), ácido p-coumárico (8), ácido ferrúlico (9), ácido sinápico (10), ácido elágico (11), rutina (12), ácido hidroxicinâmico (13), kaempferol-3-rutenosídeo (14), kaempferol-3-glicosídeo (15), luteolina (16), quercetina (17), ácido cinâmico (18), apigenina (19), kaempferol (20) e crisina (21).

Nas Tabelas 5.21 e 5.22 estão apresentados os perfis de compostos fenólicos (antociânicos e não-antociânicos) dos extratos de jabuticaba obtidos utilizando fluido supercrítico e líquido pressurizado nas condições operacionais otimizadas para cada um dos cossolventes e solventes utilizados, respectivamente. Foram identificadas como antocianinas majoritárias a cianidina-3-glicosídeo e a delphinidina-3-glicosídeo, sendo também identificada a presença da perlagonidina-3-glicosídeo. Tais resultados foram similares aos perfis antociânicos dos extratos de jabuticaba obtidos via métodos convencionais já reportados na literatura (REYNERTSON et al., 2008; WU et al., 2012). O teor de cianidina-3-glicosídeo dos extratos supercríticos aquosos apresentaram as concentrações mais elevadas seguidos pelos extratos etanólico e isopropílico. O mesmo perfil foi observado para a delphinidina-3-glicosídeo e perlagonidina-3-glicosídeo onde esta última não foi detectada para o extrato isopropílico obtido via SFE.

Os extratos obtidos utilizando líquido pressurizado demonstraram um perfil antociânico distinto onde observou-se que o etanol foi o solvente mais eficaz na extração da cianidina-3-glicosídeo e perlagonidina-3-glicosídeo sendo seguido em ordem decrescente pela água e pelo isopropanol. Já delphinidina-3-glicosídeo apresentou melhor rendimento utilizando a água como líquido pressurizado sendo seguida pelo uso de etanol e isopropanol. Os compostos fenólicos não-antociânicos identificados nos extratos obtidos via SFE e PLE foram o ácido elágico, ácido gálico, ácido protocatecuico e kaempferol-3-rutenosídeo. A presença dos ácidos gálico e elágico já foi previamente reportada em estudos sobre a caracterização química da jabuticaba (REYNERTSON et al., 2008; WU et al., 2012). Contudo a presença do ácido protocatecuico e do kaempferol-3-rutenosídeo foi identificada pela primeira vez neste trabalho.

Foi observado que o teor de compostos fenólicos e de antocianinas obtidos via UPLC-ESI-MS foi bem inferior quando comparado com os teores obtidos através das análises espectrofotométricas. A primeira hipótese para este comportamento é que a escolha dos padrões avaliados nas análises de UPLC-MS baseou-se na composição de compostos fenólicos e antocianinas previamente reportados na jabuticaba. Assim, compostos distintos às composições já reportadas, devido a processos de copigmentação com açúcares, ácidos orgânicos ou metais presentes na amostra, não podem ser detectados no UPLC-MS devido a falta desses padrões específicos; contudo, é possível que tais compostos estejam sendo detectados colorimetricamente no espectrofotômetro UV-vis. Uma outra explicação é que as análises espectrofotométricas foram realizadas nos extratos brutos enquanto os ensaios cromatográficos foram realizados nos extratos purificados os quais podem ter sofrido perda de compostos nos processos de purificação e separação de suas fases antociânicas e não-antociânicas de compostos fenólicos.

Tabela 5.21 – Identificação e concentração de compostos fenólicos antociânicos e não antociânicos dos extratos otimizados obtidos via extração com fluido supercrítico (SFE) utilizando etanol (EtOH), isopropanol (IsoC₃) e água (H₂O) como cossolvente.

Composto	t _R (min)	[M+H] ⁺ (m/z)	SFE (µg/g de extrato b.s.)		
			EtOH-60°C-25MPa	IsoC ₃ -60°C-20MPa	H ₂ O-50°C-30MPa
Delfinidina-3-glicosídeo	3,67	465,2	158,73 ± 5,34	75,00 ± 0,10	550,38 ± 12,15
Cianidina-3-glicosídeo	3,91	449,2	1932,57 ± 5,97	1110,56 ± 76,56	3504,92 ± 47,57
Perlagonidina-3-glicosídeo	4,06	433,2	0,38 ± 0,09	ND	2,18 ± 0,52
Ácido gálico	0,43	169	58,71 ± 3,11	20,91 ± 0,81	26,33 ± 1,25
Ácido protocatecuico	0,73	153,1	20,32 ± 0,86	17,11 ± 1,38	8,21 ± 0,54
Ácido elágico	4,04	300,9	600,92 ± 6,15	2675,01 ± 33,88	657,41 ± 14,06
Kaempferol-3-rutenosídeo	4,32	593	49,84 ± 2,71	14,16 ± 1,22	92,48 ± 0,24

ND: não detectado; t_R: tempo de retenção; b.s.: base seca.

Tabela 5.22 – Identificação e concentração de compostos fenólicos antociânicos e não antociânicos dos extratos otimizados obtidos via extração com fluido supercrítico (PLE) utilizando etanol (EtOH), isopropanol (IsoC₃) e água (H₂O) como solvente.

Composto	t _R (min)	[M+H] ⁺ (m/z)	PLE (µg/g de extrato b.s.)		
			EtOH-80°C	IsoC ₃ -100°C	H ₂ O-100°C
Delfinidina-3-glicosídeo	3,67	465,2	302,73 ± 12,28	169,92 ± 6,38	332,00 ± 1,68
Cianidina-3-glicosídeo	3,91	449,2	3189,76 ± 9,43	1358,75 ± 8,30	2400,68 ± 3,43
Perlagonidina-3-glicosídeo	4,06	433,2	3,21 ± 0,10	0,28 ± 0,01	1,21 ± 0,04
Ácido gálico	0,43	169	67,43 ± 0,84	35,09 ± 2,38	45,83 ± 2,60
Ácido protocatecuico	0,73	153,1	20,87 ± 1,13	31,47 ± 0,16	10,18 ± 0,47
Ácido elágico	4,04	300,9	767,36 ± 32,22	701,70 ± 47,65	498,28 ± 8,48
Kaempferol-3-rutenosídeo	4,32	593	29,74 ± 3,00	22,24 ± 0,36	102,94 ± 2,92

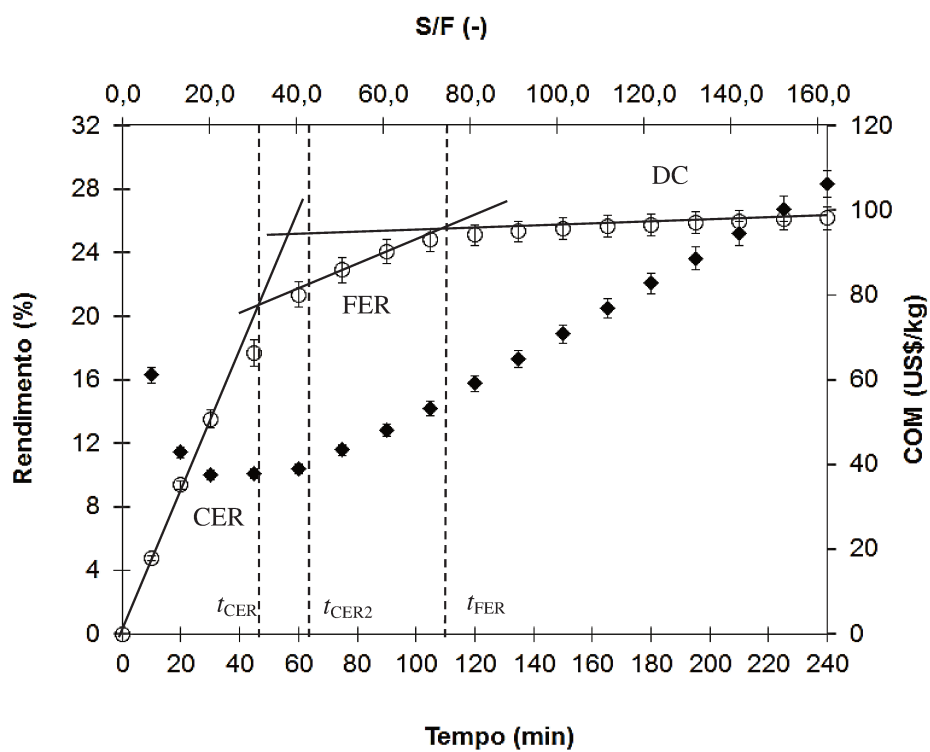
ND: não detectado; t_R: tempo de retenção; b.s.: base seca.

5.8 EXPERIMENTOS CINÉTICOS

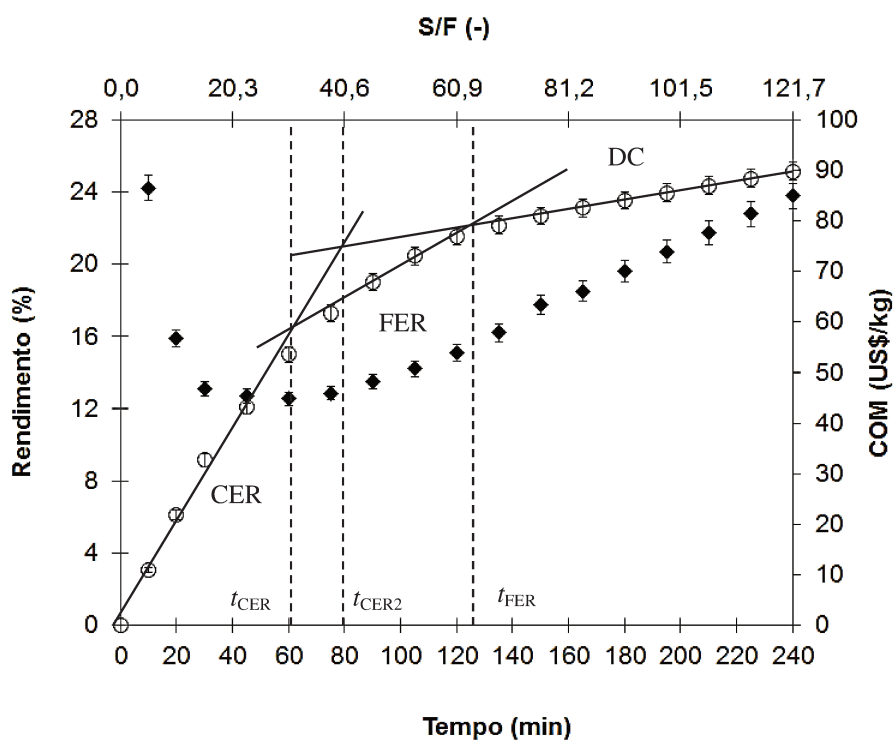
5.8.1 Extração com Fluido Supercrítico

Nas Figuras 5.16, 5.17 e 5.18 estão apresentadas as curvas globais de extração (OEC – *overall extraction curves*) dos extratos supercríticos obtidos nas condições operacionais de temperatura e pressão previamente otimizadas utilizando etanol, isopropanol e água, respectivamente. Tais curvas estão expressas não só em função do tempo de extração como também em função da razão S/F (kg de solvente/kg de matéria-prima, b.u.) o que possibilita a determinação da massa de solvente total utilizada durante os ensaios cinéticos. Para cada um dos cossolventes foi avaliada a influência da vazão total do solvente nas curvas de extração, isto é, a vazão do CO₂ juntamente com a vazão do cossolvente utilizado (80:20, m/m). Assim, foram realizados ensaios experimentais em duplicata para cada um dos valores de vazão de CO₂ (Q_{CO_2}) de $2,53 \times 10^{-4}$ kg/s (Figura Xa) e $1,89 \times 10^{-4}$ kg/s (Figura Xb). Além das OECs estão apresentados também o custo de manufatura (COM, US\$/kg de extrato) em função do tempo de extração e da razão S/F. Dessa maneira é possível avaliar e otimizar não apenas a vazão do solvente como também o tempo de processo e a quantidade de solvente utilizada para que se atinja o máximo rendimento de extração e o mínimo custo operacional.

Observando as Figuras 5.16, 5.17 e 5.18 nota-se que as OECs dos extratos supercríticos apresentaram os três períodos de extração característicos do processo SFE: as etapas CER, FER e DC. As OECs obtidas utilizando vazões mais altas apresentaram ângulos de inclinação, entre os *spline* linear e o eixo x, com valores mais altos na etapa CER e mais baixos na etapa DC do que as curvas obtidas com vazões mais baixas. Este comportamento indica que o final da etapa CER das curvas cinéticas obtidas com maior vazão foi atingido mais rapidamente, ou seja, apresentou menores valores de t_{CER} do que aqueles obtidos com menor vazão. Com relação ao custo de manufatura é possível observar que o mesmo apresentou um perfil similar a uma parábola de maneira que, inicialmente ocorre uma grande diminuição do custo de manufatura, provavelmente devido ao ascentuado aumento do rendimento de extração na etapa CER, atingindo-se valores mínimos de COM em t_{CER} . Após essa etapa, o custo de manufatura passa a se elevar até atingir valores superiores (para cinéticas com maior vazão) ou similares (para cinéticas com menor vazão) aos valores de COM obtidos no início do processo. Portanto, t_{CER} é um bom indicativo do tempo de extração necessário para que se obtenha a melhor relação custo-benefício, ou seja, o menor custo de manufatura e o maior rendimento de extrato possível. As razões S/F para o t_{CER} variaram para todos os experimentos cinéticos em torno de 25 a 35 kg de solvente/kg de matéria-prima.



(a)



(b)

Figura 5.16 - Curvas cinéticas do rendimento de extração (% b.s., (o)) e custo de manufatura (COM, US\$/kg de extrato, (♦)) obtidos via extração supercrítica utilizando etanol como cossolvente com vazão de CO₂ de $2,53 \times 10^{-4}$ kg/s (a) e $1,89 \times 10^{-4}$ kg/s (b).

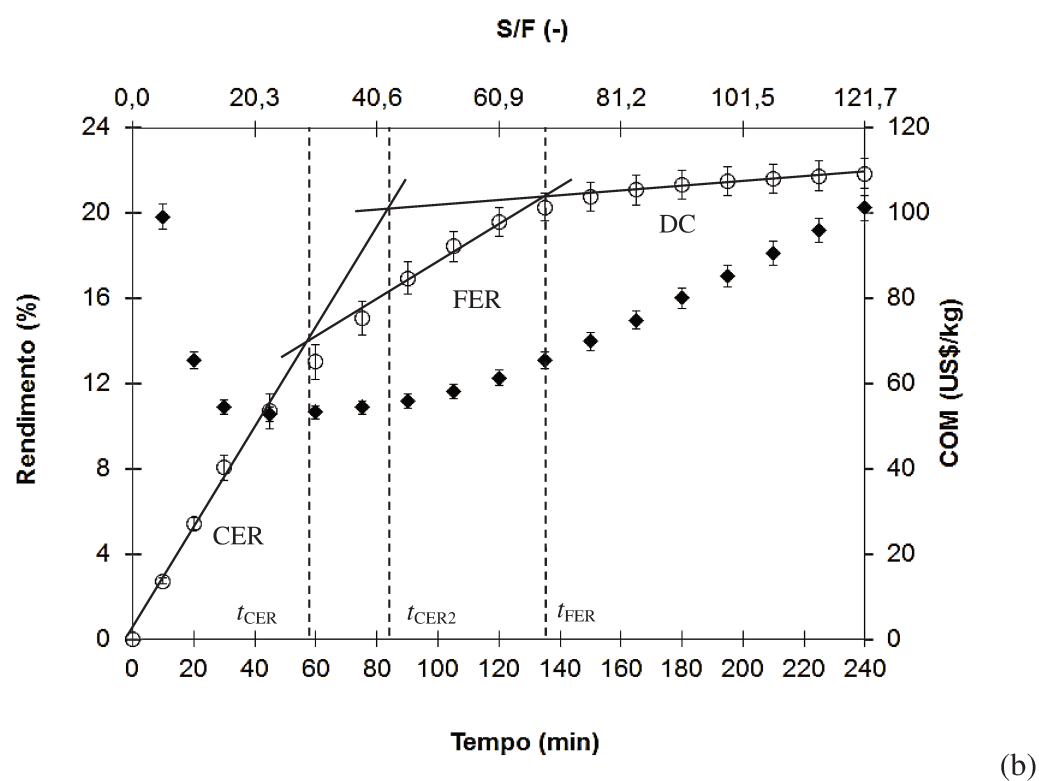
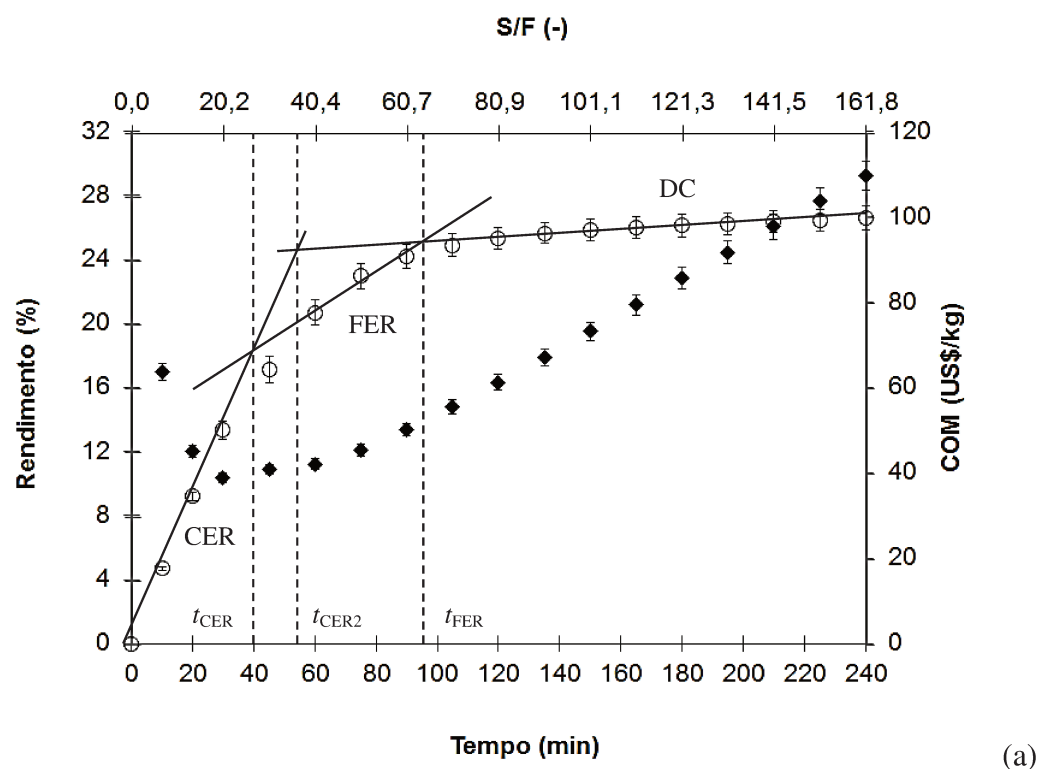
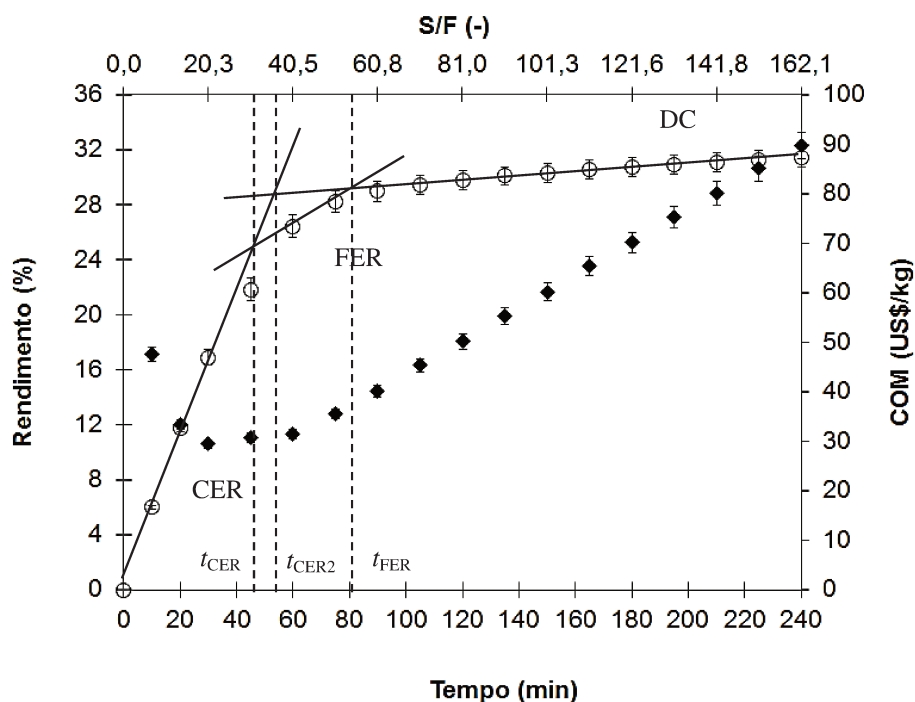
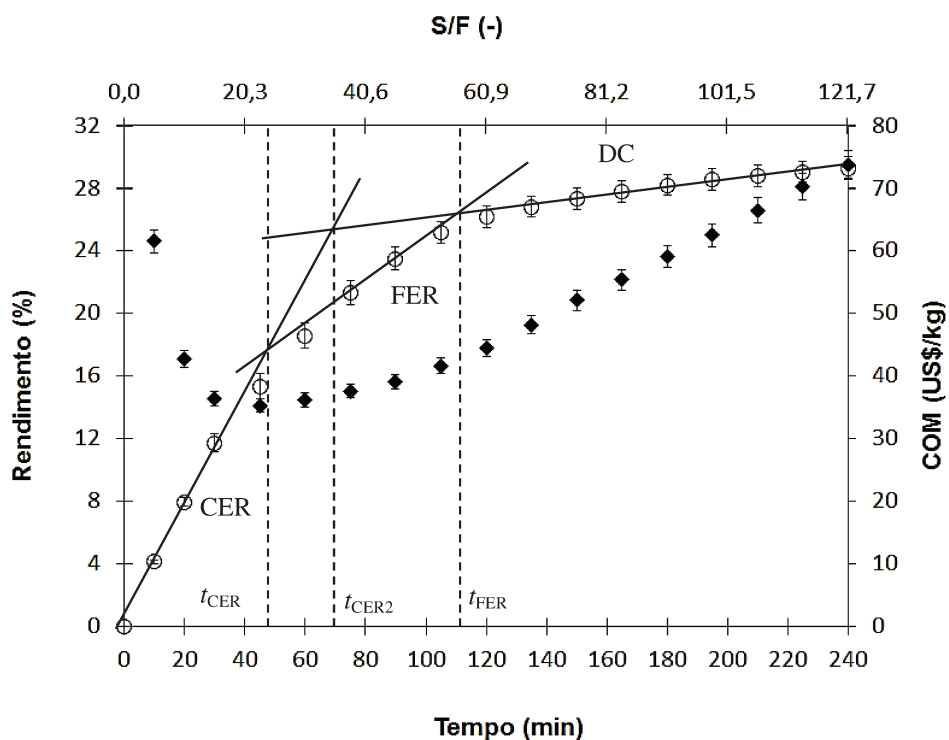


Figura 5.17 - Curvas cinéticas do rendimento de extração (% b.s., (o)) e custo de manufatura (COM, US\$/kg de extrato, (♦)) obtidos via extração supercrítica utilizando isopropanol como cossolvente com vazão de CO₂ de $2,53 \times 10^{-4}$ kg/s (a) e $1,89 \times 10^{-4}$ kg/s (b).



(a)



(b)

Figura 5.18 - Curvas cinéticas do rendimento de extração (% b.s., (o)) e custo de manufatura (COM, US\$/kg de extrato, (♦)) obtidos via extração supercrítica utilizando água como co-solvente com vazão de CO₂ de $2,53 \times 10^{-4}$ kg/s (a) e $1,89 \times 10^{-4}$ kg/s (b).

O ajuste dos *spline* lineares de 3 retas aos dados experimentais das OECs foi realizado através do *software* SAS[®] 9.2 possibilitando a determinação dos parâmetros cinéticos: tempo da etapa CER (t_{CER}), rendimento da etapa CER (R_{CER}), solubilidade de extrato em solvente da etapa CER (Y_{CER}), vazão de saída do extrato na etapa CER (M_{CER}) e tempo da etapa FER (t_{FER}). O parâmetro tempo de processo ($t_{\text{CER}2}$) foi ajustado através da intersecção das retas CER e DC. Todos estes dados estão apresentados na Tabela 5.23. Verificou-se que o aumento na vazão de CO₂ (Q_{CO_2}) de $1,89 \times 10^{-4}$ kg/s (b) para $2,53 \times 10^{-4}$ kg/s (a) propiciou uma curva com perfil mais acentuado na etapa CER apresentando t_{CER} inferior quando comparado às curvas cinéticas de extração que utilizaram vazão de CO₂ com valores mais baixos. Já os parâmetros R_{CER} e Y_{CER} apresentaram valores maiores utilizando maior vazão. Além disso, as OECs obtidas com maior vazão de solvente apresentaram valores mínimos de custos de manufatura mais baixos que os experimentos realizados com menor vazão. Isso indica que as extrações obtidas utilizando maior vazão de solvente foram mais apropriadas tanto do ponto de vista do rendimento de extração como de acordo com a avaliação econômica do processo.

Tabela 5.23 - Parâmetros cinéticos determinados pelo ajuste de *spline* linear de 3 retas às OECs obtidas via SFE.

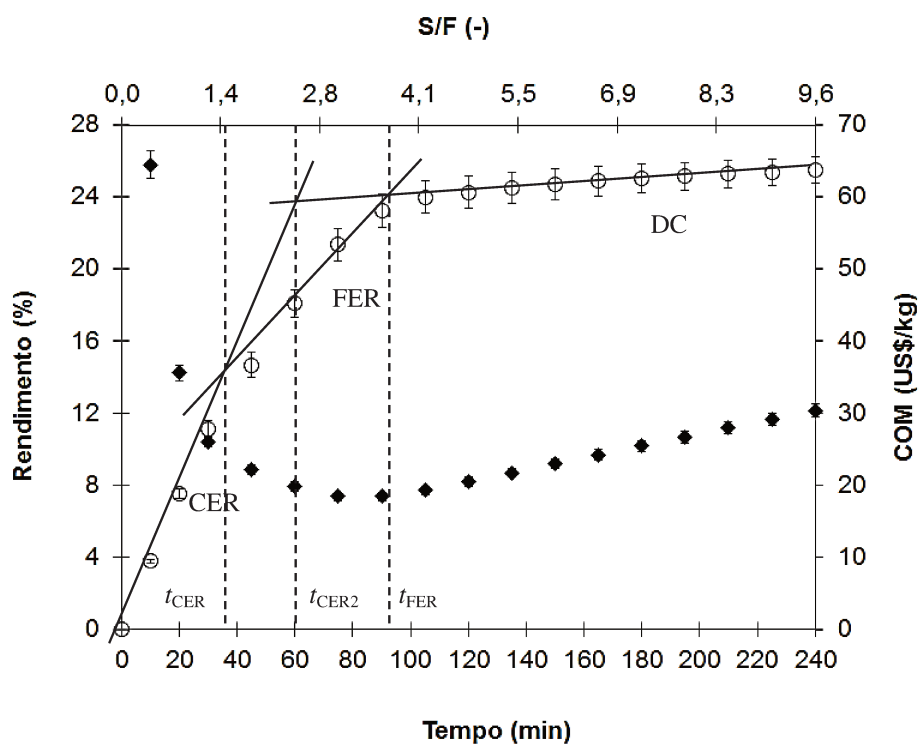
Cossolvente	T (°C)	P (MPa)	$Q_{\text{CO}_2} \times$ 10^4 (kg/s)	t_{CER} (min)	R_{CER} (%)	$Y_{\text{CER}} \times 10^3$ (kg/ kg solvente)	$M_{\text{CER}} \times$ 10^7 (kg/s)	t_{FER} (min)
EtOH	60	25	2,53	48,5 ^{bB}	19,1 ^{aB}	1,05 ^{aB}	3,3 ^{aB}	111,6 ^{bA}
			1,89	61,3 ^{aA}	15,4 ^{bB}	0,88 ^{bA}	2,1 ^{bB}	129,2 ^{aB}
IsoC ₃	60	20	2,53	40,7 ^{bC}	18,1 ^{aC}	1,19 ^{aC}	3,7 ^{aB}	98,8 ^{bB}
			1,89	59,2 ^{aB}	12,8 ^{bC}	0,77 ^{bB}	1,8 ^{bC}	137,1 ^{aA}
H ₂ O	50	30	2,53	49,1 ^{bA}	21,6 ^{aA}	1,18 ^{aA}	3,7 ^{aA}	82,3 ^{bC}
			1,89	50,8 ^{aC}	15,7 ^{bA}	1,1 ^{bA}	2,6 ^{bA}	112,9 ^{aC}

t_{CER} : tempo da etapa CER; R_{CER} : rendimento da etapa CER; Y_{CER} : solubilidade de extrato em solvente na etapa CER; M_{CER} : vazão de obtenção de extrato na etapa CER. ^{a-b} letras minúsculas distintas representam a amostras que apresentaram diferença significativa ao nível de 5% no teste Tukey quanto a utilização de diferentes vazões de solvente para mesmas condições de temperatura, pressão e tipo de solvente utilizados. ^{A-C} letras maiúsculas distintas representam amostras que apresentaram diferença significativa ao nível de 5% no teste Tukey quanto a utilização de diferentes solventes para mesmas condições de temperatura, pressão e vazão de solvente utilizados.

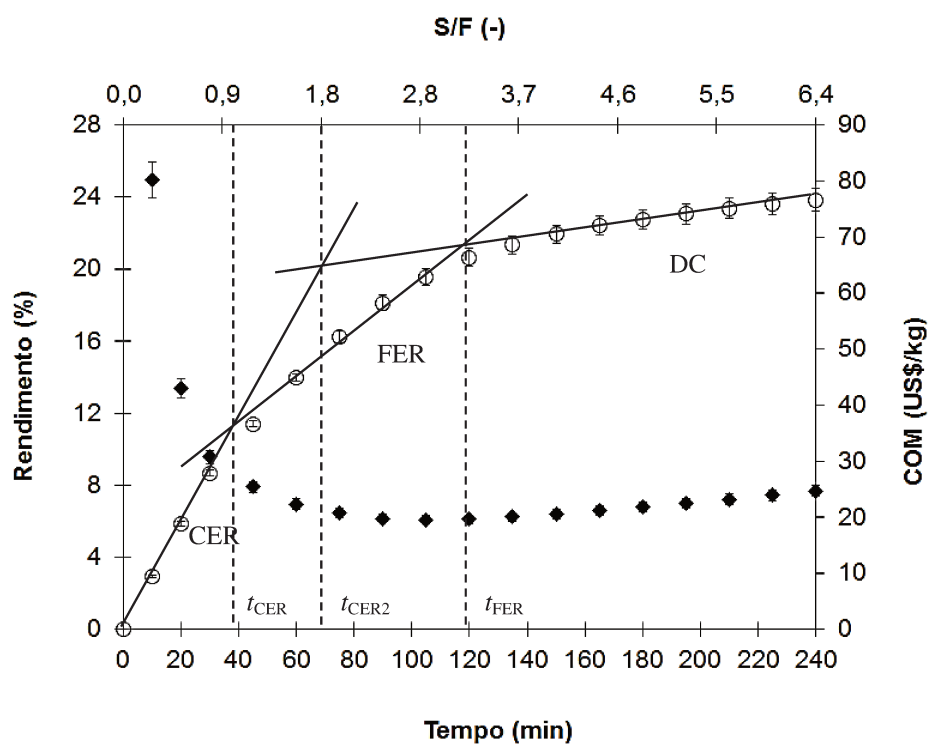
5.8.2 Extração com Líquido Pressurizado

Nas Figuras 5.19, 5.20 e 5.21 estão apresentados as curvas globais de extração (OECs) obtidas nas condições operacionais de temperatura e pressão previamente otimizadas utilizando como solvente os líquidos pressurizados etanol, isopropanol e água, respectivamente. Nestas figuras é possível observar o comportamento do rendimento de extração e em função do tempo (min) e da razão S/F (kg de solvente/kg de matéria-prima, b.u.). Para cada um dos solventes foi avaliada a influência da vazão do solvente nas curvas de extração: $1,88 \times 10^{-5}$ kg/s (Figura Xa) e $1,25 \times 10^{-5}$ kg/s (Figura Xb). Da mesma forma que no processo SFE, as OECs obtidas via PLE apresentaram também os três períodos de extração característicos dos experimentos cinéticos (etapas CER, FER e DC). Além das OECs estão apresentados também o custo de manufatura (COM, US\$/kg de extrato) em função do tempo de extração e da razão S/F. Dessa maneira, o estudo das curvas cinéticas obtidas via PLE possibilita a otimização não apenas da vazão do solvente como também do tempo de processo e da quantidade de solvente utilizada para que se atinja o máximo rendimento de extrato e o mínimo custo operacional.

Assim como anteriormente observado para os experimentos cinéticos obtidos via SFE, as curvas globais de extração dos ensaios PLE obtidos utilizando vazão de solvente mais alta apresentaram *spline* linear com perfil mais acentuado na etapa CER e menos acentuado na etapa DC do que os ensaios realizados a baixa vazão de solvente. Além disso, foi observado também um prolongamento da etapa CER com o aumento da vazão indicando um aumento no t_{CER} com a vazão, exceto para os ensaios obtidos utilizando etanol onde estes valores foram bem similares em ambas as vazões. Com relação ao custo de manufatura é possível observar que as curvas PLE apresentaram um perfil diferente das curvas SFE onde foi observada uma grande diminuição do custo de manufatura, provavelmente devido ao acentuado aumento do rendimento de extração na etapa CER, atingindo-se valores mínimos de COM em tempos de extração em torno de t_{CER2} e t_{FER} para os ensaios de maior vazão de solvente e próximos a t_{FER} para os ensaios menor vazão. Após essa etapa, o custo de manufatura passa a se elevar muito suavemente atingindo valores de COM bem inferiores àqueles obtidos no início do processo. Este comportamento provavelmente deve-se ao aumento do rendimento de extração mais pronunciado na etapa DC. Portanto, para o processo PLE, o t_{FER} é um bom indicativo do tempo de extração necessário para que se obtenha o menor custo de manufatura e o maior rendimento de extrato possível. As razões S/F para o t_{FER} variaram para todos os ensaios cinéticos em torno de 3 a 4 kg de solvente/kg de matéria-prima utilizada.

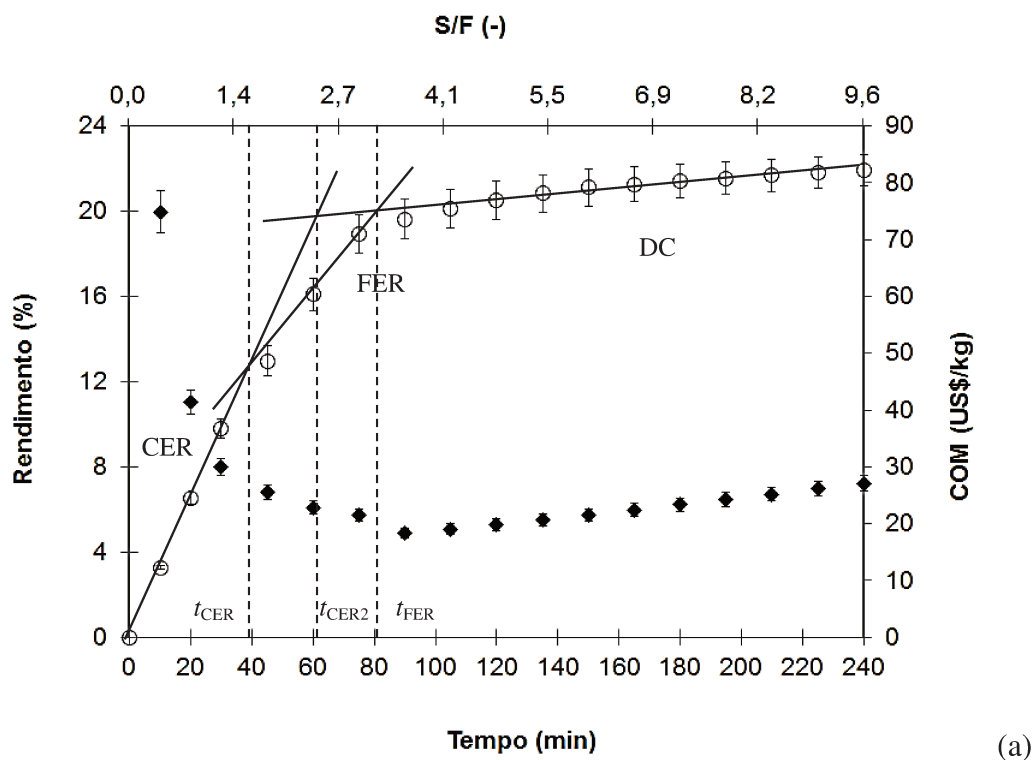


(a)

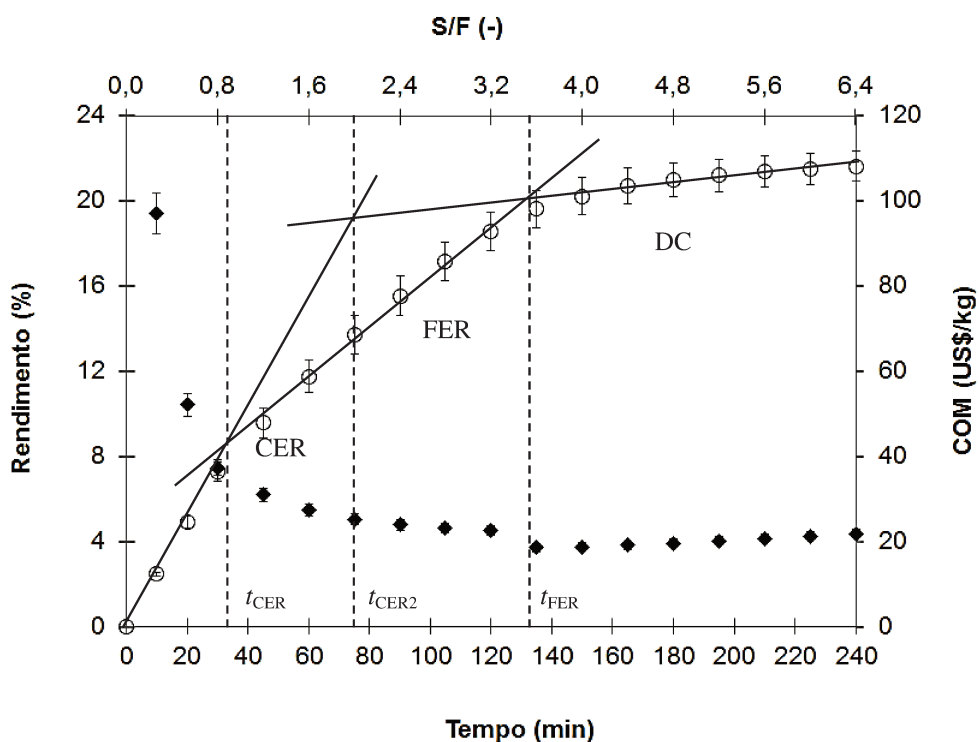


(b)

Figura 5.19 - Curvas cinéticas do rendimento de extração (% b.s., (o)) e custo de manufatura (COM, US\$/kg de extrato, (♦)) obtidos via extração com líquido pressurizado utilizando etanol como solvente com vazão de $1,88 \times 10^{-5} \text{ kg/s}$ (a) e $1,25 \times 10^{-5} \text{ kg/s}$ (b).

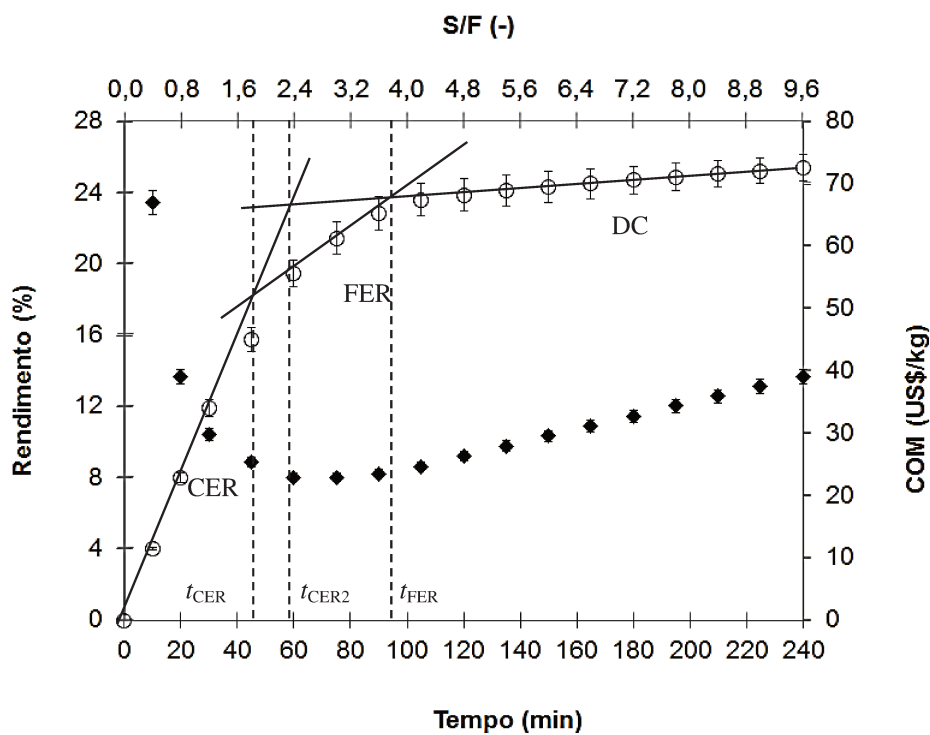


(a)

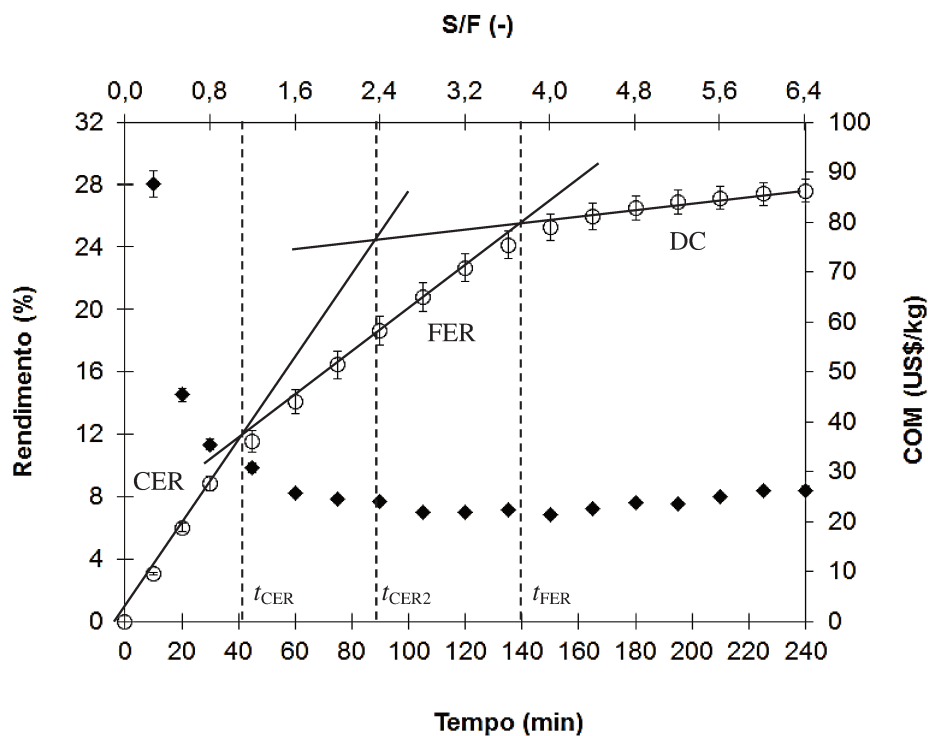


(b)

Figura 5.20 - Curvas cinéticas do rendimento de extração (% b.s., (o)) e custo de manufatura (COM, US\$/kg de extrato, (♦)) obtidos via extração com líquido pressurizado utilizando isopropanol como solvente com vazão de $1,88 \times 10^{-5} \text{ kg/s}$ (a) e $1,25 \times 10^{-5} \text{ kg/s}$ (b).



(a)



(b)

Figura 5.21 - Curvas cinéticas do rendimento de extração (% b.s., (o)) e custo de manufatura (COM, US\$/kg de extrato, (♦)) obtidos via extração com líquido pressurizado utilizando água como solvente com vazão de $1,88 \times 10^{-5} \text{ kg/s}$ (a) e $1,25 \times 10^{-5} \text{ kg/s}$ (b).

Os parâmetros cinéticos obtidos através do ajuste linear de 3 retas das curvas globais de extração obtidos utilizando líquido pressurizado estão apresentados na Tabela 5.24. O t_{CER} apresentou um aumento significativo em todos os ensaios cinéticos, exceto para o etanol onde houve uma diminuição de t_{CER} não significativa. O aumento da vazão de solvente dos ensaios PLE propiciou um aumento no rendimento de extração (R_{CER}) e vazão de extrato (M_{CER}) na etapa CER. Contudo, diferentemente dos experimentos cinéticos obtidos via SFE, este mesmo efeito acarretou em uma diminuição na solubilidade do extrato no solvente (Y_{CER}). Uma possível explicação para é que, embora tenha ocorrido uma diminuição na solubilidade do extrato com o aumento da vazão do solvente, tal aumento pode ter provocado um possível arraste de material orgânico o que explicaria o concomitante aumento no rendimento e vazão de extrato frente a diminuição de solubilidade. Isso indica que embora as extrações obtidas utilizando vazão mais elevada apresentem maiores rendimentos de extração estas não podem ser consideradas necessariamente como a melhor condição de extração. Estudos mais detalhados com relação ao efeito da vazão de solvente no rendimento e solubilidade do extrato devem ser conduzidos a fim de que se possa concluir com maior exatidão que condições operacionais deveram ser utilizadas para otimização do processo.

Tabela 5.24 - Parâmetros cinéticos dos extratos PLE obtidos pelo ajuste do *spline* linear de 3 retas.

Solvente	P (MPa)	T (°C)	$Q \times 10^5$ (kg/s)	t_{CER} (min)	R_{CER} (%)	$Y_{\text{CER}} \times 10^2$ (kg/kg solvente)	$M_{\text{CER}} \times 10^7$ (kg/s)	t_{FER} (min)
EtOH	10,34	80	1,88	38,4 ^{aC}	14,5 ^{aB}	1,69 ^{bA}	3,2 ^{aA}	95,2 ^{bB}
			1,25	39,8 ^{aB}	11,7 ^{bA}	1,97 ^{aB}	2,5 ^{bA}	120,1 ^{aC}
IsoC ₃	10,34	100	1,88	40,3 ^{aB}	13,2 ^{aC}	1,47 ^{bB}	2,8 ^{aB}	82,7 ^{bC}
			1,25	35,8 ^{bC}	8,8 ^{bC}	1,65 ^{aC}	2,1 ^{bB}	133,3 ^{aB}
H ₂ O	10,34	100	1,88	48,1 ^{aA}	17,7 ^{aA}	1,65 ^{bA}	2,9 ^{aB}	97,5 ^{bA}
			1,25	42,6 ^{bA}	11,1 ^{bB}	2,80 ^{aA}	2,2 ^{bB}	141,3 ^{aA}

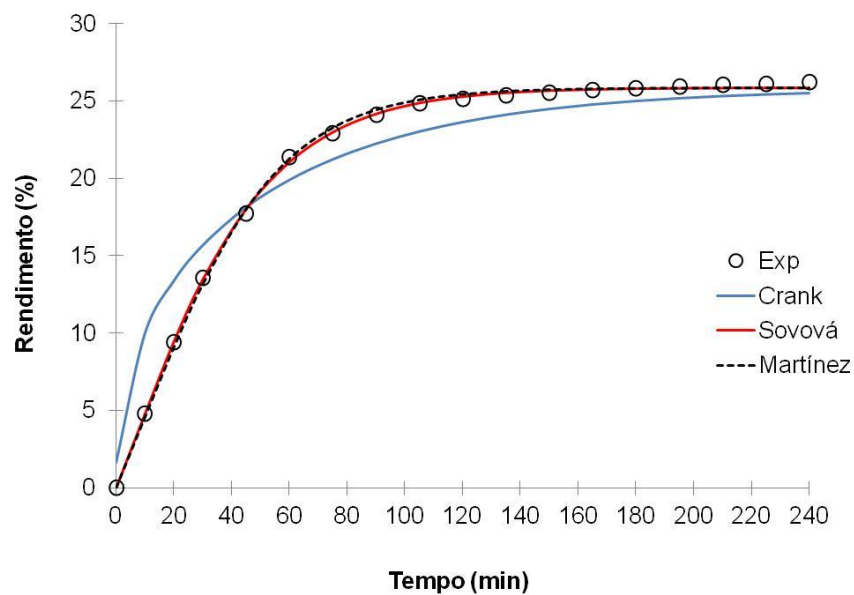
t_{CER} : tempo da etapa CER; R_{CER} : rendimento da etapa CER; Y_{CER} : solubilidade de extrato em solvente na etapa CER; M_{CER} : vazão de obtenção de extrato na etapa CER. ^{a-b} letras minúsculas distintas representam amostras que apresentaram diferença significativa ao nível de 5% no teste Tukey quanto a utilização de diferentes vazões de solvente para mesmas condições de temperatura, pressão e tipo de solvente utilizados. ^{A-C} letras maiúsculas distintas representam amostras que apresentaram diferença significativa ao nível de 5% no teste Tukey quanto a utilização de diferentes solventes para mesmas condições de temperatura, pressão e vazão de solvente utilizados.

5.9 MODELAGEM MATEMÁTICA

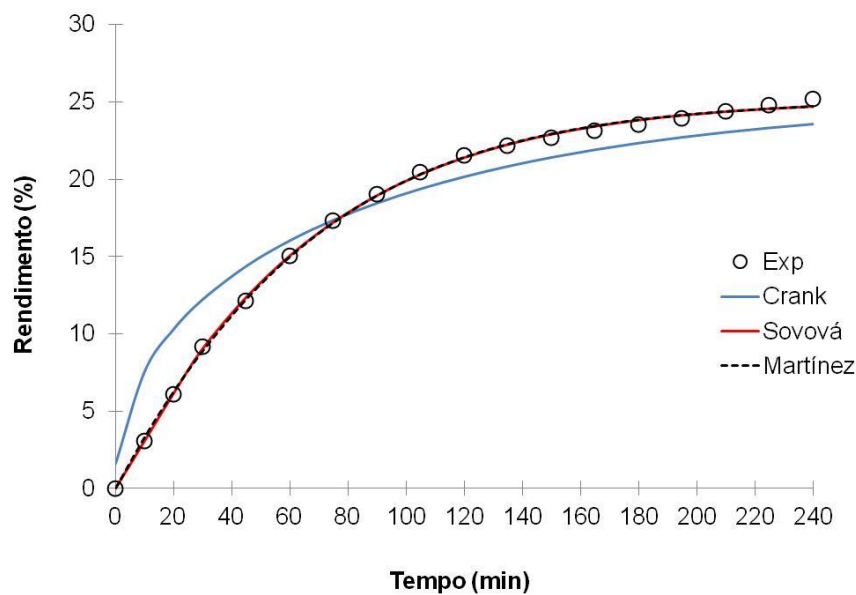
5.9.1 Extração com Fluido Supercrítico

Os ajustes dos modelos matemáticos de transferência de massa de Crank (1975), Sovová (1994), e Martínez et al (2003) às curvas globais de extração (OEC) do rendimento de extrato em função do tempo de extração obtidas via SFE utilizando os cossolventes etanol, isopropanol e água estão ilustrados nas Figuras 5.22, 5.23 e 5.24, respectivamente. As condições operacionais utilizadas nos experimentos cinéticos, os parâmetros ajustáveis bem como o erro quadrático médio (EQM) de cada modelo estão descritos na Tabela 5.25. Através da visualização das figuras é possível observar que os modelos de Sovová (1994) e Martínez et al (2003) foram os que apresentaram melhor ajuste aos dados experimentais para todas as condições operacionais utilizadas.

De acordo com os valores de EQM é possível verificar que o modelo de Sovová (1994) foi o que apresentou melhor ajuste aos dados experimentais (Exp) seguido em ordem decrescente pelo modelo de Martínez et al (2003) e Crank (1975). Isso provavelmente deve-se ao fato de que o modelo de Sovová (1994) considera matrizes vegetais compostas por dois tipos de partículas: partículas que sofreram dilaceração de suas células através de processos de pré-tratamento, como moagem por exemplo, e partículas inteiras que não sofreram este tipo de processo. As primeiras apresentam material extraível de fácil acesso o que caracteriza bem a etapa CER de extração enquanto que as demais caracterizam partículas intactas o que caracteriza bem a etapa DC de extração. O modelo logístico de Martínez et al (2003) apresentou baixos valores de EQM constituindo um modelo de bom ajuste. O modelo de Crank (1975) não descreve bem o comportamento cinético, em especial as fases CER e FER, apresentando altos valores de EQM. Este comportamento deve-se provavelmente a simplicidade do modelo, que provém de uma adaptação de um modelo de transferência de calor para uma partícula esférica aplicado para a segunda lei de Fick para difusão.

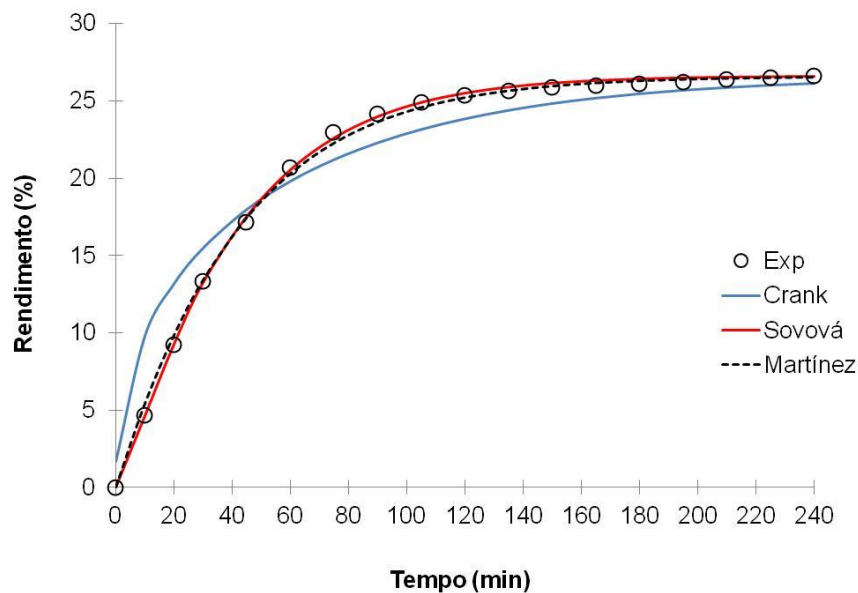


(a)

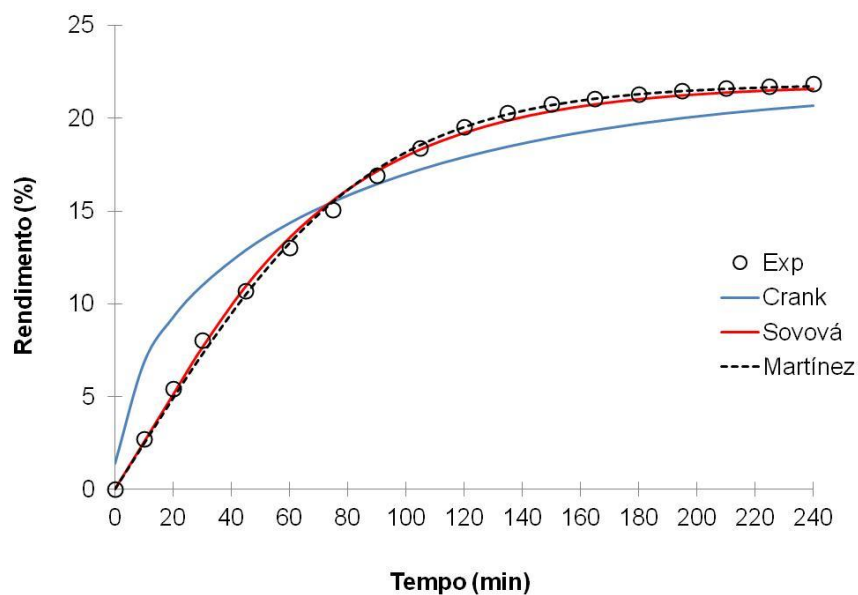


(b)

Figura 5.22 - Curvas globais do rendimento de extrato (% b.s.) por tempo de extração (min) via SFE a 60°C e 25 MPa utilizando etanol como cossolvente e vazão de CO_2 de $2,53 \times 10^{-4} \text{ kg/s}$ (a) e $1,89 \times 10^{-4} \text{ kg/s}$ (b).

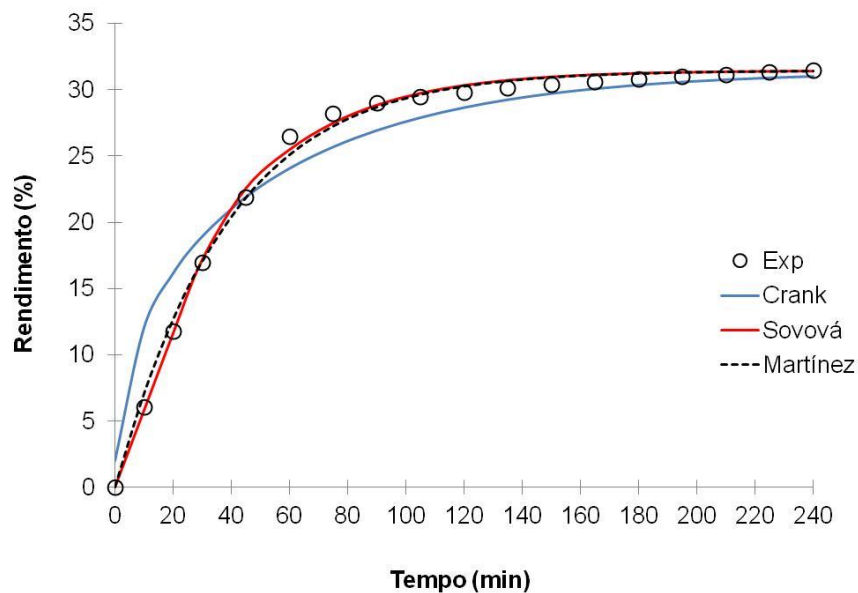


(a)

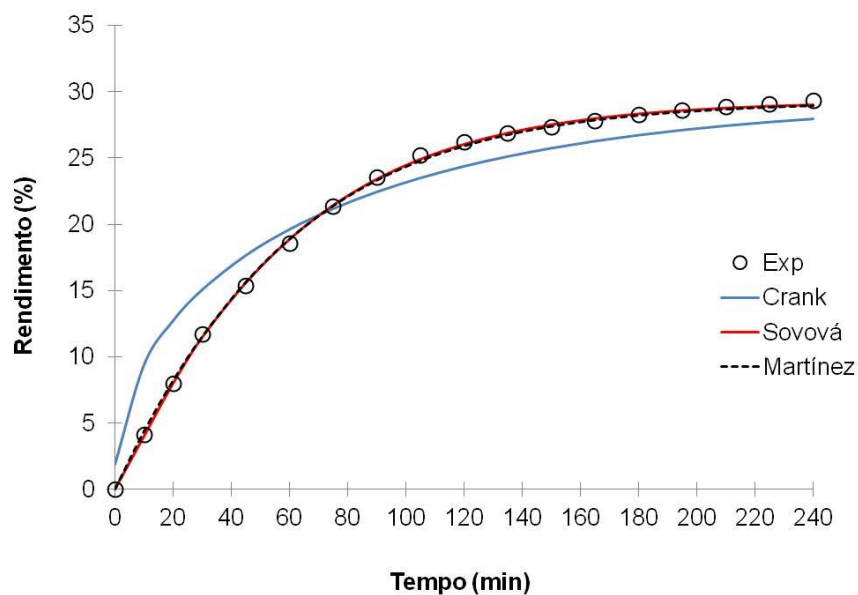


(b)

Figura 5.23 - Curvas globais do rendimento de extrato (% b.s.) por tempo de extração (min) via SFE a 60°C e 20 MPa utilizando isopropanol como cossolvente e vazão de CO_2 de $2,53 \times 10^{-4} \text{ kg/s}$ (a) e $1,89 \times 10^{-4} \text{ kg/s}$ (b).



(a)



(b)

Figura 5.24 - Curvas globais do rendimento de extrato (% b.s.) por tempo de extração (min) via SFE a 50°C e 30 MPa utilizando água como cossolvente e vazão de CO₂ de $2,53 \times 10^{-4}$ kg/s (a) e $1,89 \times 10^{-4}$ kg/s (b).

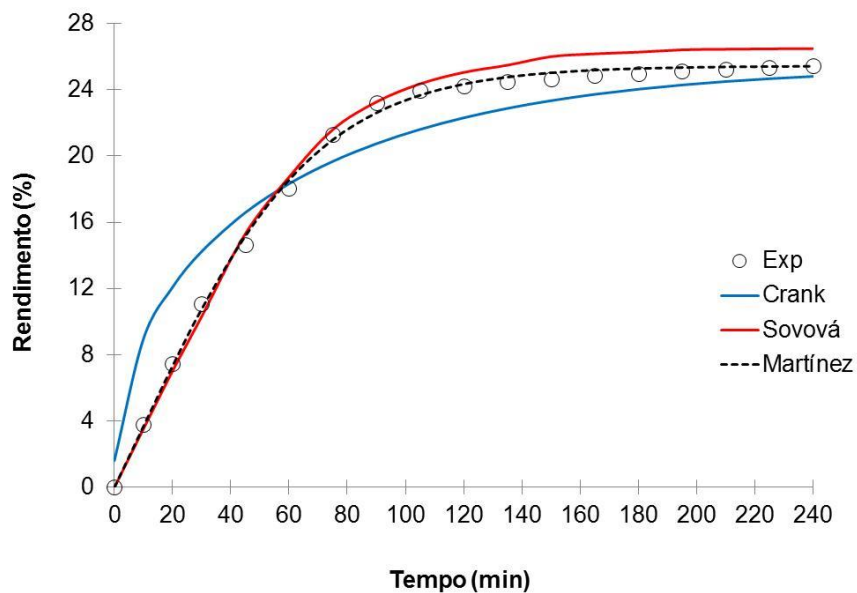
Tabela 5.25 - Condições experimentais e parâmetros ajustados pelos modelos Crank (1975), Sovová (1994) e Martínez et al (2003) para extratos SFE obtidos utilizando etanol (EtOH), isopropanol (IsoC₃) e água (H₂O) como cossolventes.

Parâmetro		SFE- EtOH-Q1	SFE- EtOH-Q2	SFE- IsoC3-Q1	SFE- IsoC3-Q2	SFE- H2O-Q1	SFE- H2O-Q2
Cossolvente		EtOH	EtOH	IsoC ₃	IsoC ₄	H ₂ O	H ₂ O
T (°C)		60	60	60	60	50	50
P (MPa)		25	25	20	20	30	30
ρ_r (kg.m ⁻³)		2880	2880	2880	2880	2880	2880
ε (-)		0,762	0,762	0,762	0,762	0,762	0,762
ρ_a (kg.m ⁻³)		685	685	685	685	685	685
d_p (mm)		0,497	0,497	0,497	0,497	0,497	0,497
Cossolvente (m/m %)		20	20	20	20	20	20
d_B (m)		0,0342	0,0342	0,0342	0,0342	0,0342	0,0342
H_B (m)		0,0446	0,0445	0,0446	0,0446	0,0446	0,0446
ρ_{CO_2} (kg.m ⁻³)		787,3	787,3	724,6	724,6	871,0	871,0
ρ_{cossol} (kg.m ⁻³)		755,7	755,7	751,9	751,9	1000,7	1000,7
ρ_{sol} (kg.m ⁻³)		781,0	781,0	730,1	730,1	897,0	897,0
$Q_{cossol} \times 10^4$ (kg/s)		0,632	0,474	0,632	0,474	0,632	0,474
$Q_{CO_2} \times 10^4$ (kg/s)		2,53	1,89	2,53	1,89	2,53	1,89
Modelo	Parâmetro ajustado	SFE- EtOH-Q1	SFE- EtOH-Q2	SFE- IsoC3-Q1	SFE- IsoC3-Q2	SFE- H2O-Q1	SFE- H2O-Q2
Crank (1975)	$D \times 10^{10}$ (m ² /s)	1,72	0,975	1,54	1,07	1,68	1,12
	EQM	3,8978	4,1112	3,7619	4,0195	4,7687	5,4132
	t_{CER} (min)	11,59	22,51	19,00	23,45	24,50	17,37
Sovová (1994)	k_{YA} (s ⁻¹)	0,032	0,030	0,028	0,027	0,022	0,036
	EQM	0,0023	0,0027	0,0035	0,0070	0,0164	0,0022
	b_i (min)	0,00069	0,00029	0,00043	0,00041	0,00047	0,00033
Martínez et al (2003)	t_{mi} (s ⁻¹)	476	-4401	-4401	475	-4401	-4401
	EQM	0,8485	0,6041	1,6517	1,2181	3,9718	0,5626

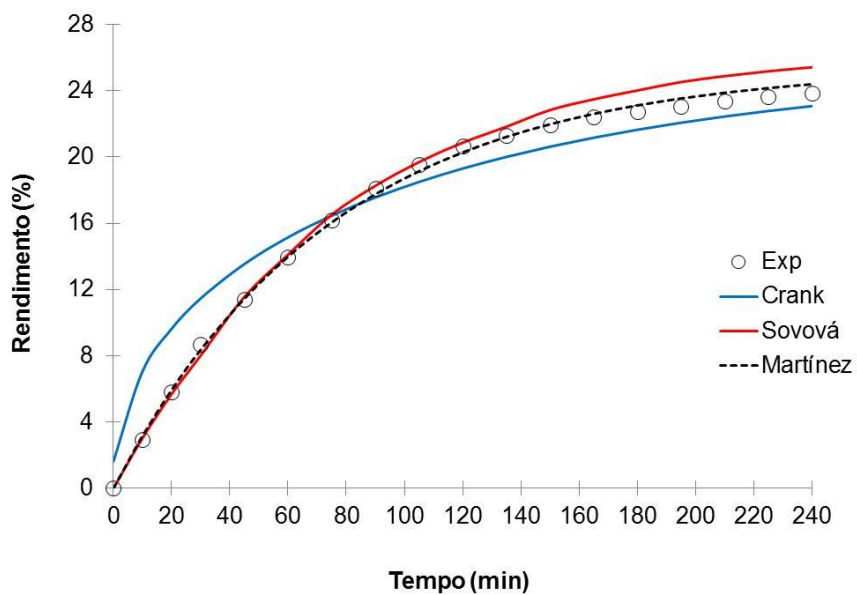
5.9.2 Extração com Líquido Pressurizado

Os dados experimentais das curvas globais de extração e os ajustes feitos com os modelos de Crank (1975), Sovová (1994), e Martínez et al (2003) estão ilustrados da Figura 5.25 à Figura 5.27, com o rendimento global em função do tempo de extração. Tais modelos foram inicialmente desenvolvidos para aplicação em processos de extração com fluido supercrítico; porém, foram adaptados no presente trabalho para modelagem de líquidos pressurizados.

As condições operacionais utilizadas nos experimentos cinéticos, os parâmetros ajustáveis e o erro quadrático médio (EQM) de cada modelo estão descritos na Tabela 5.26. A adaptação dos presentes modelos aos dados de extração com líquido pressurizado foi satisfatória. Observando as Figura 5.25 à Figura 5.27 bem como analisando os valores dos erros quadráticos médios (EQM) apresentados na Tabela 5.26 é possível observar que o modelo de Martínez et al (2003) foi o que apresentou melhor ajuste aos dados experimentais para todas as condições operacionais utilizadas seguido em ordem decrescente pelos modelos de Sovová (1994) e Crank (1975).

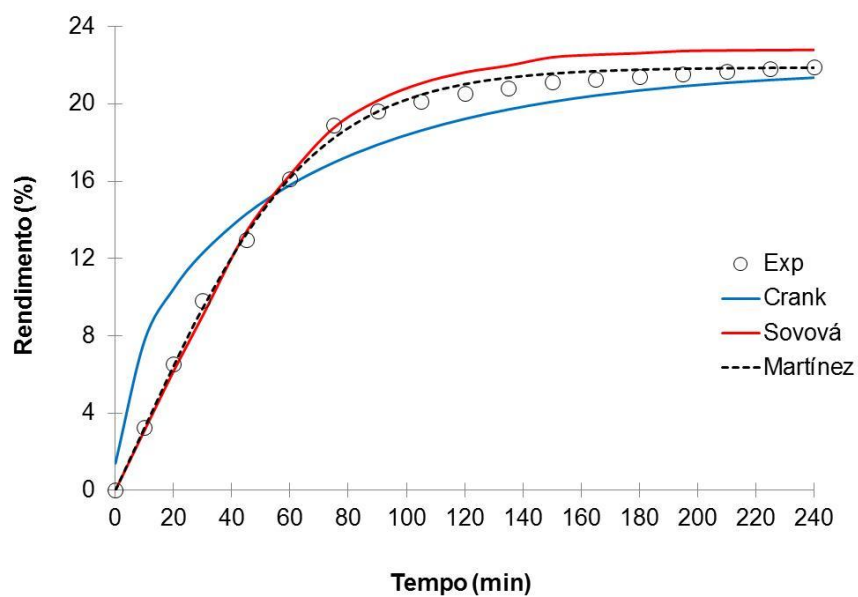


(a)

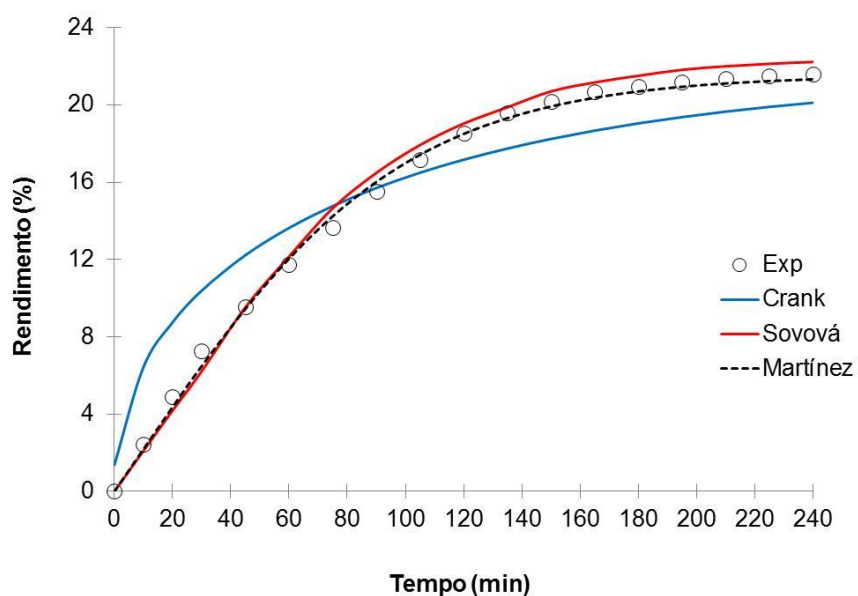


(b)

Figura 5.25 - Curvas globais do rendimento de extrato (% b.s.) por tempo de extração (min) via PLE a 10,34 MPa e 80°C utilizando etanol como solvente à vazão de $1,88 \times 10^{-5} \text{ kg/s}$ (a) e $1,25 \times 10^{-5} \text{ kg/s}$ (b).

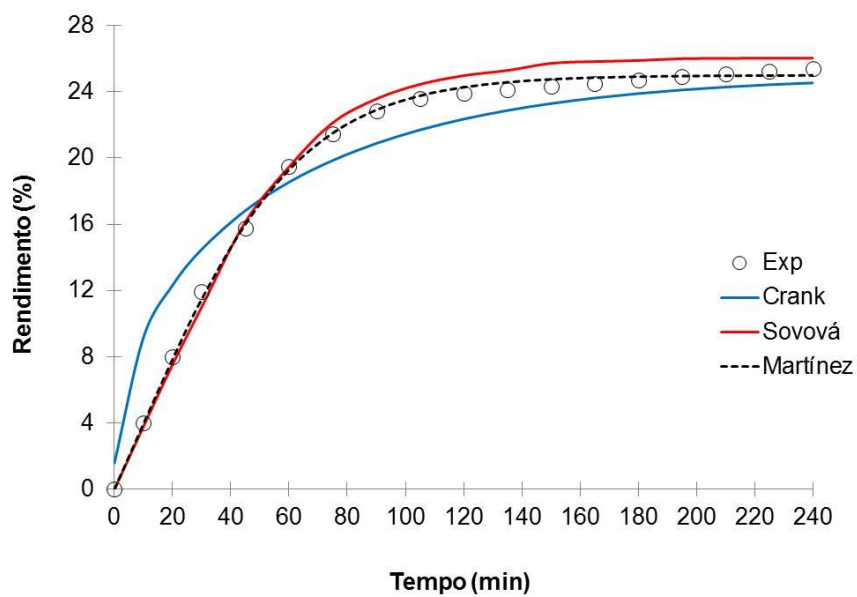


(a)

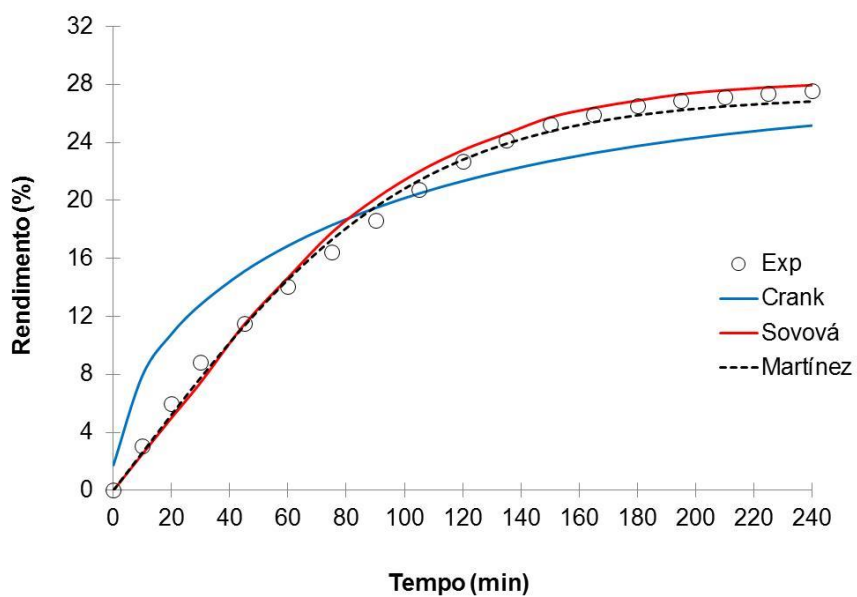


(b)

Figura 5.26 - Curvas globais do rendimento de extrato (% b.s.) por tempo de extração (min) via PLE a 10,34 MPa e 100°C utilizando isopropanol como solvente à vazão de $1,88 \times 10^{-5} \text{ kg/s}$ (a) e $1,25 \times 10^{-5} \text{ kg/s}$ (b).



(a)



(b)

Figura 5.27 - Curvas globais do rendimento de extrato (% b.s.) por tempo de extração (min) via PLE a 10,34 MPa e 100°C utilizando água como solvente à vazão de $1,88 \times 10^{-5} \text{ kg/s}$ (a) e $1,25 \times 10^{-5} \text{ kg/s}$ (b).

Tabela 5.26 - Condições experimentais e parâmetros ajustados pelos modelos Crank (1975), Sovová (1994) e Martínez et al (2003) para extratos PLE obtidos utilizando etanol (EtOH), isopropanol (IsoC₃) e água (H₂O) como solventes.

Parâmetro experimentais		PLE- EtOH-Q1	PLE- EtOH-Q2	PLE- IsoC3-Q1	PLE- IsoC3-Q2	PLE- H2O-Q1	PLE- H2O-Q2
Solvente		EtOH	EtOH	IsoC ₃	IsoC ₃	H ₂ O	H ₂ O
T (°C)		80	80	100	100	100	100
P (MPa)		10,34	10,34	10,34	10,34	10,34	10,34
ρ_r (kg.m ⁻³)		2880	2880	2880	2880	2880	2880
ε (-)		0,762	0,762	0,762	0,762	0,762	0,762
ρ_a (kg.m ⁻³)		685	685	685	685	685	685
d_p (mm)		0,497	0,497	0,497	0,497	0,497	0,497
d_B (m)		0,0342	0,0342	0,0342	0,0342	0,0342	0,0342
H_B (m)		0,0446	0,0445	0,0446	0,0446	0,0446	0,0446
ρ_{sol} (kg.m ⁻³)		747,4	747,4	763,1	763,1	963,1	963,1
$Q_{sol} \times 10^5$ (kg/s)		0,632	0,474	0,632	0,474	0,632	0,474
Modelo	Parâmetros ajustados	PLE- EtOH-Q1	PLE- EtOH-Q2	PLE- IsoC3-Q1	PLE- IsoC3-Q2	PLE- H2O-Q1	PLE- H2O-Q2
Crank (1975)	$D \times 10^{10}$ (m ² /s)	1,39	8,16	1,40	1,40	1,52	0,91
	EQM	5,0669	3,3531	3,3840	4,5996	4,1890	7,9903
Sovová (1994)	t_{CER} (min)	22,68	14,31	25,64	25,64	15,01	28,11
	k_{YA} (s ⁻¹)	0,0040	0,0347	0,0043	0,0043	0,0147	0,0122
	EQM	0,7905	0,7791	0,7596	0,3952	0,7597	0,6156
Martínez et al (2003)	b_i (min)	0,00055	0,00022	0,00056	0,00056	0,00061	0,00035
	t_{mi} (s ⁻¹)	475,6	-96086,6	475,6	475,6	475,5	475,5
	EQM	0,0975	0,1058	0,1090	0,1252	0,0727	0,3884

6 CONCLUSÕES

A composição centesimal do resíduo de geléia de jabuticaba demonstrou que a mesma é uma matéria-prima com alto teor de carboidratos e fibras, constituindo em uma boa fonte calórica e alimentícia o que possibilita sua potencial aplicação na indústria alimentícia. Contudo, o alto teor de umidade aliado ao teor de carboidratos implica em uma alta perecibilidade tanto por fermentação como apodrecimento o que, conseqüentemente, diminui seu tempo de prateleira dificultando a manutenção da sua qualidade físico-química, microbiológica e sensorial durante sua estocagem. A utilização dessa matéria-prima como insumo para a produção de extratos naturais secos implica em um aumento do tempo de vida útil bem como aumento do valor agregado devido a capacidade antioxidante dos extratos obtidos e sua possível utilização como corantes naturais. Além disso, o aproveitamento de um resíduo industrial consitiu uma boa alternativa econômica e ecológica para a produção de extratos naturais uma vez que tal resíduo normalmente é descartado e reintegrado ao solo ou incorporado à ração animal.

Os extratos obtidos via extração com fluido supercrítico e com líquido pressurizado apresentaram alto rendimentos globais de extração bem como de compostos fenólicos, antocianinas e atividade antioxidante de forma que ambos extratos possuem potencial aplicação como corantes e/ou extratos antioxidantes naturais nas indústrias alimentícia, cosmética e farmacêutica. Com relação à escolha dos cossolventes e solventes utilizados observou-se que a água apresentou comportamento diferenciado dos solventes alcoóis apresentando maiores rendimentos a maiores pressões e temperaturas. Em geral, observou-se que o uso da água resultou em melhores valores de atividade antioxidante enquanto os extratos etanólicos apresentaram maiores teores de compostos antociânicos.

A análise econômica dos extratos de jabuticaba obtidos via extração com fluido supercrítico e extração com líquido pressurizado considerou a implantação dessas linhas de produção em uma fábrica já em atividade e utilizou o custo de manufatura e o tempo de retorno, como critérios de otimização econômica dos processos. Observou-se que para ambos os métodos os custos de manufatura diminuíram com o aumento de escala tornando-se mais viáveis economicamente utilizando extratores com capacidade volumétrica igual ou superior a 0,3 m³. Observou-se também que os valores de custos de manufatura mais baixos foram obtidos para as condições que obtiveram maiores rendimentos. Os extratos etanólico e aquoso obtidos via SFE e PLE foram os mais rentáveis. A utilização de liofilizador para remoção da água teve um efeito de incremento nos custos de manufatura devido ao alto custo do equipamento; contudo a água ainda apresentou melhores resultados quando comparados aos solventes alcoóis devido aos altos valores de rendimentos de extração. Além disso, a água pode ou não ser removida do extrato bruto de acordo com o produto

requerido no final do processo uma vez que corantes naturais são comercialmente utilizados não só em pó como também na forma de géis ou líquidos. Estudos sobre o uso de outras formas de remoção de solventes ou concentração dos extratos como o uso de evaporadores de filmes descendentes, *spray driers* ou membranas devem ser realizados a fim de verificar a otimização físico-química e econômica dos processos SFE e PLE.

A análise de componentes principais indicou ser uma importante ferramenta no processo de seleção das condições otimizadas de extração facilitando a visualização e agilizando o processo de tomada de decisão sobre quais condições deveriam ser estudadas na etapa de estudo cinético das curvas globais de extração. Além disso, a matriz de Pearson gerada foi importante para o estudo de correlações entre variáveis.

As análises obtidas por cromatografia líquida de ultra-eficiência apresentaram valores bem inferiores aos resultados obtidos por espectrofotometria. A primeira hipótese é que a escolha dos padrões avaliados nas análises de UPLC-MS dos extratos obtidos neste estudo baseou-se na composição de compostos fenólicos antociânicos e não-antociânicos presentes na casca de jabuticaba previamente identificados e quantificados na literatura. Dessa maneira, os compostos distintos às composições já reportadas seja devido a processos de copigmentação ou quelação com metais não podem ser detectados no UPLC-MS devido a falta desses padrões específicos; contudo, é possível que tais compostos estejam sendo detectados colorimetricamente no espectrofotômetro UV-vis. Uma outra explicação é que as análises espectrofotométricas foram realizadas nos extratos brutos enquanto os ensaios cromatográficos foram realizados nos extratos purificados os quais podem ter sofrido perda de compostos nos processos de purificação e separação de suas fases antociânicas e não-antociânicas de compostos fenólicos. Por fim, conclui-se que os métodos de extração supercrítica e líquido pressurizado apresentaram teores de compostos fenólicos e antocianinas elevados quando comparados a estudos já reportados na literatura. Estudos mais aprofundados sobre a composição química dos extratos bem como possíveis processos de copigmentação e hidrólise devem ser avaliados e estudados no futuro.

Os modelos difusionais de Sovová (1994) e Martínez et al (2003) foram os modelos que apresentaram melhores ajustes às curvas globais de extração. Para as extrações supercríticas o modelo de Sovová (1994) apresentou os menores erros quadráticos médios (EQM) indicando um melhor ajuste enquanto que para as extrações com líquido pressurizado o modelo de Martínez et al (2003) foi o que apresentou menor EQM sendo considerado o modelo de melhor ajuste. Contudo, os parâmetros obtidos com o modelo de Martínez não possuem significado físico não podendo ser aplicados a outras condições operacionais. Por outro lado o parâmetro k_{YA} é um importante

parâmetro difusional que pode vir a ser utilizado para a predição de rendimento em outras condições operacionais de extração.

7 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

- Avaliar a utilização dos processos de extração com fluido supercrítico e com líquido pressurizado utilizando diferentes teores de umidade na matéria-prima a fim de investigar o seu efeito no rendimento global de extração e nos compostos de interesse dos extratos obtidos.
- Avaliar a utilização dos processos de extração com fluido supercrítico e com líquido pressurizado utilizando diferentes valores de pH a fim de investigar o seu efeito no rendimento global de extração e nos compostos de interesse dos extratos obtidos.
- Realizar experimentos de aumento de escala a fim de validar o critério de aumento de escala em que se considera a razão massa de solvente por massa de alimentação (S/F) constante utilizado nos processos de simulação de SFE e PLE.
- Realizar estudo de equilíbrio de fases e extração em separadores em série a fim de investigar sua influência sobre o grau de purificação dos diferentes compostos presentes nos extratos obtidos.
- Otimizar as metodologias de cromatografia líquida de ultra-eficiência acoplada a espectrometria de massas (UPLC-MS) para identificação e quantificação dos compostos fenólicos antociânicos e não-antociânicos dos extratos SFE e PLE de resíduo de jabuticaba.
- Investigar a influência dos processos de copigmentação e hidrólise na composição química dos extratos SFE e PLE.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 100% AMAZONIA EXP. & REP. LTDA.** Disponível em: <http://www.100amazonia.com/>. Acessado em: 5 de outubro de 2012.
- A.O.A.C. (Association of Official Analytical Chemists).** Official Methods of Analysis. 16^a ed. 3^a rev. Washington, 1997.
- A.O.C.S. (American Oil Chemists' Society).** Official and tentative methods. 3^a ed. Champaign, 2004.
- AACEI (Association for the Advancement of Cost Engineering International).** Cost Estimate Classification System, AACE International Recommended Practice No. 17R-97, 1997.
- ADA (American Dietetic Association).** Reports Position of the American Dietetic Association. Functional Foods Journal of ADA, v. 95, 1995, p. 493.
- ADIL, İ. H.; ÇETIN, H.İ.; YENER, M.E.; BAYINDIRLI, A. Subcritical (carbon dioxide + ethanol) extraction of polyphenols from apple and peach pomaces, and determination of the antioxidant activities of the extracts. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 43, 2007, p. 55-63.
- AL-JABARI, M. Kinetic models of supercritical fluid extraction. **Journal of Separation Science**, v. 25, 2002, p. 477-489.
- ALMEIDA, P. P. **Extração de óleo essencial de hortelã (*Mentha spicata* L.) com misturas de solventes a alta pressão..** Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2006, 114 p.
- AMBROGI, A., CARDARELLI, D.A., EGGERS, R., Separation of natural colorants using combined high pressure extraction: adsorption process. **Latin American Applied Research**, v. 33, 323, 2003.
- ANDERSEN, O.; ANDERSEN, V. U. **As frutas silvestres brasileiras.** Rio de Janeiro: Globo, 1988, 203 p.
- ANDERSEN, O.M., JORDHEIM, M., **The anthocyanins.** In: Ø.M. Andersen, K.R. Markham (Org.). Flavonoids: Chemistry, Biochemistry and Applications. Boca Raton: CRC Press, Taylor & Francis Group, 2006, p. 471-551.

- APPLIED SEPARATIONS**. Disponível em: <http://www.appliedseparations.com>. Acessado em Outubro, 2012.
- ARREDONDO, M.F.; BLASINA, F.; ECHEVERRY, C.; MORQUIO, A.; FERREIRA, M.; ABIN-CARRIQUIRY, J.A.; LAFON, L.; DAJAS, F. Cytoprotection by Achyrocline satureioides (Lam) D.C. and some of its main flavonoids against oxidative stress. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 91, 2004, p. 13-20,
- ARTS, I. C. W.; HOLLMAN, P. C. H. Polyphenols and disease risk in epidemiologic studies. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 81, n. 1, 2005, p. 317S-325S.
- ASQUIERI, E. R. et al. Fabricación de vino blanco y tinto de jabuticaba (*Myrciaria jabuticaba* Berg) utilizando la pulpa y la cáscara respectivamente. **Alimentaria**, v. 355, 2004, p. 97-109.
- AUBERT, C. M.; DANGLES, A.; AMIOT, M. J. Color stability of commercial anthocyanin-based extracts in relation to the phenolic composition. Protective effects by intra and intermolecular copigmentation. **Journal Agricultural Food Chemistry**, v. 49, 2001, p. 170-176,.
- AUTIC**. Disponível em: <http://www.autic.com.br>. Acessado em: 25 de outubro de 2012.
- BAILONI, M. A.; BOBBIO, P. A.; BOBBIO, F. O. Preparação e estabilidade do extrato antocianico das folhas da *Acalypha hispida*. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 18, n. 1, 1998, p. 17-18.
- BARANAC, J. M.; PETRANOVIC, N. A.; DIMITRIC-MARKOVIC, J.M. Spectrophometric study of anthocyan copigmentation reactions. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 44, 1996, p. 1333-1336.
- BARNES, J.S.; NGUYEN, H.P.; SHEN, S.; SCHUG, K.A.. General method for extraction of blueberry anthocyanins and identification using high performance liquid chromatography–electrospray ionization-ion trap-time of flight-mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1216, 2009, p. 4728–4735.
- BARREIROS, A. L. B. S.; DAVID, M. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies relativas e defesa do organismo. **Química Nova**, v. 29, n. 1, 2006, p. 113-123.
- BARTON, P.; HUGHES, R.E.; HUSSEIN, M.M. Supercritical carbon dioxide extraction of peppermint and spearmint. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 5, 1992, p. 157-162.

- BOULTON, R. The copigmentation of anthocyanins and its role in the color of red wine: a Critical Review. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 52, n. 2, 2001, p. 67-80.
- BRAGA, M. E. M. Obtenção de compostos bioativos de *Curcuma longa* L. e *Lippia alba* M. por tecnologia supercrítica: rendimento global, cinética de extração, composição química e aproveitamento do resíduo amiláceo. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos), Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2005, 200 p.
- BRAVI, M., BUBBICO, R., MANNA, F., VERDONE, N. Process optimization in sunflower oil extraction by supercritical CO₂. **Chemical Engineering Science**, v. 57, 2002, p. 2753-2764.
- BROUILLARD, R. **Chemical structure of anthocyanins**. In: Pericles Markakis (Org.). Anthocyanins as Food Colors., New York: CRC Press, Academic Press Inc., 1982, p.1-38.
- BROUSSALIS, A.M.; FERRARO, G.E.; GURNI, A.; COUSSIO, J.D. Phenolic Constituents of Four Achyrocline Species. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 10, 1988, p. 401-402.
- BRUNNER, G. **Gas extraction: an introduction to fundamentals of supercritical fluids ant the application to separation processes**. 1st. Ed. Darmstadt: Steinkopff, New York: Springer, 1994. 387 p.
- BRUNNER, G. Supercritical fluids: technology and application fo food processing. **Journal of Food Engineering**, v. 67, 2005, p. 21-33.
- CAMPOS, L. M. A. S. **Obtenção de extratos de bagaço de uva Cabernet Sauvignon (Vitis vinifera): Parâmetros de processo e modelagem matemática**. Dissertação de Mestrado, Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2005. 138p.
- CAVALCANTI, R. N.; SANTOS, D. T.; MEIRELES, M. A. A. Non-thermal stabilization mechanisms of anthocyanins in model and food systems: an overview. **Food Research International**, v. 44, n. 2, 2011, p. 499-509.
- CAVALCANTI, R.N., NAVARRO-DÍAZ, H.J., SANTOS, D.T., ROSTAGNO, M.A., MEIRELES, M.A.A. Supercritical carbon dioxide extraction of polyphenols from pomegranate (*Punica*

- granatum L.) leaves: chemical composition, economic evaluation and chemometric approach. **Journal of Food Research**, v. 1, n. 3, 2012, p. 282-294.
- CLERICI, M.; CARVALHO-SILVA, L. B. Nutritional bioactive compounds and technological aspects of minor fruits grown in Brazil. **Food Research International**, v. 44, n. 7, 2011, p. 1658-1670.
- CLIFFORD, T. **Fundamentals of Supercritical Fluids**. New York: Oxford University Press Inc., 1999, 210 p.
- COLANTUONI, A., BERTUGLIA, S., MAGISTETTI, M. J., DONATO, L. Effects of Vaccinium myrtillus anthocyanosides on arterial vasomotion. **Arzneimittelforschung**, v. 41, 1991, p. 905-909.
- CORRALES, M.; TOEPFL, S.; BUTZ, P.; KNORR, D.; TAUSCHER, B. Extraction of anthocyanins from grape by-products assisted by ultrasonics, high hydrostatic pressure or pulsed electric fields: a comparison. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 9, n. 1, 2008, p. 85-91.
- CRANK, J. **The Mathematics of Diffusion**, Oxford: Clarendon Press, 1975, p. 85.
- DANGLES, O.; BROUILLARD, R. A spectrophotometric method based on the anthocyanin copigmentation interaction and applied to the quantitative study of molecular complexes. **Journal of the Chemical Society**, Perkin Transactions 2, v. 2, 1992, p. 247-257.
- DANGLES, O.; WIGAND M. C.; BROUILLARD, R. Anthocyanin anti-copigment effect. **Phytochemistry**, v. 31, n. 11, 1992, p. 3811-3812.
- DE SOUZA, K.C.B.; SCHAPOVAL, E.E.S.; BASSANI, V.L. LC Determination of Flavonoids: Separation of Quercetin, Luteolin e 3-O-Methylquercetin in Achyrocline satureoides Preparations. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, 28, 2002, p.771-777.
- DEL VALLE, J. M.; AGUILERA, J. M. Extracción con CO₂ a alta presión: fundamentos y aplicaciones en la industria de alimentos (review). **Food Science and Technology International**, v. 5, n. 1, 1999, p. 1-24.

- DELGADO-VARGAS F., JIMENEZ, A.R., PAREDES-LOPEZ, O., Natural pigments: carotenoids, anthocyanins, and betalains: characteristics, biosynthesis, processing, and stability. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 40, 2000, p. 173-289.
- DELWICHE J. The impact of perceptual interactions on perceived flavor. **Journal of Food Quality and Preference**, v. 14, n. 2, 2003, p. 137-146.
- DICKEL, M.L.; RATES, S.M.K.; RITTER, M.R. Plants popularly used for losing weight purposes in Porto Alegre, South Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, 2007, p. 60-71.
- DONADIO, L. C. **Jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba* (Vell) Berg, Série Frutas Nativas. Jaboticabal: FUNEP, 2000, 55 p.**
- DUARTE, W. F.; AMORIM, J. C.; LAGO, L. D.; DIAS, D. R.; SCHWAN, R. F. Optimization of Fermentation Conditions for Production of the Jaboticaba (*Myrciaria cauliflora*) Spirit Using the Response Surface Methodology. **Journal of Food Science**, v. 76, n. 5, 2011, p. C782-C790.
- EINBOND, L. S.; REYNERTSON, K. A.; DUO, X. D.; BASILE, M. J.; KENNELLY, E. J. Anthocyanin antioxidants from edible fruits. **Food Chemistry**, v. 84, n. 1, 2004, p. 23-28.
- ESQUÍVEL, M.M.; BERNARDO-GIL, M.G.; KING, M.B. Mathematical Models for Supercritical Extraction of Olive Husk Oil. **Journal of Supercritical Fluids**, 16, 1999, p. 43-58.
- FALCÃO, L. D.; BARROS, D. M.; GAUCHE, C; LUIZ, M. T. B. Copigmentação intra e intermolecular de antocianinas: uma revisão. **Boletim do CEPPA**, v. 21, n. 2, 2003, p. 351-366.
- FAO (FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED STATES). Statistics 2011. FAOSTAT - Agriculture. Countries by commodity. Disponível em: <<http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx>>. Acesso em: 20 de março de 2013.
- FAVARRO, M. M. A. **Extração, estabilidade e quantificação de antocianinas de frutas típicas brasileiras para aplicação como corantes**. Dissertação (Mestrado em Química), Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2008, 102p.

- FRANÇA, L.F.; MEIRELES, M.A.A. Modeling the Extraction of Carotene and Lipids from Pressed Palm Oil (*Elaes guineensis*) Fibers using Supercritical CO₂. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 18, 2000, p. 35-47.
- FRANCIS, F. J. Anthocyanins and betalains: composition and applications. **Cereal Foods World**, v. 45, 2000, p. 208-213.
- FRANCIS, F. J. Food colorants: anthocyanins. **Critical Review of Food Science and Nutrition**, v. 28, 1989, p. 273-314.
- FREUND, R. J.; LITTELL, R. C. SAS System for Regression –SAS Series in Statistical Applications, **SAS Institute Inc.**, NC, USA, 1995.
- GEÖCZE, A. C. **Influência da preparação do licor de jabuticaba (*Myrciaria jabotica* (Vell) Berg) no teor de compostos fenólicos**. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos), Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2007, 81 p.
- GHAFOORA, K.; PARKA, J.; CHOI, Y.-H. Optimization of supercritical fluid extraction of bioactive compounds from grape (*Vitis labrusca* B.) peel by using response surface methodology. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, v. 11, n. 3, 2010, p. 485-490.
- GIACOMETTI, D.; LLERAS, E. In: J. E. H. Bermejo, J. Leon, (Org.). *Neglected Crops: 1492 from a Different Perspective*. Rome: FAO, 1994, pp 229-237.
- GIADA, M. L. R. Avaliação da capacidade antioxidante dos compostos fenólicos do cotilédono da semente de girassol (*Helianthus annuus* L.) rajada. Tese de Doutorado, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006, 206 p.
- GIADA, M. L. R.; MANCINI FILHO, J. Importância dos compostos fenólicos da dieta na promoção da saúde humana. **Publication UEPG Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 12, n. 4, 2006, p. 7-15.
- GIUSTI, M. M.; WROLSTAD, R. E. **Characterization and measurement of anthocyanins by UV-visible spectroscopy**. In: R.E. Wrolstad (Org.). *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*. New York: John Wiley & Sons, 2001, p. 2.1-2.13.

- GOIFFON, J. P.; MOULY, P. P.; GAYDOU, E. M. Anthocyanic pigment determination in red fruit juices, concentrated juices and scrups usind liquid chromatography. **Analytica Chimica Acta**, v. 382, n. 1-2, 1999, p. 39.
- GOLDBERG, I. **Functional Foods: designer foods, pharmafoods, and nutraceuticals**. New York: Chapman & Hall, 1994, 571 p.
- GOTO, M.; SATO, M.; HIROSE, T. Extraction of Peppermint Oil by Supercritical Carbon Dioxide. **Journal of Chemical Engineering of Japan**, v. 26, 1993, p. 401-407.
- GUEDES, M. C. Antocianinas: pigmento natural ou remédio. **Revista Científica do IMAPES**, abril, 2004, p. 71-73.
- 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 Sciences**, v. 71, 2002, p.693-705.
- GUNDUC, N.; EL, S. N. Assessing antioxidant activities of phenolic compounds of common Turkish food and drinks on *in vitro* low-density lipoprotein oxidation. **Journal of Food Science**, v. 68, n. 8, 2003, p. 2591-2595.
- HAGIWARA, A. et al. Pronounced inhibition by a natural anthocyanin, purple corn color, of 2-amino-16-phenylimidazol (4,5-b) pyridine (PhIP)-associated colorectal carcinogenesis in male F344 rats pretreated with 1,2-dimethylhydrazine. **Cancer Letters**, v. 171, 2001, p. 17-25.
- HALLIWELL, B. Antioxidant characterization: methodology and mechanism. **Biochemical Pharmacology**, v. 49, 1995, p. 1341-1348.
- Hasbay Adil, H.I. Çetin, M.E. Yener, A. Bayındırlı. Subcritical (carbon dioxide + ethanol) extraction of polyphenols from apple and peach pomaces, and determination of the antioxidant activities of the extracts. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 43, 2007, p. 55–63.
- HENAN NAME BRAND MACHINERY CO., LTD. Disponível em: <http://nmbjixie.en.alibaba.com/>. Acessado em: 22 de outubro de 2012.
- HENRY, M.C., YONKER, C.R., Supercritical fluid chromatography, pressurized liquid extraction, and supercritical fluid extraction. **Analytical Chemistry**, v. 78, 2006, p. 3909-3916.

- HERRERO, M.; CIFUENTES, A.; IBAÑEZ, E. Sub- and supercritical fluid extraction of functional ingredients from different natural sources: plants, food-by-products, algae and microalgae, **Food Chemistry**, v. 98, 2006, p. 136–148.
- HOU, D. X. Potential mechanisms of cancer chemoprevention by anthocyanins. **Current Molecular Medicine**, v. 3, 2003, p. 149–159.
- HUIE, C. W. A review of modern sample-preparation techniques for the extraction and analysis of medicinal plants. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 373, 2002, p. 23-30.
- IBARZ, A.; BARBOSA-CÁNOVAS, G. V. **Unit operations in food engineering**. New York: CRC Press, 2003.
- Intelligen, Inc.**, 1995. SuperPro Designer-User's Guide, Scotch Plains, New Jersey. Disponível em: < <http://www.intelligen.com/>>. Acessado em: 12 de dezembro de 2011.
- JACKMAN, R. L.; SMITH, J. L. **Anthocyanins and betalains**. In: G. A. F. Hendry, J. D. Houghton (Org.) **Natural Food Colorants**. 2nd ed. Londres: Chapman & Hall, 1996. p. 245-309.
- JEONG, M.; CHESNEY, D. J. Investigation of modifier effects in supercritical CO₂ extraction from various solid matrices. **Journal of Supercritical Fluid**, v. 16, 1999, p. 33-42.
- JU, Z. Y.; HOWARD, L. R.. Subcritical water and sulfured water extraction of anthocyanins and other phenolics from dried red grape skin. **Journal of Food Science**, v. 70, n. 4, 2005, p. 270-276.
- JU, Z.Y.; HOWARD, L.R. Effects of solvent and temperature on pressurized liquid extraction of anthocyanins and total phenolics from dried red grape skin. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, n. 18, 2003, p. 5207-5213.
- KADARIAN, C.; BROUSSALIS, A.M.; MIÑO, J.; LOPEZ, P.; GORZALCZANY, S.; FERRARO, G.; ACEVEDO, C. Hepatoprotective Activity of *Achyrocline satureioides* (Lam) D.C. **Pharmacological Research**, v. 45, 2002, p. 57-61.
- KALIL, A. C. **Manual Básico de Nutrição**. São Paulo: Instituto de Saúde, 1975.

- KAPADIA, G. J.; BALASUBRAMANIAN, V.; TOKUDA, H.; I WASHINA, A; NISHINO, H. Inhibition of 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate induced Epstein virus early antigen activation by natural colorants. **Cancer Letters**, v. 115, 1997, p. 173 –178.
- KAPASAKALIDIS P.G., RASTALL R.A., GORDON M.H., Extraction of polyphenols from processed black currant (*Ribes nigrum* L.) residues, **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, n. 11, 2006, p. 4016–4021.
- KITZBERGER, C. S. G. **Obtenção de Extrato de Cogumelo Shiitake (*Lentinula edodes*) com CO₂ a Alta Pressão**. Dissertação de Mestrado, Programa de PósGraduação em Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2005. 142p.
- KONG, J. M. et al. Analysis and biological activities of anthocyanins. **Phytochemistry**, v. 64, 2003, p. 923-933.
- KORDALI, S., KOTAN, R., MAVI, A., CAKIR, A., ALA, A., YILDIRIM, A. Determination of the chemical composition and antioxidant activity of the essential oil of *Artemisia dracunculus* and of the antifungal and antibacterial activities of Turkish *Artemisia absinthium*, *A. dracunculus*, *Artemisia santonicum*, and *Artemisia spicigera* essential oils. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, 2005, p. 9452–9458.
- KORZUCHOWSKA, A., WILSKA J. J. Anthocyanins and chlorogenic acid copigmentation: influence on the colour of strawberry and chokeberry juices. **Lembesm Unters Forsch**, v. 203. n. 1, 1996, p. 38-42.
- KRYGIER, K.; SOSULSKI, F.; HOGGE, L. Free, esterified, and insoluble-bound phenolic acids. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 30, 1982, p. 334-336,.
- KWIATKOWSKI, J. R.; MCALOON, J. A.; TAYLOR, F.; JOHNSTON, J. B. Modeling the process and costs of fuel ethanol production by the corn dry-grind process. **Industrial Crops and Products**, v. 23, 2006, p. 288-296.
- LAGO, E.S.; GOMES, E.; SILVA, R. PRODUÇÃO DE GELÉIA DE JAMBOLÃO (*Syzygium cumini* Lamarck): processamento, parâmetros físico-químicos e avaliação sensorial. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, n. 4, 2006, p. 847-852.

- LEAL, P. F. **Estudo comparativo entre os custos de manufatura e as propriedades funcionais de óleos voláteis obtidos por extração supercrítica e destilação por arraste a vapor**. Tese (Doutorado), Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Campinas, 2008, 275 p.
- LEAL, P. F. **Obtenção de extratos vegetais com propriedades funcionais via tecnologia supercrítica: uso de CO₂ e CO₂ + H₂O**. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos), Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2005, 190 p.
- LEE, J.H.; KANG, N.S.; SHIN, S.O.; SHIN, S.H.; LIM, S.G.; SUH, D.Y.; BAEK, I.Y.; PARK, K.Y.; HA, T.J. Characterisation of anthocyanins in the black soybean (*Glycine max* L.) by HPLC-DAD-ESI/MS analysis. **Food Chemistry**, v. 112, 2009, p. 226–231.
- LIAZID, A.; PALMA, M.; BRIGUI, J.; BARROSO, C.G. . Investigation on phenolic compounds stability during microwave-assisted extraction. **Journal of Chromatography A**, v. 1140, 2007, p. 29-34.
- LIMA, A. **Caracterização química, avaliação da atividade antioxidante in vitro e in vivo, e identificação dos compostos fenólicos presentes no Pequi (*Caryocar brasiliense*, Camb.)**. Tese de Doutorado, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008, 182 p.
- LÓPEZ-SEBASTIÁN, S.; RAMOS, E.; IBÁÑEZ, E.; BUENO, J. M.; BALLESTER, L.; TABERA, J.; REGLERO, G. Dearomatization of Antioxidant Rosemary Extracts by Treatment with Supercritical Carbon Dioxide. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 46, n. 1, 1998, p. 13-19.
- LUQUE DE CASTRO, M. D.; GARCÍA-AYUSO, L. E. Soxhlet extraction of solid materials: an outdated technique with a promising innovative future. **Analytica Chimica Acta**, v. 369, 1998, p. 1-10.
- LUQUE DE CASTRO, M. D.; VALCÁRCEL-CASES, M.; TENA, M. T. **Analytical Supercritical Fluid Extraction**. Heidelberg: Springer, 1994. 321 p.

- MACZ-POP, G. A.; RIVAS-GONZALO, J. C.; PÉREZ-ALONSO, J. J.; GONZALÉZPARAMÁS, A. M. Natural occurrence of free anthocyanin aglycones in beans (*Phaseolus vulgaris* L.). **Food Chemistry**, v. 94, n. 3, 2006, p. 448-456.
- MALACRIDA, C. R.; MOTTA, S. Antocianinas em suco de uva: composição e estabilidade. **Boletim do CEPPA**, v. 24, 2006, p. 59-82.
- MARTÍNEZ, J. **Extração de Óleos Voláteis e Outros Compostos com CO₂ Supercrítico: Desenvolvimento de uma Metodologia de Aumento de Escala a Partir da Modelagem Matemática do Processo e Avaliação dos Extratos Obtidos**. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos), Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Campinas, 2005, 172 p.
- MARTÍNEZ, J.; MONTEIRO, A.R.; ROSA, P.T.V.; MARQUES, M.O.M.; MEIRELES, M.A.A. Multicomponent Model to Describe Extraction of Ginger Oleoresin with Supercritical Carbon Dioxide. **Industrial and Engineering Chemistry Research**, v. 42, n. 5, 2003, p. 1057-1063.
- MATOS, J. L. R. **Frutíferas nativas do Brasil**. São Paulo: Nobel, 1983, 92 p.
- MATSUI, T., UEDA, T., OKI, T., SUGITA, K., TERAHARA, N., MATSUMOTO, K. α -glucosidase inhibitory action of natural acylated anthocyanins. 2. α -Glucosidase inhibition by isolated acylated anthocyanins. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, 2001, p. 1952-1956.
- MAZZA, G.; BROUILLARD, R. Recent developments in the stabilization of anthocyanins in food products. **Food Chemistry**, v. 25, 1987, p. 207-225.
- MAZZA, G.; MINIATI, E. **Anthocyanins in fruits, vegetables and grains**. Boca Raton: CRC Press, 1993. 362 p.
- MCHUGH, M. A., KRUKONIS, V. J. **Supercritical fluid extraction: principles and practice**. 2nd Ed. Boston, MA: Butterworth-Heinemann, 1994. 512 p.
- MEIRELES, M. A. A. Supercritical extraction from solid: process design data (2001-2003). **Current Opinion in Solid State and Materials Science**, v. 7, 2003, p. 321-330.
- MELETTI, L. M. M. **Propagação de frutíferas tropicais**. Guaíba: Livraria e Editora Agropecuária, 2000, p. 145-153.

- MERCADANTE, A. Z. ; BOBBIO, F. O. **Anthocyanins in foods: occurrence and physicochemical properties**. In: Carmen Socaciu. (Org.). Food Colorants: Chemical and Functional Properties. Boca Raton: CRC Press, Taylor & Francis Group, v. 1, 2008, p. 241-276.
- MONTES, C.; VICARIO, I.M.; RAYMUNDO, M.; FETT, R.; HEREDIA, F.J. Application of tristimulus colorimetry to optimize the extraction of anthocyanins from Jaboticaba (*Myrcia Jaboticaba* Berg.). **Food Research International**, v. 38, 2005, p. 983-988.
- MORAZZONI, P.; MAGISTRETTI, M. J. Activity of Myrtocyan, an anthocyanoside complex from *V. myrtillus* (VMA), on platelet aggregation and adhesiveness. **Fitoterapia**, v. 61, 1990, p. 13–21.
- MORRISON, R.; BOYD, R. **Química orgânica**. 13.ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1996. 1510p.
- MORTON, J. **Fruits of Warm Climates**; Julia Morton: Winterville, NC, 1987, p 386-388.
- 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**. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos). Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2004, 141p.
- NAIK, S.N.; LENTZ, H.; MAHESHAWARE, R.C. Extraction of perfumes and flavours from plant materials with liquid carbon dioxide under liquid-vapor equilibrium, **Fluid Phase Equilibria**, v. 49, 1989, p. 115-126.
- NGUYEN KHOI TRADING COMPANY LIMITED. Disponível em: <http://nguyenkhoi.trustpass.alibaba.com/>. Acessado em: 15 de outubro de 2012.
- NIST (National Institute of Standards and Technology). Mass Spectrometry Data Center, S.E. Stein (director), "Retention Indices". In: P.J. Linstrom and W.G. Mallard (Org.). NIST Chemistry WebBook, NIST Standard Reference Database Number 69, Gaithersburg MD, 20899 Disponível em: <<http://webbook.nist.gov>>. Acessado em: 22 de junho de 2011
- OJWANG, L.O., DYKES, L., AWIKA, J.M. Ultra performance liquid chromatography – tandem quadrupole mass spectrometry profiling of anthocyanins and flavonols in cowpea (*Vigna*

- unguiculata) of varying genotypes. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 60, 2012, p. 3735-3744.
- Ojwang, L.O.; Dykes, L.; Awika, J.M. Ultra performance liquid chromatography-tandem quadrupole mass spectrometry profiling of anthocyanins and flavonols in cowpea (*Vigna unguiculata*) of varying genotypes. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 60, n. 14, 2012, p. 3735-3744.
- OLIVEIRA, A.L.; BRUNINI, M.A.; SALANDINI, C.A.R.; BAZZO, F.R. Caracterização tecnológica de jabuticabas Sabará provenientes de diferentes regiões de cultivo. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 25, 2003, p. 397-400.
- ONG, E. S.; CHEONG, J. S. H.; GOH, D. Pressurized hot water extraction of bioactive or marker compounds in botanicals and medicinal plant materials, **Journal of Chromatography A**, v. 1112, 2006, p. 92–102.
- PASQUEL, A., MEIRELES, M. A. A., MARQUES, M. O. M., PETENATE, A. J. Extraction of stevia glycosides with CO₂ + water, CO₂ + ethanol, and CO₂ + water + ethanol. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v. 17, 2000, p. 271-282.
- PASSMORE, R., NICOL, B. M., RAO, M. N. **Manual sobre Necessidades Nutricionales del Hombre**. Ginebre: OMS, 1975.
- PEREIRA, C. G. **Obtenção de extratos de leiteira de dois irmãos (*Tabernaemontana catharinensis* A.D.C.), cidrão (*Aloysia triphylla* L'Hérit. Britton) e manga (*Mangifera indica* L.) por extração supercrítica: estudo dos parâmetros de processo, caracterização e atividade antioxidante dos extratos**. Tese (Doutorado), Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Campinas, 2005, 225 p.
- PEREIRA, C. G., MARQUES, M. O. M., BARRETO, A. S., SIANI, A. C., FERNANDES, E. C., MEIRELES, M. A. A. Extraction of indole alkaloids from *Tabernaemontana catharinensis* using supercritical CO₂+ethanol: an evaluation of the process variables and the raw material origin. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 30, 2004, p. 51-61.
- PEREIRA, C. G., MEIRELES, M. A. A. Economic analysis of rosemary, fennel and anise essential oils obtained by supercritical fluid extraction. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 22, 2007a, p. 407-413.

- PEREIRA, C. G.; MEIRELES, M. A. A. Evaluation of global yield, composition, antioxidant activity and cost of manufacturing of extracts from lemon verbena (*Aloysia triphylla* [L'Hérit.] Britton) and mango (*Mangifera indica* L.) leaves. **Journal of Food Process Engineering**, v. 30, 2007b, p. 150-173.
- PEREIRA, M. **Propagação via estacas apicais, caracterização morfológica e molecular de jabuticabeiras (*Myrciaria spp*)**. Tese (Doutor em Recursos Florestais) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2003, 206 p.
- PEREIRA, M.C.T.; SALOMÃO, L.C.C.; MOTA, W.F.; VIEIRA, G. Atributos físicos e químicos de frutos de oito clones de jabuticabeiras. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 22, 2000, p. 16-21.
- PERRUT, M. Supercritical fluid applications: industrial developments and economic issues. **Industrial and Engineering Chemistry Research**, v. 39, 12, 2000, p. 4531-4535.
- PERRUT, M., CLAVIER, J. -Y. Supercritical fluid formulation: process choice and scale-up. **Industrial and Engineering Chemistry Research**, v. 42, 2003, p. 6375-6383.
- PETERSON, J., DWYER, J. Flavonoids: dietary occurrence and biochemical activity. **Nutrition Research**, v. 18, 1998, p. 1995-2018.
- POLYDORO, M.; DE SOUZA, K.C.B.; ANDRADES, M.E.; DA SILVA, E.G.; BONATTO, F.; HEYDRICH, J.; DAL-PIZZOL, F.; SCHAPOVAL, E.E.S.; BASSANI, V.L.; MOREIRA, J.C.F. Antioxidant, a pro-oxidant and cytotoxic effects of *Achyrocline saturioides* extracts. **Life Sciences**, 74, 2004, p. 2815-2826.
- PORTILLO-PRIETO, R. **Extração do Óleo Essencial de Khoa (*Satureja boliviana* Benth Briq) por Diferentes Processos: destilação por arraste a vapor, solventes orgânicos e dióxido de carbono pressurizado**. Tese (Doutor em Engenharia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1999, 218 p.
- PRADO, I.M. **Uso de simulador no estudo de aumento de escala e viabilidade econômica do processo de extração supercrítica de produtos naturais**. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos). Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2009, 113 p.

- PRADO, J.M. **Estudo do aumento de escala do processo de extração supercrítica em leito fixo.** Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos). Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2010, 283 p.
- PRADO, J.M.; PRADO, G.H.C.; MEIRELES, M.A.A. Scale-up study of supercritical fluid extraction process for clove and sugar cane residue. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 56, 2011, p. 231-237.
- PROVENZI, G. **Estabilidade de enocianinas adiconadas de alfa, beta e gama ciclodextrina e aplicação em gelatina.** Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos), Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2001, 73 p.
- QUISPE-CONDORI, S. **Avaliação de metodologias experimentais para a determinação do coeficiente de difusão efetivo na extração de óleos essenciais com fluidos supercríticos.** Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos), Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Campinas, 2002, 140 p.
- QUISPE-CONDORI, S. **Determinação de parâmetros de processo nas diferentes etapas da extração supercrítica de produtos naturais: Artemisia annua, Cordia verbenacea, Ocimum selloi e Foeniculum vulgare.** Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos), Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Campinas, 2005, 239 p.
- QUISPE-CONDORI, S. et al. Global yield isotherms and kinetic of artemisinin extraction from *Artemisia annua* L leaves using supercritical carbon dioxide. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 36, 2005, p. 40-48.
- REIN, M., 2005 **Copigmentation reactions and color stability of berry anthocyanins.** Dissertation. University of Helsinki, Helsinki, 2005. Disponível em: <http://ethesis.helsinki.fi/julkaisut/maa/skemi/vk/rein/copigmen.pdf>. Acessado em: 6 de agosto 2011.
- REVERCHON, E., DE MARCO, I. Supercritical fluid extraction and fractionation of natural matter. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 38, 2006, p. 146-166.
- REYNERTSON, K. A.; WALLACE, A. M.; ADACHI, S.; GIL, R. R.; YANG, H.; BASILE, M. J.; D'ARMIENTO, J.; WEINSTEIN, I. B.; KENNELLY, E. J. Bioactive depsides and

- anthocyanins from jaboticaba (*Myrciaria cauliflora*). **Journal of Natural Products**, v. 69, n. 8, 2006, p. 1228-1230.
- REYNERTSON, K. A.; YANG, H.; JIANG, B.; BASILE, M. J.; KENNELLY, E. J. Quantitative analysis of antiradical phenolic constituents from fourteen edible Myrtaceae fruits. **Food Chemistry**, v.109, n. 4, 2008, p. 883–890.
- RICE-EVANS, C. A. Measurement of total antioxidant activity as a marker of antioxidant status *in vivo*: procedures and limitations. **Free Radical Research**, v. 33, 1999, p. 59-66.
- RODRIGUES, V. M. et al. Determination of the solubility of extracts from vegetable raw material in pressurized CO₂: a pseudo-ternary mixture formed by cellulosic structure + solute + solvent. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 22, 2002, p. 21-36.
- RODRIGUEZ-SAONA, L.E.; WROLSTAD, R.E. **Extraction, isolation and purification of anthocyanins**. Capítulo 2: Anthocyanins. In: S. King, M. Gates, L. Scalettar (Org.). Current Protocols in Food Analytical Chemistry. New York, NY: John Wiley & Sons, Inc., 2002.
- ROSA, P. T. V.; MEIRELES, M. A. A. Rapid estimation of the manufacturing cost of extracts obtained by supercritical fluid extraction. **Journal of Food Engineering**, v. 67, 2005, p. 235-240.
- ROSENBERG, M.; YOUNG, S. L. Whey proteins as microencapsulating agents. Microencapsulation of anhydrous milkfat-structure evaluation. **Food Structure**, v. 12, n. 1, 1993, p. 31-41.
- ROSTAGNO, M.A.; Palma, M.; Barroso, C.G. Ultrasound assisted extraction of soy isoflavones. **Journal of Chromatography A**, v. 1012, 2003, p. 119-128.
- ROUF, S. A., DOUGLAS, P. L., MOO-YOUNG, M., SCHARER, J. M. Computer simulation for large scale bioprocess design. **Biochemical Engineering Journal**, v. 8, n. 3, 2001, p. 229-234.
- ROZZI, N. L.; SINGH, R. K. Supercritical Fluids and the Food Industry. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 1, 2002, p. 33-44.
- RUFFA, M.J.; FERRARO, G.; WAGNER, M.L.; CALCAGNO, M.L.; CAMPOS, R.H.; CAVALLARO, L. Cytotoxic effect of Argentine medicinal plant extracts on human hepatocellular carcinoma cell line. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 79, 2002, p. 335-339.

- RUFINO, M. S.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S.; PÉREZ-JIMENÉZ, J.; SAURA-CALIXTO, F.; MANCINI-FILHO, J. Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. **Food Chemistry** v. 121, n. 4, 2010, p. 996-1002.
- SANTOS, D. T. **Extração, micronização e estabilização de pigmentos funcionais: construção de uma unidade multipropósito para desenvolvimento de processos com fluidos pressurizados**. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos), Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2011, 302 p.
- SANTOS, D. T., MEIRELES, M. A. A. Jabuticaba as a Source of Functional Pigments. **Pharmacognosy Reviews**, v. 3, n. 5, 2009, p. 127-132.
- SANTOS, D.T.; MEIRELES, M.A.A. Optimization of bioactive compounds extraction from jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*) skins assisted by high pressure CO₂. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 12, n. 3, 2011, p. 398-406.
- SANTOS, D.T.; VEGGI, P.C.; MEIRELES, M.A.A. Extraction of antioxidant compounds from jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*) skins: yield, composition and economical evaluation. **Journal of Food Engineering**, v. 101, 2010, p. 23-31.
- SANTOS, D.T.; VEGGI, P.C.; MEIRELES, M.A.A. Optimization and economic evaluation of pressurized liquid extraction of phenolic compounds from jabuticaba skins. **Journal of Food Engineering**, v. 108, 2012, p. 444-452.
- SANTOS, J. L. **Projeto de uma unidade de extração supercritical empregando simulador de processos**. Dissertação (Mestre em Engenharia de Alimentos) Universidade Federal do Pará, Belém, 2007, 223 p.
- SAONA-RODRIGUEZ, L. E.; GIUSTI, M.; WROLSTAD, R. E. Anthocyanin pigment composition of red-fleshed potatoes. **Journal of Food Science**, v. 63, 1998, p. 458-465.
- SARNI-MANCHADO, P. S.; FULCRAND, H.; SOUQUET, J.M.; CHEYNIER, V.; MOUTOUNET, M. Stability and color of unreported wine anthocyanin-derived pigments. **Journal of Food Science**, v. 61, n. 5, 1996, p. 938-941.
- SAS Institute Inc. Software SAS 9.2 for Windows. Windows version 5.1.2600. Copyright© 2002-2008. Cary, NC, USA.

- SILVA, P. H. A.; FARIA, F. C.; TONON, B.; MOTA, S. J. D.; PINTO, V. T. Avaliação da composição química de fermentados alcoólicos de jabuticaba (*Myrciaria jabuticaba*). **Química Nova**, v. 31, n. 3, 2008, p. 595-600.
- SINGLETON, V. L., ROSSI, J. A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 16, 1965, p. 144-158.
- SINGLETON, V. L.; ORTHOFER, R.; LAMUELA-RAVENTOS, R. M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. **Methods in Enzymology**, v. 299, 1999, p. 152-178.
- SOCACIU C. **Food Colorants**, New York: CRC Press, 2007, p. 551-616.
- SOUZA, R. B. **Acúmulo e distribuição de minerais no fruto de jabuticaba (*Myrciaria cauliflora* (Vell) Berg cv. 'Sabará') em desenvolvimento**. Tese (Doutorado em Fitotecnia), Universidade Federal de Viçosa, 1992, 89 p.
- SOVOVÁ, H. Mathematical model for supercritical fluid extraction of natural products and extraction curve evaluation. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 33, 2005, p. 35-52.
- SOVOVÁ, H. Rate of the vegetable oil extraction with supercritical CO₂-I: modeling of extraction curves. **Chemical Engineering Science**, , v. 49, 1994, p. 409-414.
- SOVOVÁ, H., SAJFERTOVA, M., BÁRTLOVÁ, M., OPLETAL, L. Near-critical extraction of pigments and oleoresin from stinging nettle leaves. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 30, 2004, p. 213-224.
- SPIILIMBERGO, N., ELVASSORE, N., BERTUCCO, A. Microbial inactivation by highpressure. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 22, 2002, p. 55-63.
- STALIKAS, C. D. Extraction, separation, and detection methods for phenolic acids and flavonoids. **Journal of Separation Science**, v. 30, 2007, p. 3268-3295.
- STRINGHETA, P. C. **Identificação da estrutura e estudo da estabilidade das antocianinas extraídas da fluorescência de capim gordura (*Melinis minutiflora*, Pal de Beauv)**. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos). Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, São Paulo, 1991, 138 p.

- SVILAAS, A. et al. Intakes of antioxidants in coffee, and vegetables are correlated with plasma carotenoid in humans. **Journal of Nutrition**, v. 3, n. 134, 2004, p. 562-567.
- TAKEUCHI, T. M. **Extração supercrítica de macela, cravo-da-índia e vetiver: aspectos tecnológicos e econômicos**. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos), Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Campinas, 2009, 417 p.
- TAKEUCHI, T. M.; LEAL, P. F.; ROSA, P. T.V.; MEIRELES, M. A. A. Study of the phase equilibrium formed inside the flash tank used at the separation step of a supercritical fluid extraction unit. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 43, 2008, p. 447-459,.
- TAMURA, H.; TAKADA, M.; YAMAGAMI, A; SHIOMI, K. **The color stability and antioxidative activity of an anthocyanin and gamma-cyclodextrin complex**. In: S. TAKAYUKI; T. JUNJI; O. TOSHIHIKO (Org.). Functional foods for disease prevention. I. Fruits, vegetables, and teas. Oxford: University Press, 1998, p. 157-171.
- TAN, C.; LIOU, D. Modeling of Desorption at Supercritical Conditions. **American Institute of Chemical Engineers (AIChE) Journal**, v. 35, 1989, p. 1029-1031.
- TAYLOR, L. T. **Supercritical fluid extraction**. New York: John Wiley & Sons Inc., 1996, 181 p.
- TERCI, D. B. L. **Aplicações analíticas e didáticas de antocianinas extraídas de frutas**. Tese (Doutorado em Química Analítica), Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2004, 213 p.
- TREVISAN, L. V.; BOBBIO, P. A.; BOBBIO, F. O. Anthocyanins organic acids and carbohydrates of *Myrciaria jabuticaba* Berg. **Journal of Food Science**, v. 37, n. 6, 1972, p. 818-819,.
- TRINDADE, R. A. **Influência de antioxidantes naturais sobre o perfil lipídico de hambúrgueres bovinos submetidos à irradiação por Co^{60} e aceleradores de elétrons**. Dissertação de Mestrado, Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares Universidade de São Paulo, São Paulo, 2007, 112 p.
- TSUDA, T.; HORIO, F.; OSAWA, T. Dietary cyanidin 3-O-beta-D-glucoside-rich purple corn color prevents obesity and ameliorates hyperglycemia in mice. **Journal of Nutrition**, v. 133, 2003, p. 2125-2130.

- TUBEROSO, C. I. G.; KOWALCZYK, A.; SARRITZU, E.; CABRAS, P. Determination of antioxidant compounds and antioxidant activity in commercial oilseeds for food use. **Food Chemistry**, v. 103, 2007, p 1494-1501.
- TÜRKER, N.; ERDOGDU, F. Effects of pH and temperature of extraction medium on effective diffusion coefficient of anthocyanin pigments of black carrot (*Daucus carota* var. L.). **Journal of Food Engineering**, v. 76, n. 4, 2006, p. 579-583.
- TURTON, R.; BAILIE, R. C.; WHITING, W. B.; SHAEIWITZ, J. A. **Analysis, synthesis, and design of chemical process**. 1st ed., Upper Saddle River, NJ: Prentice Hall, 1998.
- TURTON, R.; BAILIE, R. C.; WHITING, W. B.; SHAEIWITZ, J. A. **Analysis, synthesis, and design of chemical process**. 2nd ed., Upper Saddle River, NJ: Prentice Hall, 2003.
- TURTON, R.; BAILIE, R. C.; WHITING, W. B.; SHAEIWITZ, J. A. **Analysis, synthesis, and design of chemical process**. 3rd ed., Upper Saddle River, NJ: Prentice Hall, 2009.
- TZIA, C.; LIADAKIS, G. **Extraction optimization in food engineering**. New York: Marcel Dekker, Inc., 2003.
- VASCONCELLOS, C. M. C. **Extração supercrítica dos óleos voláteis de Achyrocline satureioides (Macela) e Vetiveria zizanioides (Vetiver): determinação da cinética de extração e estimativa de custos de manufatura**. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos), Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2007, 114 p.
- VELASCO, R. J., VILLADA, H. S., CARRERA, J. E. Aplicaciones de los fluidos supercríticos en la agroindustria. **Información Tecnológica**, v. 18, n. 1, 2007, p. 53-65,.
- VERHULST, P.F. Notice sur la Loi que la Population Suit dans son Accroissement, Correspondance Mathématique et Physique, Tome X, p. 113-121, 1838.
- VIEIRA, G. S. **Extração de antocianinas da polpa de juçara: estudos dos processos de extração, otimização e avaliação econômica**. Exame de Qualificação Geral de Doutorado, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, 2013, 105 p.

- WANG, C. J.; WANG, J. M.; WEA, L. L.; CHIA, Y. C.; CHOU, F. P.; TSENG, T. H. Protective effect of Hibiscus Anthocyanins Against tert-butyl Hidroperoxideinduced Hepatic Toxicity in Rats. **Food and Chemical Toxicology**, v. 38, 2000, p. 411-416,.
- WHALEN, P. J. et al. Measurements of extrusion effects by viscosity profile using the rapid viscoanalyser. **Cereal Foods World**, v. 42, n. 6, 1977, p. 469-475.
- WILSKA-JESZKA, J. **Chemical and Functional Properties of Food Components**, 3rd edition, CRC Press, 2006, pp. 245-274.
- WU, S.-B., DASTMALCHI, K., LONG, C., KENNELLY, E.J. Metabolite profiling of jaboticaba (*Myrciaria cauliflora*) and other dark-colored fruit juices. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 60, 2012, p. 7513-7525.
- WU, X.; PRIOR, R.L. Systematic identification and characterization of anthocyanins by HPLC-ESI-MS/MS in common foods in the United States: fruits and berries. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, 2005, p. 2589-2599.
- WUXI RISING MACHINERY. Disponível em: http://portuguese.alibaba.com/gs-suppliers_wx-rising. Acessado em: 24 de outubro de 2012.
- YODA, S. K., MARQUES, M. O. M., PÉtenate, A. J., Meireles, M. A. A. Supercritical fluid extraction from Stevia rebaudiana Bertoni using CO₂ and CO₂+water: extraction kinetics and identification of extracted components. **Journal of Food Engineering**, v. 57, 2003, p. 125-134.
- YODIM, K. A., MCDONALD, J., KALT, W., JOSEPH, J. A. Potential role of dietary flavonoids in reducing microvascular endothelium vulnerability to oxidative and inflammatory insults. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 13, 2002, p. 282–288.
- ZANATTA, C. F.; CUEVAS, E.; BOBBIO, F. O.; Winterhalter, P.; Mercadante, A. Determination of anthocyanins from camu-camu (*Myrciaria dubia*) by HPLC-PDA, HPLC-MS and NMR. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 24, 2005, p. 9531-9535.
- 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.**

Dissertação (Mestrado), Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Campinas, 2001, 107 p.

ZHAO, C.; GIUSTI, M.M.; MALIK, M.; MOYER, M.P.; MAGNUSON, B.A. Effects of commercial anthocyanin-rich extracts on colonic cancer and nontumorigenic colonic cell growth. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, 2004, p. 6122–6128.

ZHISHEN, J.; MENGCHENG, T.; JIANMING, W. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. **Food Chemistry**, v. 64, n.4, 1999, p. 555–559.

ZIBO PULISI TRADING CO., LTD. Disponível em: <http://pulisichem.en.alibaba.com/>. Acessado em: 20 de outubro de 2012.

9 ATIVIDADES ACADÊMICAS

9.1 LISTA DE PRODUÇÃO CIENTÍFICA E TÉCNICA

9.1.1 Artigos Publicados em Periódicos Indexados

1. CAVALCANTI, R.N., SANTOS, D.T., MEIRELES, M.A.A. Non-thermal stabilization mechanisms of anthocyanins in model and food systems - an overview. **Food Research International**, v. 44, n. 2, 2011, p. 499-509.
2. CAVALCANTI, R.N., NAVARRO-DÍAZ, H.J., SANTOS, D.T., ROSTAGNO, M.A., MEIRELES, M.A.A. Supercritical carbon dioxide extraction of polyphenols from pomegranate (*Punica granatum* L.) leaves: chemical composition, economic evaluation and chemometric approach. **Journal of Food Research**, v. 1, n. 3, 2012, p. 282-294.
3. CAVALCANTI, R.N., VEGGI, P.C., MEIRELES, M.A.A. Supercritical fluid extraction with a modifier of antioxidant compounds from jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*) byproducts: economic viability. **Procedia Food Science**, v. 1, 2011, p. 1672-1678.
4. VEGGI, P. C., CAVALCANTI, R. N., MEIRELES, M. A.A. Modifier effects on supercritical fluid extraction (SFE) of some Brazilian plants: antioxidant activity and economical evaluation. **Procedia Food Science**, v. 1, 2011, p. 1717-1724.
5. HATAMI, T., CAVALCANTI, R.N., TAKEUCHI, T.M., MEIRELES, M.A.A. Supercritical fluid extraction of bioactive compounds from Macela (*Achyrocline satureioides*) flowers: Kinetic, experiments and modeling. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 65, 2012, p. 71-77.
6. SANTOS, D.T., CAVALCANTI, R.N., ROSTAGNO, M.A., QUEIROGA, C.L., EBERLIN, M.N., MEIRELES, M.A.A. Extraction of polyphenols and anthocyanins from the jambul (*Syzygium cumini*) fruit peels. **Food and Public Health**, v. 3, n. 1, 2013, p. 12-20.

9.1.2 Artigos Submetidos ou Aceitos em Periódicos Indexados

1. VIEIRA, G. S., CAVALCANTI, R. N., MEIRELES, M. A. A., HUGINGER, M. D. Anthocyanins extraction from jussara (*Euterpe edulis*) by ultrasound and conventional

assisted bed extraction: bioactive compound yields and economical evaluation. **Journal of Food Engineering**, 2013. **IN PRESS**.

9.1.3 Capítulos de Livros Publicados

1. CAVALCANTI, R. N., MEIRELES, M. A. A. Fundamentals of Supercritical Fluid Extraction. In: Pawliszyn, J.; Lord, H. L.. (Org.). Comprehensive Sampling and Sample Preparation. 1^a ed.: Elsevier Inc., v. 2, 2012, p. 117-133.
2. CAVALCANTI, R. N., ROSTAGNO, M. A., MEIRELES, M. A. A. Phenolic Acids Composition in Food Systems: Sample Preparation and Analytical Aspects. In: Sergi Munné-Bosch. (Org.). Phenolic Acids: Composition, Applications and Health Benefits. 1^a ed.: Nova Publisher, 2012, p. 97-124.

9.1.4 Trabalhos Publicados em Anais de Eventos

1. CALVALCANTI, R.N., MEIRELES, M.A.A. Optimization of pressurized liquid extraction of phenolic compounds from Jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*) by-product. In: IFT12 - Annual Meeting and Food Expo, 2012, Las Vegas, Estados Unidos.
2. VEGGI, P. C., CAVALCANTI, R. N., MEIRELES, M. A.A. Obtaining of Flavonoids and Phenolic Compounds of some Brazilian plants using Supercritical Fluid Extraction (SFE) and co-solvent. In: 6th INTERNATIONAL CIGR Technical Symposium. Towards a Sustainable Food Chain, 2011, Nantes, França.
3. CAVALCANTI, R.N., VEGGI, P.C., MEIRELES, M.A.A. Flavonoids and phenolic compounds recovery from jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*) residue by supercritical technology with modifier. In: 6th INTERNATIONAL CIGR Technical Symposium. Towards a Sustainable Food Chain, 2011, Nantes, França.
4. VEGGI, P. C., CAVALCANTI, R. N., MEIRELES, M. A.A. Modifier effects on supercritical fluid extraction (SFE) of some Brazilian plants: antioxidant activity and economical evaluation. In: International Congress of Engineering and Food (ICEF), 2011, Atenas, Grécia.

5. CAVALCANTI, R.N., VEGGI, P.C., MEIRELES, M.A.A. Supercritical fluid extraction with a modifier of antioxidant compounds from jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*) by-products: economic viability. In: International Congress of Engineering and Food (ICEF), 2011, Atenas, Grécia.
6. CAVALCANTI, R.N., SANTOS, D.T., MEIRELES, M.A.A. Composição centesimal das partes comestíveis do fruto de *Syzygium cumini*. In: 8º Simpósio Latino Americano de Ciências de Alimentos, 2009, Campinas, Brasil.
7. PRADO, I.M., ALBUQUERQUE, C.L.C., CAVALCANTI, R.N., MEIRELES, M.A.A. Use of a Commercial Process Simulator to Estimate the Cost of Manufacturing (COM) of Carotenoids Obtained Via Supercritical Technology from Palm and Buriti Trees. In: 9th International Symposium on Supercritical Fluids, Arcachon, França.

9.2 PARTICIPAÇÃO EM CURSOS

1. Curso Básico de Capacitação em Propriedade Intelectual para Gestores de Tecnologia, com carga horária de 38 h/a, oferecido pelo Instituto Nacional de Propriedade Industrial (INPI) e realizado por INOVA/UNICAMP, Campinas, Brasil, 2009;
2. Curso Intermediário de Capacitação em Propriedade Intelectual para Gestores de Tecnologia, com carga horária de 40 h/a, oferecido pelo Instituto Nacional de Propriedade Industrial (INPI) e realizado por INOVA/UNICAMP, Campinas, Brasil, 2009;
3. Curso Avançado de Capacitação em Propriedade Intelectual para Gestores de Tecnologia, com carga horária de 40 h/a, oferecido pelo Instituto Nacional de Propriedade Industrial (INPI) e realizado por INOVA/UNICAMP, Campinas, Brasil, 2009;
4. Oficina de Redação de Patentes, com carga horária de 32 h/a, oferecido pelo Instituto Nacional de Propriedade Industrial (INPI) e realizado por INOVA/UNICAMP, Campinas, 2010.
5. Curso em *Process Modeling and Optimization with SuperPro Designer and SchedulePro*, com carga horária de 16 h/a, oferecido por Intelligen, Inc. e realizado pelo CTBE, Campinas, Brasil, 2010.

6. Curso em *Statistical Thermodynamics: molecular dynamics*, com carga horária de 40 h/a, oferecido e realizado em Escola de Estudos Avançados em Termodinâmica Aplicada do Programa de Engenharia Química – COPPE/UFRJ, Rio de Janeiro, Brasil, 2010.

9.3 PREMIAÇÕES

1. 3º colocado com o trabalho “CALVALCANTI, R.N., MEIRELES, M.A.A. Optimization of pressurized liquid extraction of phenolic compounds from Jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*) by-product.” In: Poster Competition, IFT12 - Annual Meeting and Food Expo na categoria Functional Foods & Nutraceuticals. 2012, Las Vegas, Estados Unidos.

9.4 ESTÁGIOS DOCENTES

1. Programa de Estágio Docente (PED) – Grupo B – Atividades de Apoio à Docência Parcial sob Supervisão, no período de Agosto a Dezembro de 2010. Disciplina TA331, Turma A, Termodinâmica, sob a supervisão da Professora Doutora Maria Angela de Almeida Meireles, Faculdade de Engenharia de Alimentos/UNICAMP.
2. Programa de Estágio Docente (PED) – Grupo B – Atividades de Apoio à Docência Parcial sob Supervisão, no período de Agosto a Dezembro de 2010. Disciplina TA534, Turma A, Fenômenos de Transporte, sob a supervisão do Professor Doutor Antonio José de Almeida Meirelles, Faculdade de Engenharia de Alimentos/UNICAMP

10 ANEXOS

10.1 RESULTADOS EXPERIMENTAIS

10.1.1 Curvas padrão utilizadas nos experimentos espectrofotométricos

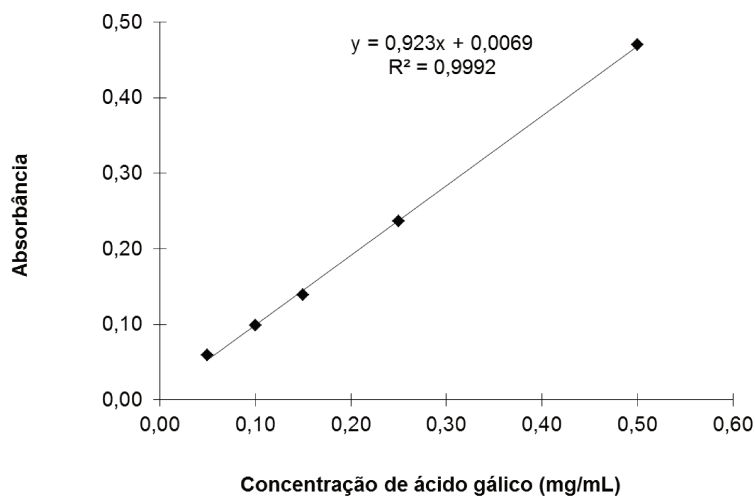


Figura 10.1 - Curva padrão de ácido gálico para método de determinação do teor de fenólicos totais.

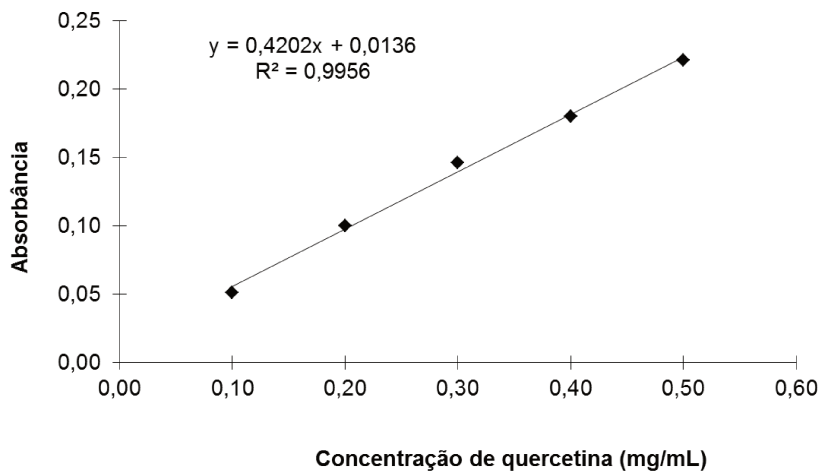


Figura 10.2 - Curva padrão de quercetina para método de determinação do teor de flavonóides totais

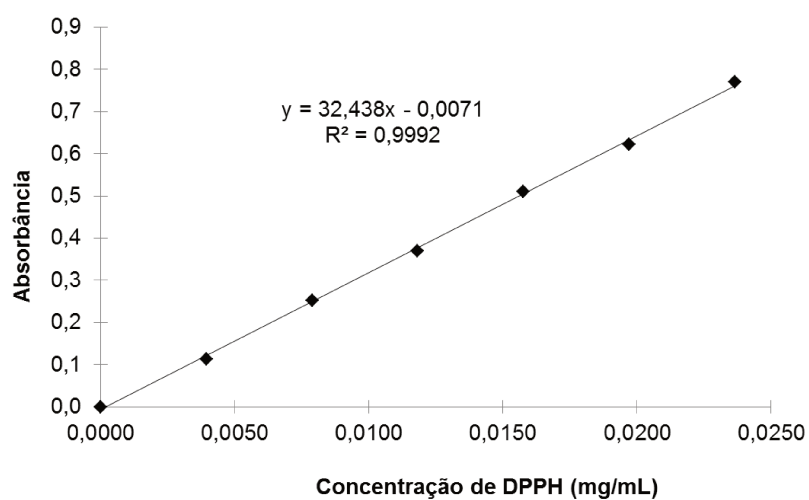


Figura 10.3 - Curva padrão do radical DPPH para método de atividade antioxidante DPPH.

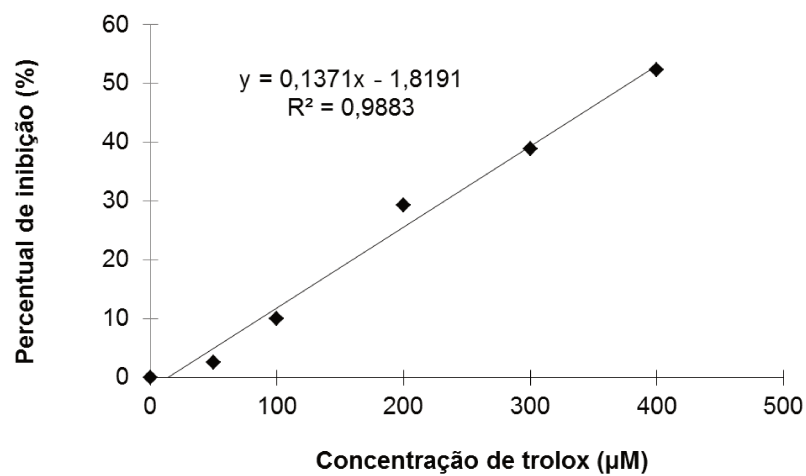


Figura 10.4 - Curva padrão de Trolox[®] para método de atividade antioxidante DPPH.

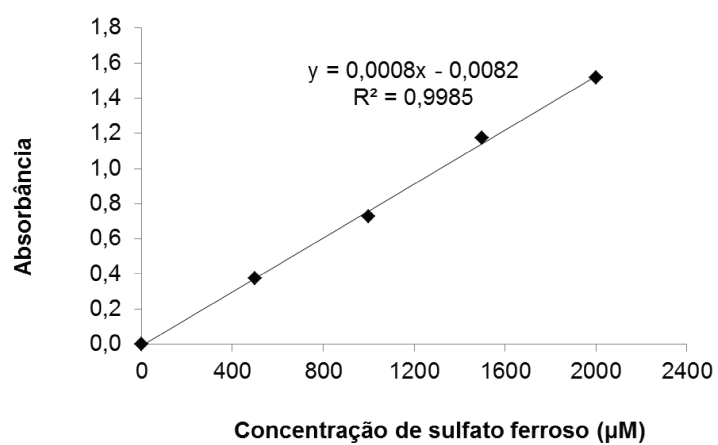


Figura 10.5 - Curva padrão de sulfato ferroso para método de atividade antioxidante FRAP.

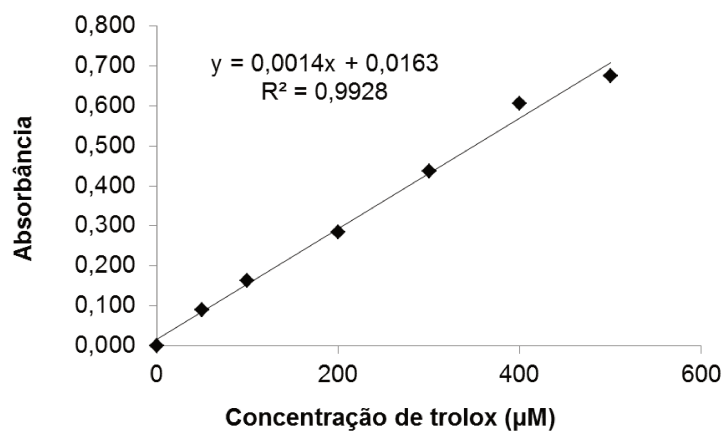


Figura 10.6 - Curva padrão de Trolox® para método de atividade antioxidante FRAP

10.1.2 Dados dos ensaios cinéticos

Tabela 10.1 - Dados do ensaio cinético obtido via extração com fluido supercrítico com etanol como cossolvente a partir do resíduo de jabuticaba a 60 °C, 25 MPa e vazão de CO₂ de $2,53 \times 10^{-4}$ kg/s.

Tempo (min)	Massa de extrato acumulada (g)	Rendimento de extração (% b.s.)	Massa de solvente acumulada (g)	S/F
0	0	0,00	0,0	0,0
10	0,2419	4,79	189,5	6,8
20	0,4745	9,39	379,0	13,5
30	0,6847	13,56	568,5	20,3
45	0,8952	17,72	852,7	30,4
60	1,0805	21,39	1136,9	40,6
75	1,1583	22,93	1421,1	50,7
90	1,2167	24,09	1705,4	60,8
105	1,2547	24,84	1989,6	71,0
120	1,2690	25,12	2273,8	81,1
135	1,2811	25,36	2558,1	91,3
150	1,2899	25,54	2842,3	101,4
165	1,2968	25,67	3126,5	111,5
180	1,3032	25,80	3410,7	121,7
195	1,3091	25,92	3695,0	131,8
210	1,3147	26,03	3979,2	142,0
225	1,3196	26,13	4263,4	152,1
240	1,3233	26,20	4547,7	162,2

Tabela 10.2 - Dados do ensaio cinético obtido via extração com fluido supercrítico com etanol como cossolvente a partir do residuo de jabuticaba a 60 °C, 25 MPa e vazão de CO₂ de $1,89 \times 10^{-4}$ kg/s.

Tempo (min)	Massa de extrato acumulada (g)	Rendimento de extração (% b.s.)	Massa de solvente acumulada (g)	S/F
0	0	0,00	0,0	0,0
10	0,1549	3,07	142,1	5,1
20	0,3083	6,12	284,2	10,1
30	0,4616	9,16	426,3	15,2
45	0,6119	12,14	639,5	22,8
60	0,7575	15,03	852,7	30,4
75	0,8728	17,31	1065,9	38,1
90	0,9592	19,03	1279,0	45,7
105	1,0315	20,46	1492,2	53,3
120	1,0853	21,53	1705,4	60,9
135	1,1179	22,18	1918,5	68,5
150	1,1440	22,69	2131,7	76,1
165	1,1655	23,12	2344,9	83,7
180	1,1866	23,54	2558,1	91,3
195	1,2077	23,96	2771,2	98,9
210	1,2285	24,37	2984,4	106,6
225	1,2488	24,77	3197,6	114,2
240	1,2689	25,17	3410,7	121,8

Tabela 10.3 - Dados do ensaio cinético obtido via extração com fluido supercrítico com isopropanol como cossolvente a partir do resíduo de jabuticaba a 60 °C, 20 MPa e vazão de CO₂ de $2,53 \times 10^{-4}$ kg/s.

Tempo (min)	Massa de extrato acumulada (g)	Rendimento de extração (% b.s.)	Massa de solvente acumulada (g)	S/F
0	0	0,00	0,0	0,0
10	0,2368	4,69	189,5	6,7
20	0,4648	9,20	379,0	13,5
30	0,6737	13,34	568,5	20,2
45	0,8651	17,13	852,7	30,4
60	1,0449	20,69	1136,9	40,5
75	1,1601	22,98	1421,1	50,6
90	1,2213	24,19	1705,4	60,7
105	1,2575	24,90	1989,6	70,8
120	1,2791	25,33	2273,8	80,9
135	1,2952	25,65	2558,1	91,1
150	1,3062	25,87	2842,3	101,2
165	1,3120	25,99	3126,5	111,3
180	1,3185	26,11	3410,7	121,4
195	1,3247	26,24	3695,0	131,5
210	1,3309	26,36	3979,2	141,6
225	1,3370	26,48	4263,4	151,8
240	1,3430	26,60	4547,7	161,9

Tabela 10.4 - Dados do ensaio cinético obtido via extração com fluido supercrítico com isopropanol como cossolvente a partir do residuo de jabuticaba a 60 °C, 20 MPa e vazão de CO₂ de $1,89 \times 10^{-4}$ kg/s.

Tempo (min)	Massa de extrato acumulada (g)	Rendimento de extração (% b.s.)	Massa de solvente acumulada (g)	S/F
0	0	0,00	0,0	0,0
10	0,1368	2,71	142,1	5,1
20	0,2721	5,39	284,2	10,1
30	0,4050	8,03	426,3	15,2
45	0,5395	10,69	639,5	22,8
60	0,6558	13,00	852,7	30,4
75	0,7598	15,06	1065,9	38,0
90	0,8542	16,93	1279,0	45,6
105	0,9286	18,40	1492,2	53,2
120	0,9858	19,54	1705,4	60,8
135	1,0223	20,26	1918,5	68,4
150	1,0474	20,76	2131,7	76,0
165	1,0626	21,06	2344,9	83,6
180	1,0743	21,29	2558,1	91,2
195	1,0830	21,46	2771,2	98,8
210	1,0900	21,60	2984,4	106,4
225	1,0961	21,72	3197,6	114,0
240	1,1020	21,84	3410,7	121,6

Tabela 10.5 - Dados do ensaio cinético obtido via extração com fluido supercrítico com água como cossolvente a partir do resíduo de jabuticaba a 50 °C, 30 MPa e vazão de CO₂ de $2,53 \times 10^{-4}$ kg/s.

Tempo (min)	Massa de extrato acumulada (g)	Rendimento de extração (% b.s.)	Massa de solvente acumulada (g)	S/F
0	0	0,00	0,0	0,0
10	0,3043	6,02	189,5	6,8
20	0,5945	11,77	379,0	13,5
30	0,8550	16,92	568,5	20,3
45	1,1039	21,85	852,7	30,4
60	1,3367	26,45	1136,9	40,5
75	1,4260	28,22	1421,1	50,7
90	1,4663	29,02	1705,4	60,8
105	1,4882	29,45	1989,6	70,9
120	1,5061	29,80	2273,8	81,0
135	1,5236	30,15	2558,1	91,2
150	1,5346	30,37	2842,3	101,3
165	1,5449	30,57	3126,5	111,4
180	1,5548	30,77	3410,7	121,6
195	1,5644	30,96	3695,0	131,7
210	1,5734	31,14	3979,2	141,8
225	1,5819	31,30	4263,4	152,0
240	1,5900	31,46	4547,7	162,1

Tabela 10.6 - Dados do ensaio cinético obtido via extração com fluido supercrítico com água como cossolvente a partir do resíduo de jabuticaba a 50 °C, 30 MPa e vazão de CO₂ de $1,89 \times 10^{-4}$ kg/s.

Tempo (min)	Massa de extrato acumulada (g)	Rendimento de extração (% b.s.)	Massa de solvente acumulada (g)	S/F
0	0	0,00	0,0	0,0
10	0,2072	4,11	142,1	5,1
20	0,4007	7,95	284,2	10,1
30	0,5905	11,71	426,3	15,2
45	0,7742	15,36	639,5	22,8
60	0,9360	18,57	852,7	30,4
75	1,0751	21,33	1065,9	38,1
90	1,1852	23,51	1279,0	45,7
105	1,2704	25,20	1492,2	53,3
120	1,3208	26,20	1705,4	60,9
135	1,3530	26,84	1918,5	68,5
150	1,3780	27,33	2131,7	76,1
165	1,4023	27,82	2344,9	83,7
180	1,4234	28,23	2558,1	91,3
195	1,4404	28,57	2771,2	98,9
210	1,4534	28,83	2984,4	106,5
225	1,4658	29,08	3197,6	114,2
240	1,4767	29,29	3410,7	121,8

Tabela 10.7 - Dados do ensaio cinético obtido via extração com líquido pressurizado com etanol como solvente a partir do resíduo de jabuticaba a 80 °C, 10,34 MPa e vazão de solvente de $1,88 \times 10^{-5}$ kg/s.

Tempo (min)	Massa de extrato acumulada (g)	Rendimento de extração (% b.s.)	Massa de solvente acumulada (g)	S/F
0	0	0,00	0,0	0,0
10	0,1905	3,78	11,3	0,4
20	0,3773	7,49	22,5	0,8
30	0,5601	11,11	33,8	1,2
45	0,7392	14,66	50,6	1,8
60	0,9110	18,07	67,5	2,4
75	1,0749	21,32	84,4	3,0
90	1,1709	23,23	101,3	3,6
105	1,2085	23,97	118,1	4,2
120	1,2215	24,23	135,0	4,8
135	1,2335	24,47	151,9	5,4
150	1,2437	24,67	168,8	6,0
165	1,2524	24,84	185,6	6,6
180	1,2599	24,99	202,5	7,2
195	1,2668	25,13	219,4	7,8
210	1,2729	25,25	236,3	8,4
225	1,2785	25,36	253,1	9,0
240	1,2842	25,47	270,0	9,64

Tabela 10.8 - Dados do ensaio cinético obtido via extração com líquido pressurizado com etanol como solvente a partir do resíduo de jabuticaba a 80 °C, 10,34 MPa e vazão de solvente de $1,25 \times 10^{-5}$ kg/s.

Tempo (min)	Massa de extrato acumulada (g)	Rendimento de extração (% b.s.)	Massa de solvente acumulada (g)	S/F
0	0	0,00	0,0	0,0
10	0,1480	2,94	7,5	0,3
20	0,2947	5,84	15,0	0,5
30	0,4373	8,67	22,5	0,8
45	0,5750	11,40	33,8	1,2
60	0,7049	13,98	45,0	1,6
75	0,8167	16,20	56,3	2,0
90	0,9132	18,11	67,5	2,4
105	0,9851	19,54	78,8	2,8
120	1,0410	20,65	90,0	3,2
135	1,0752	21,33	101,3	3,6
150	1,1057	21,93	112,5	4,0
165	1,1292	22,40	123,8	4,4
180	1,1470	22,75	135,0	4,8
195	1,1629	23,06	146,3	5,2
210	1,1780	23,36	157,5	5,6
225	1,1910	23,62	168,8	6,0
240	1,2015	23,83	180,0	6,43

Tabela 10.9 - Dados do ensaio cinético obtido via extração com líquido pressurizado com isopropanol como solvente a partir do resíduo de jabuticaba a 100 °C, 10,34 MPa e vazão de solvente de $1,88 \times 10^{-5}$ kg/s.

Tempo (min)	Massa de extrato acumulada (g)	Rendimento de extração (% b.s.)	Massa de solvente acumulada (g)	S/F
0	0	0,00	0,0	0,0
10	0,1656	3,28	11,3	0,4
20	0,3297	6,53	22,5	0,8
30	0,4952	9,80	33,8	1,2
45	0,6556	12,98	50,6	1,8
60	0,8135	16,11	67,5	2,4
75	0,9555	18,92	84,4	3,0
90	0,9918	19,64	101,3	3,6
105	1,0172	20,14	118,1	4,2
120	1,0363	20,52	135,0	4,8
135	1,0522	20,83	151,9	5,4
150	1,0672	21,13	168,8	6,0
165	1,0741	21,27	185,6	6,6
180	1,0814	21,41	202,5	7,2
195	1,0882	21,55	219,4	7,8
210	1,0945	21,67	236,3	8,4
225	1,1009	21,80	253,1	9,0
240	1,1073	21,93	270,0	9,611

Tabela 10.10 - Dados do ensaio cinético obtido via extração com líquido pressurizado com isopropanol como solvente a partir do residuo de jabuticaba a 100 °C, 10,34 MPa e vazão de solvente de $1,25 \times 10^{-5}$ kg/s.

Tempo (min)	Massa de extrato acumulada (g)	Rendimento de extração (% b.s.)	Massa de solvente acumulada (g)	S/F
0	0	0,00	0,0	0,0
10	0,1235	2,45	7,5	0,3
20	0,2460	4,88	15,0	0,5
30	0,3659	7,26	22,5	0,8
45	0,4813	9,55	33,8	1,2
60	0,5911	11,72	45,0	1,6
75	0,6894	13,67	56,3	2,0
90	0,7819	15,51	67,5	2,4
105	0,8644	17,14	78,8	2,8
120	0,9354	18,55	90,0	3,2
135	0,9879	19,59	101,3	3,6
150	1,0184	20,20	112,5	4,0
165	1,0424	20,67	123,8	4,4
180	1,0567	20,96	135,0	4,8
195	1,0672	21,16	146,3	5,2
210	1,0766	21,35	157,5	5,6
225	1,0831	21,48	168,8	6,0
240	1,0892	21,60	180,0	6,427

Tabela 10.11 - Dados do ensaio cinético obtido via extração com líquido pressurizado com água como solvente a partir do resíduo de jabuticaba a 100 °C, 10,34 MPa e vazão de solvente de $1,88 \times 10^{-5}$ kg/s.

Tempo (min)	Massa de extrato acumulada (g)	Rendimento de extração (% b.s.)	Massa de solvente acumulada (g)	S/F
0	0	0,00	0,0	0,0
10	0,2036	4,04	11,3	0,4
20	0,4033	8,00	22,5	0,8
30	0,6014	11,93	33,8	1,2
45	0,7942	15,75	50,6	1,8
60	0,9822	19,48	67,5	2,4
75	1,0811	21,44	84,4	3,0
90	1,1516	22,84	101,3	3,6
105	1,1901	23,61	118,1	4,2
120	1,2046	23,90	135,0	4,8
135	1,2158	24,12	151,9	5,4
150	1,2265	24,33	168,8	6,0
165	1,2360	24,52	185,6	6,6
180	1,2459	24,71	202,5	7,2
195	1,2550	24,90	219,4	7,8
210	1,2640	25,07	236,3	8,4
225	1,2726	25,24	253,1	9,0
240	1,2813	25,42	270,0	9,640

Tabela 10.12 - Dados do ensaio cinético obtido via extração com líquido pressurizado com água como solvente a partir do residuo de jabuticaba a 100 °C, 10,34 MPa e vazão de solvente de $1,25 \times 10^{-5}$ kg/s.

Tempo (min)	Massa de extrato acumulada (g)	Rendimento de extração (% b.s.)	Massa de solvente acumulada (g)	S/F
0	0	0,00	0,0	0,0
10	0,1549	3,06	7,5	0,3
20	0,3035	6,01	15,0	0,5
30	0,4472	8,85	22,5	0,8
45	0,5828	11,53	33,8	1,2
60	0,7121	14,09	45,0	1,6
75	0,8314	16,45	56,3	2,0
90	0,9426	18,65	67,5	2,4
105	1,0504	20,79	78,8	2,8
120	1,1462	22,68	90,0	3,2
135	1,2205	24,15	101,3	3,6
150	1,2773	25,28	112,5	4,0
165	1,3109	25,94	123,8	4,4
180	1,3398	26,51	135,0	4,8
195	1,3582	26,88	146,3	5,2
210	1,3720	27,15	157,5	5,6
225	1,3843	27,39	168,8	6,0
240	1,3947	27,60	180,0	6,4