

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

Faculdade de Engenharia Química
Área de concentração: Engenharia de Processos



UNICAMP

**Extração de Cafeína das Sementes da Planta do
Guaraná (*Paullinia cupana*) com Dióxido de
Carbono Supercrítico e co-solventes**

Uiram Kopcak

Autor

Prof. Dr. Rahoma Sadeq Mohamed

Orientador

apresentada à Faculdade de Engenharia
Química - UNICAMP como parte dos
requisitos exigidos para a obtenção do título
de Mestre em Eng. Química.

Dissertação de Mestrado

Campinas - São Paulo - Brasil

Abril/2003

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL
DESENVOLVIMENTO DE COLEÇÕES

UNIDADE	BC
Nº CHAMADA	TI UNICAMP
	K838e
/	EX
COMBO BC/	62705
PROC.	16-86-05
C	<input type="checkbox"/>
D	<input checked="" type="checkbox"/>
PREÇO	11,00
DATA	11-03-05
Nº CPD	

subid 343274

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA ÁREA DE ENGENHARIA - BAE - UNICAMP

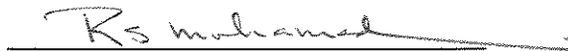
K838e Kopcak, Uiram
Extração de cafeína das sementes da planta do guaraná (*Paullinia cupana*) com dióxido de carbono supercrítico e co-solventes / Uiram Kopcak. --Campinas, SP: [s.n.], 2003.

Orientador: Rohoma Sadeg Mohamed.
Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia Química.

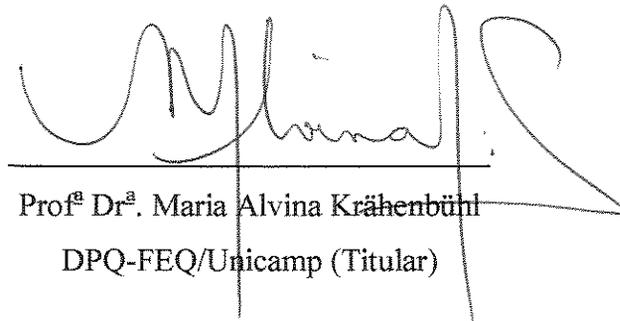
1. Cafeína. 2. Extração com fluido supercrítico. 3. Guaraná. 4. Dióxido de carbono. 5. Alcalóides. 6. Álcool. I. Mohamed, Rahoma Sadeg. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia Química. III. Título.

11-03-05

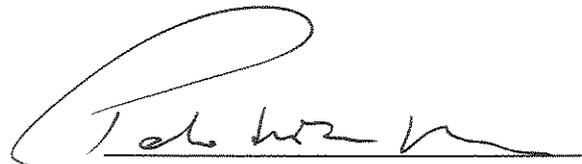
Dissertação de Mestrado defendida por Uiram Kopcak e a provada em 7 de abril de 2003 pela banca examinadora constituída pelos doutores:



Prof. Dr. Rahoma Sadeg Mohamed
DTF-FEQ/Unicamp (Orientador)



Profª Drª. Maria Alvina Krähenbühl
DPQ-FEQ/Unicamp (Titular)



Dr. Paulo de Tarso Vieira e Rosa
PRODOC/CAPES - FEA/Unicamp (Titular)

Este exemplar corresponde à versão final da Dissertação de Mestrado intitulada:
Extração de Cafeína das Sementes da Planta do Guaraná (*Paullinia cupana*) com Dióxido
de Carbono Supercrítico e Co-solventes.

A handwritten signature in black ink, consisting of a vertical line on the left and a large, stylized, cursive flourish on the right.

Rahoma Sadeg Mohamed

AGRADECIMENTOS

Meus sinceros agradecimento a estas pessoas que contribuíram de alguma forma para a realização deste trabalho, quer seja através de discussões produtivas, quer seja através de colaborações, mas sobretudo pela amizade.

- ❖ Ao Prof. Dr. Rahoma S. Mohamed, pela amizade, orientação e apoio incondicional nos momentos mais difíceis da realização deste trabalho,*
- ❖ Ao Alvaro, pela ajuda e pelas discussões sem as quais este trabalho não teria sido realizado,*
- ❖ Aos colegas do laboratório Franscisléo, Ronaldo, Tatiana, Lilian e Marleny que sempre ajudaram e com os quais construí uma grande amizade,*
- ❖ Aos colegas do laboratório do professor Theo, pela amizade e grande consideração,*
- ❖ Aos colegas do laboratório da professora Sandra, em especial ao Osvaldo pela ajuda incondicional,*
- ❖ Ao Clecios, pela grande amizade e consideração,*
- ❖ A todos os outros amigos, alunos, professores e funcionários, que ganhei nestes mais de oito anos de FEQ,*
- ❖ Ao meu primo Igor, à Divina e à Cris por todo o apoio recebido e convivência estes anos na "nossa" República,*
- ❖ À minha mãe, Cidinha, e meu pai, Carlos, que sempre foram lutadores e deram a base ética para meu desenvolvimento,*
- ❖ À Cleide e ao meu pai por tudo que fizeram por mim e por darem condições para que pudesse me manter em Campinas,*
- ❖ Ao meu irmão Elias pela ajuda e apoio incondicional todos estes anos que estamos em Campinas,*
- ❖ Aos meus irmãos Vandrê e Leandro pela amizade e companheirismo,*
- ❖ À Sarah, pelo carinho e compreensão, sem os quais não haveria motivo para seguir em frente,*
- ❖ À FAPESP e ao FAEP pelo financiamento da pesquisa.*

"Se você quiser salvar o seu filho da pólio, você pode rezar ou você pode vacinar... Tente a ciência."

Carl Sagan

"Existem muitas hipóteses na ciência que são erradas. Isso é perfeitamente correto; elas são a abertura para descobrir o que é certo. A ciência é um processo auto-corretivo. Para serem aceitas, novas idéias devem sobreviver aos mais rigorosos padrões de evidência e escrutínio."

Carl Sagan

Dedico este trabalho à minha mãe, Aparecida Pedra Kopcak (in memorian) ao meu pai, Carlos Kopcak e para alguns responsáveis pelo início de tudo isso, meus avós paternos, Pavão Kopcak (in memorian) e Mikalina Kopcak.

Dedico também este trabalho ao Prof. Dr. Rahoma S. Mohamed (in memorian), que, antes de tudo, foi um grande amigo.

RESUMO

Alcalóides são compostos orgânicos encontrados em produtos naturais. Estas substâncias podem apresentar efeitos tóxicos no ser humano e animais, porém apresentam propriedades terapêuticas quando usados em doses moderadas. Alcalóides como cafeína, teofilina, teobromina, emetina e pilocarpina, entre outros, são utilizados como princípios ativos em uma variedade de medicamentos e estimulantes. Devido às suas propriedades, processos para a recuperação de alcalóides de produtos naturais são de grande interesse para as indústrias de alimentos, de cosméticos e farmacêuticas.

O alcalóide mais consumido no mundo, a cafeína, é encontrado em grandes concentrações em produtos naturais, tais como, nas folhas da planta do mate, nos grãos de café e nas sementes de guaraná. Os processos convencionais utilizados para recuperar a cafeína a partir destas matrizes vegetais normalmente utilizam solventes orgânicos que podem causar danos ao meio ambiente e são tóxicos para o ser humano e animais.

A extração de alcalóides com o uso de dióxido de carbono supercrítico ($\text{CO}_2\text{-SC}$), um solvente não-tóxico, não-inflamável, encontrado comercialmente com grande pureza, não-agressivo ao meio ambiente e que possui baixas constantes críticas, tem sido utilizada em substituição a estes processos convencionais.

Os fluidos no estado supercrítico (FSC), em certas regiões de interesse nos processos reais, possuem densidades próximas às dos líquidos, viscosidades próxima às dos gases e difusividades intermediárias. Estas características tornam estes solventes potencialmente atrativos para os processos de extração. As extrações com o uso de FSCs são baseadas no fato de que, próximo ao ponto crítico do solvente, propriedades como a densidade e a capacidade de solvência variam enormemente com pequenas mudanças nas pressões e temperaturas do processo, possibilitando a fácil recuperação dos solutos com pequenas mudanças nestas variáveis.

Um grande problema associado ao uso do $\text{CO}_2\text{-SC}$, nos mais variados processos de extração, é a pequena polaridade deste solvente e, conseqüentemente, a baixa capacidade de solubilizar solutos polares. Esta capacidade pode ser aumentada através da adição de co-solventes polares em baixas concentrações ao $\text{CO}_2\text{-SC}$, como por exemplo água, etanol ou acetonitrila.

Esta dissertação de mestrado procura dar uma contribuição ao desenvolvimento científico de uma tecnologia promissora para a extração de alcalóides a partir de produtos naturais: o processo de extração com fluido supercríticos, tendo por objetivo principal, a extração da cafeína de sementes da planta do guaraná (*Paullinia cupana*) com dióxido de carbono supercrítico e co-solventes polares como o etanol e o isopropanol.

Com o intuito de determinar o efeito do uso de co-solventes na solubilidade da cafeína pura em $\text{CO}_2\text{-SC}$, experimentos de solubilidade da cafeína em misturas supercríticas de etanol/ CO_2 e isopropanol/ CO_2 foram realizados usando um aparelho de extração de fluxo semi-contínuo a altas pressões. A solubilidade da cafeína em misturas contendo 5% etanol/ CO_2 , 10% etanol/ CO_2 e 5% isopropanol/ CO_2 foram determinadas a 323,2 e 343,2 K com pressões variando de 15,2 a 23,4 MPa. Experimentos de extração de cafeína a partir de sementes torradas e moídas de guaraná foram obtidos no mesmo aparelho experimental utilizando as misturas supercríticas a 323,2, 333,2 e 343,2 K e 17,9, 23,4 e 30,0 MPa. Experimentos da extração de cafeína em função do diâmetro de partícula de sementes torradas e moídas de guaraná foram obtidos a 323,5 K, 23,4 MPa e diâmetros de partícula variando entre 91 e 775 μm . A concentração de fenóis totais presentes nos

extratos obtidos foi determinada através de método colorimétrico. Em todos os experimentos uma vazão de 1,44g CO₂/min foi utilizada.

Através dos resultados obtidos para a solubilidade de cafeína pura nas misturas supercríticas, observa-se que a adição de co-solvente aumenta a solubilidade da cafeína nos solventes supercríticos. Este aumento pode ser atribuído ao aumento das forças de interação química (pontes de hidrogênio) e ao aumento das forças de dispersão entre o soluto e o solvente devido à adição de co-solventes. A adição de co-solvente, em contra partida, diminui a seletividade do solvente para o alcalóide, aumenta em maior grau a taxa de extração de fenóis em relação ao aumento da taxa de extração de cafeína, observadas nos experimentos de extração. Foi verificado que a solubilidade de cafeína pura aumenta com o aumento da pressão, porém este efeito, em geral, não foi observado no aumento das taxas de extração do alcalóide.

Nos sistemas estudados para a determinação da solubilidade de cafeína, foi verificada a ocorrência de comportamento retrógrado nas pressões mais baixas (diminuição da solubilidade com a elevação da temperatura), onde o aumento da pressão de vapor de saturação do soluto com o aumento da temperatura é insuficiente para compensar a perda de poder de solubilização do solvente devido a diminuição da densidade com o aumento da temperatura. Nos experimentos de extração, observou-se que a taxa de extração dos solutos aumenta com a temperatura, devido ao efeito no processo de dessorção da cafeína adsorvida na matriz de guaraná. As melhores condições experimentais encontradas para a extração de cafeína, a partir de sementes de guaraná, foram: 17,9 MPa e 343,2 K usando 10% de etanol como co-solvente e um diâmetro médio de partículas de 180µm.

Além do desenvolvimento técnico-científico, espera-se que estes resultados contribuam para o desenvolvimento econômico da extração de alcalóides de produtos naturais, abrindo a possibilidade de formulação tanto de produtos atraentes aos consumidores preocupados com a saúde (produtos descafeinados, por exemplo), como subprodutos utilizados como princípios ativos em medicamento (alcalóides de todas as variedades).

Palavras Chaves: Extração supercrítica, co-solvente, cafeína, guaraná

ABSTRACT

Alkaloids are organic compounds found in natural products and have toxic effects on animals and humans. In moderate doses, they however display therapeutic effects. Alkaloids from vegetable matrices such as caffeine, teophylline, teobromine, emetine and pilocarpine, among others, are used in many medicine formulations and as stimulants. Because of these properties, processes for the recovery of these compounds from natural products are of great importance for the pharmaceutical, food and cosmetic industries.

Caffeine, the most consumed alkaloid in the world, is found in high concentration in some natural products such as mate leaves, coffee beans and *guaraná* seeds. Unfortunately, conventional process for the recovery this alkaloid from vegetable matrices use organic solvents. These solvents could have damaging effects on the environment and harmful to human and animal health.

Extraction using supercritical carbon dioxide (SC-CO₂), a non-toxic and non-combustible solvent, commercially available in high purity, environmentally benign and attainable critical parameters, has being utilized to substitute conventional processes.

Supercritical fluids (SFC) are characterized by high densities, low viscosities, and diffusivities that are intermediate between gases e liquids. These unusual properties make SCFs potentially good solvents in a variety of applications. Supercritical Fluid Extraction (SFE) is based on the fact that, near the critical point of the solvent, its properties such as density and solvent power change rapidly with only slight variations of pressure and temperature; this way compounds can be dissolved and recovered from SFCs by simple manipulation of these variables.

A problem associated with the widespread use of SC-CO₂ is attributed to its low polarity and hence the low solubility of polar solutes. For industrial processes this inevitably leads to the use of large solvent volumes and high pressures. The addition of polar fluids (cosolvents) such as water, methanol and acetonitrile to the CO₂ can modify its polarity and improves its capacity to dissolve polar solutes.

The objective from this work is to provide information on caffeine extraction from *guaraná* seeds (*Paullinia cupana*) using supercritical carbon dioxide and polar cosolvents such as ethanol and isopropanol.

In order to assess the effect of cosolvents on the solubility of caffeine in SC-CO₂, experimental data on solubility of caffeine in supercritical ethanol/CO₂ and isopropanol/CO₂ mixed solvents were obtained using a high-pressure semi-continuous flow apparatus. Caffeine solubilities in 5% ethanol/CO₂, 10% ethanol/CO₂ and 5% isopropanol/CO₂ mixtures were determined at 323.2 and 343.2 K and pressures ranging from 15.2 at 23.4 MPa. Experimental data on extraction curves of caffeine from ground and roasted *guaraná* seeds were also obtained with the same supercritical mixtures at 323.2, 333.2 and 343.2 K and at 17.9, 23.4 and 30.0 MPa. Caffeine extraction curves from *guaraná* particles with diameters ranging from 91 at 775 µm were obtained at 323.5 K, at 23.4 MPa in order to assess the effect of the solid matrix on the extraction rate of caffeine. The concentration of total phenols found in the extracts was also obtained by colorimetric determination. In all experiments, the solvent flow rate utilized was 1,44g CO₂/min.

The results obtained for the solubility of pure caffeine in the supercritical mixtures indicated large increases in solubility with increase in relative amount of the co-solvent in the mixed solvent. The large solubilities in the presence of cosolvent are attributed to the resultant chemical interaction force (hydrogen bonding) and increase in dispersion forces in the systems upon the addition of cosolvents. The addition of cosolvents, however, was

found to reduce the selectivity of solvent for the caffeine in the extraction experiments, increasing the total phenols extraction rate. The increase in pressure increases the pure caffeine solubilities, but the increase in pressure did not, however, always result in increase in the extraction rate

The solubility of pure caffeine in mixed solvents also revealed the presence of a retrograde region, where the solubility decreased with increase in temperature, with the cross-over pressure being a function of the critical temperature and pressure of the mixed solvent. In the extraction of caffeine from guaraná seeds, extraction rates increased with the increase in temperature due to the effect of temperature on the desorption of caffeine from the seed matrix. The best conditions for the caffeine extraction were found at 17.9 MPa and 343.2 K using the 10% ethanol/CO₂ supercritical mixture and average particle diameter of 180µm.

It is hoped that the information provided in this work can contribute to enhance the understanding of the extraction processes of alkaloids and in general of active principles from natural products.

Keywords: Supercritical extraction, cosolvent, caffeine, *guaraná* seeds.

ÍNDICE

Resumo	v
Abstract	vii
Índice de Figuras	xi
Índice de Tabelas	xvii
Nomenclatura	xix
Capítulo 1 - Introdução	
1.1. Introdução e Justificativa da Pesquisa	01
Capítulo 2 - Revisão Bibliográfica	
2.1. Plantas medicinais e os alcalóides	07
2.2. O Guaraná	12
2.3. A Cafeína	20
2.4. Tecnologia para extração de alcalóides	27
2.5. Fluidos Supercríticos	30
2.6. A Extração com Fluidos Supercríticos	45
Capítulo 3 - Objetivos	57
Capítulo 4 - Materiais e Métodos	
4.1. Materiais	59
4.2. Sistema de Extração Supercrítica	60
4.3. Métodos Experimentais	62
Capítulo 5 - Resultados e Discussão	
5.1. Solubilidade de Cafeína em misturas supercríticas contendo dióxido de carbono e co-solventes	69
5.2. Extração de cafeína a partir das sementes de Guaraná (<i>Paullinia cupana</i>) utilizando dióxido de carbono supercrítico e co-solventes	80
5.3. Determinação do teor de fenóis totais nos extratos obtidos das sementes de guaraná (<i>Paullinia cupana</i>) utilizando dióxido de carbono supercrítico e co-solventes	100

Capítulo 6 - Conclusões e Recomendações

6.1. Conclusões	109
6.2. Recomendações	112
Bibliografia	115
Apêndice A - A História do Guaraná	A1
Apêndice B - Resultados Experimentais	B1
Apêndice C - Trabalhos Publicados	C1

Lista de Figuras

Figura 2.1	Cacho dos frutos do guaranazeiro	13
Figura 2.2	Estrutura molecular dos principais alcalóides purínicos (Ashihara e Crozier, 2001)	21
Figura 2.3	Estrutura molecular da cafeína	23
Figura 2.4	Extração convencional de alcalóides (Saldaña, 1997)	28
Figura 2.5	Extração de cafeína a partir de grãos de café com dióxido de carbono supercrítico (QMCWEB, número 22, 2000)	29
Figura 2.6	Diagrama PpT para o dióxido de carbono (dados de densidade em função da temperatura e pressão, Angus e Dereuk, 1976)	31
Figura 2.7	Correlação através da equação SRK para a solubilidade de naproxeno em CO ₂ -SC puro. (Ting <i>et al.</i> , 1993 a)	32
Figura 2.8	Temperatura crítica de mistura com a variação da percentagem molar de co-solvente. As linhas indicam o melhor ajuste para cada conjunto de dados (Ting <i>et al.</i> , 1993 a)	35
Figura 2.9	Efeito de co-solvente em função da pressão a 333,1 K e com concentração de 5,25 % mol de co-solvente, na solubilidade do naproxeno (Ting <i>et al.</i> , 1993 a)	37
Figura 2.10	Cálculo do volume parcial molar do soluto e tamanho de <i>cluster</i> , utilizando a Equação de Estado de Van der Waals. (a) Sistema com comportamento atrativo: solvente, Ne e soluto, Xe; (b) Sistema com comportamento repulsivo: solvente, Xe e soluto, Ne. Condições críticas: Ne (27 bar, -228 °C); Xe(59 bar, 17 °C).	39
Figura 2.11	Variação da solubilidade do naproxeno em dióxido de carbono supercrítico e metanol como co-solvente em função da quantidade de co-solvente e da pressão (Ting <i>et al.</i> , 1993 a).	41
Figura 2.12	Sistema dinâmico de extração de alta pressão (Chimowitz e Pennisi, 1986)	42
Figura 2.13	Sistema típico estático com sistema de filmagem	43
Figura 2.14	Representação gráfica de algumas curvas de extração típicas utilizando FSC (método dinâmico)	45

Figura 2.15	Estrutura Molecular da clevidipina	47
Figura 2.16	Extração da Clevidipina de diferentes matrizes sólidas utilizando CO ₂ supercrítico a 28,3 MPa e 313,15 K	47
Figura 2.17	Influência do diâmetro de partícula no curso da extração de óleo das sementes de uva com dióxido de carbono supercrítico	48
Figura 2.18	Curvas de extração da clevidipina impregnada em papel de filtro utilizando CO ₂ -SC modificado com diferentes concentrações de metanol, a 28,3 MPa e 313,15 K	49
Figura 2.19	Extração do óleo Lubrificante (Drawsol 2345 N) com diferentes taxas de extração	50
Figura 2.20	Extração do óleo lubrificante (UNIQ DP-101) suportado em esferas metálicas com CO ₂ supercrítico a diferentes taxas de extração	51
Figura 2.21	Comportamento retrógrado de isotermas a 323,2 K e 343,2 K e pressões de 15,2, 24,8, e 28,3 MPa. e: quantidade de óleo extraído/ quantidade óleo inicial, q: massa de solvente/massa de óleo inicial	54
Figura 2.22	Extração seletiva de componentes das sementes de tomate em função do tempo de extração.	55
Figura 2.23	Representação da simulação do modelo DDD para óleo de casca de citrico	56
Figura 4.1	Aparelho Experimental: C- cilindro, CB- banho de gelo, CH- Chiller, CV- Válvula, D- Camisa de Aquecimento, E1 and E2- Extratores, F- Filtro, GM- Totalizador de Fluxo, H- Fita de Aquecimento, MV- Válvula Micrométrica, P- Bomba, PI- Indicador de Pressão, SF- Vaso Separador (com álcool), SV- Válvula de Alimentação do Extrator, TIC- Controlador e Indicador de Temperatura	61
Figura 4.2	Aparelho Experimental	61
Figura 4.3	Picos de absorbância de cafeína em etanol.	65
Figura 4.4	Curva de calibração, padrões de cafeína em etanol	66
Figura 4.5	Curva de calibração, padrões de fenol em água	67

Figura 5.1	Isotermas de solubilidade da cafeína em dióxido de carbono supercrítico puro (Saldaña <i>et al.</i> , 1997) e em misturas supercríticas contendo dióxido de carbono e 5% de etanol como co-solvente em função da pressão	71
Figura 5.2	Isotermas de solubilidade da cafeína em dióxido de carbono supercrítico e co-solventes em função da pressão	71
Figura 5.3	Isotermas de solubilidade da cafeína em dióxido de carbono supercrítico e co-solventes em função da pressão. Regressões lineares para as isotermas obtidas	72
Figura 5.4	Isoterma de solubilidade de cafeína pura em CO ₂ – SC puro e com a adição de co-solventes a 343 K. Dados com CO ₂ puro, Saldaña <i>et al.</i> (1997)	74
Figura 5.5	Isoterma de solubilidade de cafeína pura em CO ₂ – SC puro e com a adição de co-solventes a 323 K. Dados com CO ₂ puro, Saldaña <i>et al.</i> (1997).	75
Figura 5.6	Efeito de co-solvente na solubilidade de cafeína em dióxido de carbono supercrítico a 343 K	77
Figura 5.7	Efeito de co-solvente na solubilidade de cafeína em dióxido de carbono supercrítico a 323 K	77
Figura 5.8	Efeito do diâmetro de partícula na taxa de extração de cafeína a partir das sementes de guaraná (<i>Paullinia cupana</i>) a 323,2 °C e 23,4 MPa, utilizando dióxido de carbono supercrítico e etanol (5% em massa) como co-solvente. Vazão utilizada: 0,800 L/min. Quantidade de cafeína contidas na sementes no leito de extração: 0,587 g	80
Figura 5.9	Quantidades de cafeína acumulada nas 4 e 14 ^a frações das curvas de extração em função do diâmetro de partícula	82
Figura 5.10	Curva de extração da cafeína utilizando dióxido de carbono supercrítico e co-solventes. Condições experimentais: Temperatura - 343,2 °C, Pressão - 17,9 MPa	84

Figura 5.11	Curva de extração da cafeína utilizando dióxido de carbono supercrítico e co-solventes. Condições experimentais: Temperatura - 343,2 K, Pressão - 23,4 MPa	84
Figura 5.12	Curva de extração da cafeína utilizando dióxido de carbono supercrítico e co-solventes. Condições experimentais: Temperatura - 323,2 K, Pressão - 30,0 MPa	85
Figura 5.13	Curva de extração da cafeína utilizando dióxido de carbono supercrítico e 5% de isopropanol a 17,9 MPa e três temperaturas	90
Figura 5.14	Curva de extração da cafeína utilizando dióxido de carbono supercrítico e 10% de etanol a 30,0 MPa e três temperaturas	90
Figura 5.15	Curva de extração da cafeína utilizando dióxido de carbono supercrítico e 5% de etanol a 30,0 MPa e três temperaturas	91
Figura 5.16	Isobáricas de taxas de extração (primeiro período) de cafeína com CO ₂ -SC e 5% de etanol como co-solvente, em função da temperatura	92
Figura 5.17	Isobáricas de taxas de extração (primeiro período) de cafeína com CO ₂ -SC e 10% de etanol como co-solvente, em função da temperatura	92
Figura 5.18	Isobáricas de taxas de extração (primeiro período) de cafeína com CO ₂ -SC e 5% de isopropanol como co-solvente, em função da temperatura	93
Figura 5.19	Curva de extração de cafeína a partir de sementes de guaraná utilizando dióxido de carbono supercrítico e 5% de isopropanol a 343,2 K e três pressões	94
Figura 5.20	Curva de extração de cafeína a partir de sementes de guaraná utilizando dióxido de carbono supercrítico e 10% de etanol a 343,2 K e três pressões	95
Figura 5.21	Curva de extração de cafeína a partir de sementes de guaraná utilizando dióxido de carbono supercrítico e 5% de etanol a 343,2 K e três pressões	95

Figura 5.22	Superfície de resposta da quantidade de cafeína extraída em função da temperatura e pressão para os experimento fetos com dióxido de carbono supercrítico e 10% de etanol (em peso) como co-solvente	96
Figura 5.23	Superfície de resposta da quantidade de cafeína extraída em função da temperatura e pressão para os experimento fetos com dióxido de carbono supercrítico e 5% de etanol (em peso) como co-solvente	96
Figura 5.24	Superfície de resposta da quantidade de cafeína extraída em função da temperatura e pressão para os experimento fetos com dióxido de carbono supercrítico e 5% de isopropanol (em peso) como co-solvente	97
Figura 5.25	Curva de extração de fenóis totais, a partir de sementes de guaraná, utilizando dióxido de carbono supercrítico e co-solventes, a 323,2 K e 30 MPa. Os valores estão em relação às quantidades de fenol usadas como padrões	100
Figura 5.26	Curva de extração de fenóis totais, a partir de sementes de guaraná, utilizando dióxido de carbono supercrítico e co-solventes, a 343,2 K e 19,7 MPa. Os valores estão em relação às quantidades de fenol usadas como padrões	101
Figura 5.27	Curva de extração de fenóis totais, a partir de sementes de guaraná, utilizando dióxido de carbono supercrítico e co-solventes, a 343,2 K e 23,4 MPa. Os valores estão em relação às quantidades de fenol usadas como padrões	101
Figura 5.28	Curva de extração de fenóis totais, a partir de sementes de guaraná, utilizando dióxido de carbono supercrítico e etanol (5% em massa) como co-solvente, a 30 MPa em função da temperatura. Os valores estão em relação às quantidades de fenol usadas como padrões.	103

Figura 5.29	Curva de extração de fenóis totais, a partir de sementes de guaraná, utilizando dióxido de carbono supercrítico e isopropanol (5% em massa) como co-solvente, a 17,9 MPa em função da temperatura. Os valores estão em relação às quantidades de fenol usadas como padrões.	104
Figura 5.30	Curva de extração de fenóis totais, a partir de sementes de guaraná, utilizando dióxido de carbono supercrítico e etanol (10% em massa) como co-solvente, a 30 MPa em função da temperatura. Os valores estão em relação às quantidades de fenol usadas como padrões	104
Figura 5.31	Curva de extração de fenóis totais, a partir de sementes de guaraná, utilizando dióxido de carbono supercrítico e 5% de isopropanol a 343,2 K em função da pressão	105
Figura 5.32	Curva de extração de fenóis totais, a partir de sementes de guaraná, utilizando dióxido de carbono supercrítico e 10% de etanol a 343,2 K em função da pressão	105
Figura 5.33	Curva de extração de fenóis totais, a partir de sementes de guaraná, utilizando dióxido de carbono supercrítico e 5% de etanol a 343,2 K em função da pressão	106

Lista de Tabelas

Tabela 2.1	Princípios ativos e uso popular da algumas plantas	11
Tabela 2.2	Produção do Guaraná no Brasil (em toneladas) (1994-1998)	16
Tabela 2.3	Valor da produção do Guaraná no Brasil (em mil dólares)	16
Tabela 2.4	Composição química das sementes de guaraná (<i>Paullinia cupana</i>)	17
Tabela 2.5	Valores médios (duplicatas) de fração molar de cafeína em dióxido de carbono supercrítico para várias temperaturas e pressões (Mehr <i>et al.</i> , 1996).	19
Tabela 2.6	Propriedades da cafeína (Martin <i>et al.</i> , 1981; Li e Hartland, 1992; Johannsen e Brunner, 1994)	22
Tabela 2.7	Teor de cafeína em alguns alimentos	23
Tabela 2.8	Comparação entre algumas propriedades de líquidos, gases e fluidos supercríticos	30
Tabela 2.9	Temperatura e pressão críticas para alguns fluidos	33
Tabela 2.10	Variação de P_c e T_c da mistura CO_2 -Etanol com a percentagem do co-solvente	35
Tabela 2.11	Métodos utilizados para a determinação da solubilidade de cafeína em fluidos supercríticos	44
Tabela 4.1	Condições experimentais para as extrações realizadas em função da pressão, temperatura e tipo de co-solvente	64
Tabela 4.2	Valores de absorvância de cafeína em etanol, 270 nm	65
Tabela 4.3	Coefficientes da curva de calibração	66
Tabela 4.4	Valores de absorvância encontrados para os padrões de fenol, 725 nm	68
Tabela 5.1	Solubilidade de cafeína em misturas de CO_2 -SC e etanol (5% em massa)	69
Tabela 5.2	Solubilidade de cafeína em misturas de CO_2 -SC e etanol (10% em massa)	70
Tabela 5.3	Solubilidade de cafeína em misturas de CO_2 -SC e isopropanol (5% em massa)	70

Tabela 5.4	Coefficientes das regressões lineares para os sistemas estudados	73
Tabela 5.5	Pressões de cruzamento superior para isotermas de solubilidade de cafeína em dióxido de carbono puro e com o uso de co-solventes e pressões e temperaturas críticas dos solventes e misturas estudados	73
Tabela 5.6	Efeito de co-solvente para a solubilidade da cafeína em dióxido de carbono supercrítico (percentagem de co-solvente em massa)	76
Tabela 5.7	Taxas de extração de cafeína a partir de sementes de guaraná para experimentos com diversos diâmetros de partícula	82
Tabela 5.8	Rendimento obtido nas extrações de cafeína a partir das sementes de guaraná torradas e moídas. Quantidade inicial de cafeína no leito de extração: 0,5784 g	86
Tabela 5.9	Taxas do primeiro período de extração de cafeína a partir das sementes de guaraná torradas e moídas	86
Tabela 5.10	Taxas do segundo período de extração de cafeína a partir das sementes de guaraná torradas e moídas	86
Tabela 5.11	Seletividade dos fenóis em relação à cafeína para os co-solventes utilizados	102

Nomenclatura

a_0	Área superficial do leito
e	Quantidade de óleo extraído/ quantidade óleo inicial
g^{21}	Função de correlação de par
H	Altura do leito de extração
h	Distância axial ao longo do leito
$J(x,y)$	Taxa de transferência de massa do soluto contido na matriz para o fluido supercrítico
k	Constante de Boltzman
K	Massa de soluto no interior das partículas
k_f	Coefficiente de transferência de massa para a fase fluida, no primeiro período de extração
k_s	Coefficiente de transferência de massa para a fase fluida, no segundo período de extração
K_T	Compressibilidade isotérmica
O	Massa total de soluto no extrator
P	Pressão
P_T	Massa de soluto na superfície das partículas
q	Massa de solvente/massa de óleo inicial
r	Raio do <i>cluster</i> de solvatação
T	Temperatura
t	Tempo
U	Velocidade do fluido supercrítico
V	Volume molar
x	Razão mássica de soluto
x_0	Razão mássica inicial de soluto
x_k	Razão mássica de soluto no interior das partículas
x_p	Razão mássica de soluto acessível
y	Razão mássica de soluto no seio do fluido
y_r	Solubilidade de equilíbrio

Letras gregas e demais símbolos

ξ	Tamanho de <i>cluster</i> de solvatação
ρ	Massa específica do solvente supercrítico
ρ_s	Massa específica do sólido
δ	Fator de interação soluto-solvente
ε	Fração de espaços vazios no leito
λ_{max}	Comprimento de onda no qual se obtém absorbância máxima
®	Marca registrada

Capítulo 1

INTRODUÇÃO

1.1. Introdução e Justificativa da Pesquisa

A história dos princípios ativos é, em grande parte, a história primitiva da botânica. Há mais de 4000 anos, os assírios conheciam algumas centenas de plantas medicinais e os egípcios utilizavam preparações com plantas para fins medicinais. Alguns séculos antes de Cristo, os gregos davam especial atenção às plantas medicinais. Na época medieval, estas plantas foram as primeiras às quais o homem prestou atenção. Na idade média nasceu a botânica moderna, que classifica as drogas conforme as plantas das quais derivam, do tipo de enfermidade que combatem, da sua natureza ou similaridade química.

Entre as substâncias químicas que procedem de extratos de plantas, encontram-se os alcalóides. Estes compostos orgânicos são encontrados nas folhas, sementes, raízes e cascas (Bentley, 1966). Alguns alcalóides, como a morfina extraída do ópio, a quinina, subministrada da quina, e a ergotamina do ergot, utilizada em cefaléias severas, são altamente tóxicos, apresentando aplicações terapêuticas em doses moderadas. Entre os produtos mais consumidos contendo alcalóides, encontram-se o café e o guaraná, que contém a cafeína, e o tabaco, que contém a nicotina.

A cafeína é sem dúvida um dos alcalóides purínicos mais estudados devido aos seus efeitos fisiológicos no ser humano. Os alcalóides purínicos são estimulantes psicomotores e a cafeína possui uma das maiores atividades deste grupo de alcalóides.

A cafeína é um pó branco cristalino muito amargo, tendo a denominação química de 1,3,7-trimetilxantina. Na medicina, a cafeína é utilizada como um estimulante cardíaco e um diurético. Este alcalóide produz um estímulo de energia, ou um aumento no estado de alerta. A cafeína porém, é uma droga que causa dependência física e psicológica.

Semelhante ao café, as sementes da planta do guaraná apresentam, além da cafeína, outros alcalóides purínicos como a teobromina e a teofilina, porém como a

concentração destes últimos em relação à cafeína é muito menor, as atividades estimulantes destas plantas são atribuídas à presença de cafeína.

A extração e remoção de cafeína dos produtos que contém este alcalóide são de grande importância, pois evitam o seu consumo exagerado (pela disponibilidade de produtos descafeinados) e, ao mesmo, tempo fornece este importante alcalóide para a indústria farmacêutica.

As técnicas convencionais usadas na indústria para a obtenção dos alcalóides envolvem, principalmente, a extração com solventes químicos imiscíveis na água, em meio alcalino, ou alternativamente com solventes solúveis em água (álcoois). Para a purificação de alcalóides dos extratos obtidos, várias tecnologias como destilação e a cristalização, entre outras, têm sido utilizadas (McKillop, 1970). Estes métodos apresentam, porém, certas desvantagens como a formação de resíduos indesejáveis provenientes dos solventes químicos usados na extração e alterações no produto final devido à degradação térmica em função das altas temperaturas alcançadas durante as etapas de extração e purificação.

Um excelente solvente para a cafeína é sem dúvida a água, porém a baixa seletividade de água para a cafeína resulta na extração de outros componentes das matrizes vegetais juntamente com o alcalóide, necessitando-se de outras etapas demoradas e dispendiosas para a recuperação da cafeína (Wingrove e Caret, 1992).

Com as novas vertentes mundiais para tecnologias limpas, preocupações com o grau de contaminação dos alimentos e a saúde, novos produtos e processos livres de contaminantes sem custos ambientais vêm sendo procurados. A extração supercrítica utilizando dióxido de carbono, um solvente não-tóxico, não-inflamável e de custo relativamente baixo, apresenta-se como uma dessas alternativas para a indústria de produtos alimentícios ou farmacêuticos. Inúmeros são os trabalhos na literatura que utilizam o CO₂ supercrítico (CO₂-SC) como solvente na extração de algum componente (King, 1980; Lack e Seidlitz, 1993; Johannsen e Brunner, 1994; Saldaña, 1997; Saldaña, 2002; Azevedo, 2001).

A tecnologia de extração com dióxido de carbono supercrítico pode ser bastante seletiva em sua atuação (Brunetti *et al.*, 1985; McHugh e Krukoni, 1986) e, portanto, indicada para a extração e purificação de alcalóides. O processo que utiliza fluidos

supercríticos é relativamente simples e baseia-se na exploração das propriedades distintas que os fluidos possuem próximos aos seus pontos críticos. Na proximidade do ponto crítico, um fluido tem uma densidade (e, portanto, o poder de solubilização) semelhante àquela na fase líquida juntamente com uma compressibilidade semelhante à da fase gasosa. As propriedades são particularmente sensíveis à temperatura e à pressão. Pequenas mudanças na temperatura e/ou pressão geram mudanças enormes na densidade e no poder de solubilização. Essas características conferem ao fluido supercrítico (FSC) uma importância capital nos processos de extração em relação aos outros fluidos, pois as densidades dos solventes convencionais (líquidos) só podem ser alteradas pela adição de outros solventes, ou por aumento considerável na temperatura.

O CO_2 , além de ser uma substância não-tóxica, não-inflamável, e de custo relativamente baixo, possui uma temperatura crítica baixa (31°C) permitindo que seja usado, no estado supercrítico, sem causar danos às propriedades funcionais de proteínas e outros constituintes termo-sensíveis de alimentos, como pode acontecer com outros processos, como por exemplo, durante a destilação com vapor. O dióxido de carbono apresenta-se, desta forma, como uma alternativa atrativa para a utilização na extração de componentes de alimentos e produtos farmacêuticos. Uma outra vantagem importante, devido o uso de solventes supercríticos, é a facilidade da separação entre o material extraído e o solvente, pois este processo pode ser realizado por uma simples manipulação de temperatura ou pressão, levando à mudanças abruptas na densidade e conseqüentemente no poder de solvatação do fluido, o que causa a precipitação do produto extraído deixando o solvente livre para ser reciclado.

Muitos processos já foram desenvolvidos utilizando a extração com fluidos supercríticos. Nos Estados Unidos, 19 patentes para a remoção de cafeína do café utilizando $\text{CO}_2\text{-SC}$ foram registradas no período de 1974 a 1984 (McHugh e Krukoni; 1986).

A solubilidade do soluto em determinado solvente é um fator importante na aferição da viabilidade econômica de um processo de extração. As solubilidades em processos de extração supercrítica com dióxido de carbono são relativamente baixas, necessitando o uso de grandes quantidades de solvente o que acarreta aumento tanto no

custo capital (equipamentos de grandes capacidades) quanto no custo operacional do processo (energia para bombeamento).

No caso de cafeína, por exemplo, pesquisas (Saldaña, 1997) demonstraram que a solubilidade do alcalóide puro em CO₂-SC é baixa em relação aos processos que utilizam solventes orgânicos, variando entre 1,3 a 1,7x10⁻⁶ g / kg de CO₂ em pressões entre 19 e 23 MPa. Quando a cafeína é extraída do produto natural, a matriz (pó, grãos, folhas, etc.) dificulta a transferência de massa, diminuindo as taxas de extração da cafeína no FSC. Esta autora realizou também, experimentos de extração de cafeína a partir de grãos de café moídos com 20% e 35% de umidade. Os resultados indicaram uma melhora na recuperação da cafeína com o aumento da umidade, o que pôde ser atribuída a atuação da água como co-solvente (ajudando a solubilizar o alcalóide). Para se ter uma idéia, a solubilidade de cafeína a temperatura ambiente em água é de 22 g / kg de água e em clorofórmio (solvente orgânico), também a temperatura ambiente, é de 132 g /kg de clorofórmio.

Muitos trabalhos na literatura apontam a utilização de co-solventes, como por exemplo os álcoois, para melhorar o poder de extração de solutos polares pelo CO₂-SC. Estudos que utilizam CO₂-SC e etanol como co-solvente foram realizados na extração de solutos como ácidos esteáricos (Zhong *et al.*, 1997). Outros álcoois foram também utilizados para melhorar a potencialidade de extração com CO₂-SC, como o metanol na extração de clevidipina (Bjorklund *et al.*, 1998). Estes estudos sugerem que a extração supercrítica de cafeína com co-solventes alcoólicos ou com água possa ser um processo viável, uma vez que existe uma forte interação entre substâncias polares (como a cafeína) e estes co-solventes (Ting *et al.*, 1993 a e b).

Estudos realizados por Saldaña *et al.* (2002) indicaram a viabilidade da extração de cafeína a partir das sementes do guaraná utilizando-se CO₂-SC. A grande quantidade de CO₂-SC puro demonstrou, porém, que a utilização de co-solventes torna-se primordial para o desenvolvimento tecnológico deste processo de extração.

Em função destes resultados, foi proposto nesta dissertação de mestrado dar continuidade aos estudos já iniciados nesta área com a exploração do uso de CO₂ e co-solventes na extração de alcalóides a partir de produtos naturais, visando a contribuição ao desenvolvimento desta promissora tecnologia no âmbito nacional e internacional.

Especificamente, objetiva-se neste trabalho o levantamento de dados experimentais da extração da cafeína das sementes do guaraná utilizando dióxido de carbono supercrítico e co-solventes polares como o etanol e o isopropanol.

Nesta Dissertação de Mestrado, o trabalho realizado está apresentado da seguinte forma:

No Capítulo 2, uma revisão bibliográfica detalhada a cerca dos tópicos de interesse desta pesquisa está apresentada, com especial ênfase em alcalóides de produtos naturais e processos de extração com fluidos supercríticos.

Os objetivos a serem alcançados e que pautaram a realização deste trabalho estão apresentados no Capítulo 3.

Os materiais e os métodos experimentais utilizados para a obtenção dos resultados experimentais estão descritos no Capítulo 4.

Os resultados experimentais obtidos para a solubilidade de cafeína pura em misturas supercríticas contendo dióxido de carbono e co-solventes e os resultados da extração de cafeína e a partir de sementes de guaraná torradas e moídas, bem como a determinação do teor de fenóis totais encontrado nos extratos, estão apresentados no Capítulo 5.

No Capítulo 6 estão apresentadas as conclusões obtidas com base nos resultados experimentais desta pesquisa.

Em seguida, a bibliografia consultada está apresentada, bem como os Apêndices A, B e C que tratam respectivamente da Lenda do Guaraná, dos Resultados Experimentais e dos Trabalhos Publicados durante a realização deste trabalho.

Capítulo 2

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Neste capítulo está apresentada uma revisão sobre os tópicos de interesse desta pesquisa. Inicialmente são abordados a utilização de plantas medicinais e seus princípios ativos, especialmente alcalóides, para os mais diversos fins. Neste contexto destacam-se a planta do guaraná e o alcalóide cafeína, objetos de estudo deste trabalho. Os processos de extração de alcalóides a partir de produtos naturais são abordados em seguida, com especial interesse para a obtenção destes princípios ativos utilizando a extração com fluidos supercríticos. Esta técnica de extração é descrita detalhadamente, bem como os fenômenos físicos envolvidos neste tipo de processo.

2.1. Plantas medicinais e os alcalóides

Plantas medicinais são aquelas que possuem em sua composição substâncias químicas biologicamente sintetizadas a partir de nutrientes, água e luz, funcionando como princípios ativos para fins medicinais. Estas substâncias provocam reações que podem variar entre a cura ou o abrandamento de doenças nos seres humanos e animais, também funcionando como estimulantes.

A Fitoterapia, ou uso terapêutico de plantas medicinais, é um hábito identificado em praticamente todas as civilizações ou grupos culturais conhecidos desde os primórdios da humanidade. No passado, as plantas representavam a principal arma terapêutica conhecida, e esta utilização resultou em conhecimentos empíricos transmitidos de geração para geração. Há mais de 4000 anos, os assírios conheciam algumas centenas de plantas medicinais, os egípcios utilizavam preparados a base de plantas para diversos usos medicinais. Alguns séculos antes de Cristo, os gregos davam grande atenção às plantas medicinais.

Na época medieval, as plantas medicinais foram as primeiras às quais o homem prestou especial atenção. O acúmulo dessas informações propiciou o surgimento da cultura

popular da arte de curar e também da farmacoterapêutica. Nesta época (Idade Média) surgiu a Botânica Moderna ou o estudo sistemático das plantas e de seus princípios ativos, que classifica as drogas conforme as plantas das quais derivam, do tipo de enfermidade que combatem, da sua natureza ou similaridade química.

A Organização Mundial de Saúde, OMS, reconhece atualmente 150 plantas com real valor terapêutico. No Brasil, o uso de diversas plantas "ditas" medicinais faz parte da cultura popular, destacando-se o uso na região amazônica pela grande variedade de espécies vegetais utilizadas, proveniente principalmente da assimilação da cultura indígena, que sempre teve nas ervas da floresta a sua maior arma no combate às enfermidades. A eficiência da fitoterapia, o uso de plantas para fins medicinais, foi assegurada por milênios de tradição, sendo prática comum entre os Povos da Floresta, índios e as populações ribeirinhas da Amazônia, e também entre a população urbana daquela região.

Como diversas moléculas vegetais de estruturas complexas dependem da síntese biológica, e a síntese em laboratório não pode ser feita ou ainda não é economicamente viável, vários produtos industrializados, entre medicamentos e cosméticos, têm sido desenvolvidos a partir de princípios ativos encontrados em ervas medicinais, com bases nas indicações populares (Mendonça, 2001).

As indústrias farmacêuticas e de cosméticos nacionais e internacionais, especialmente esta última, vêm buscando nas plantas essências, produtos e formulações para produção de medicamentos, vacinas e outras formas de terapias. Visam à industrialização e comercialização em larga escala aproximadamente 5.000 princípios ativos identificados nas mais diversas plantas medicinais.

Atualmente muitos pesquisadores têm desenvolvido estudos sobre as potencialidades e usos de plantas medicinais da Amazônia, porém a aplicação empresarial dos resultados destas pesquisas é rara na região amazônica, mesmo já existindo comprovação científica das propriedades de um número razoável de plantas viáveis para a agroindustrialização ou uso *in natura*.

De acordo com o IBGE, estão identificadas na Amazônia Legal (compreende os estados do Acre, Amapá, Amazonas, Norte do Mato Grosso, Pará, Roraima, Rondônia e Tocantins) em torno de 650 espécies vegetais farmacológicas de valor econômico. O

Estado do Pará é o que mais se destaca com 540 espécies; seguido dos Estados do Amazonas, com 488; Mato Grosso, 397; Amapá, 380; Rondônia, 370; Acre, 368, Roraima, 367 e Maranhão, 261.

Levantamentos realizados no Projeto de Assentamento Extrativista São Luís do Remanso, no Acre, concluíram que das plantas medicinais utilizadas pela população, por volta de 48% são cultivadas em hortas e quintais – os 52% restantes são silvestres, obtidas de forma extrativista. Destas, aproximadamente 33% são árvores; 37% ervas; 22% arbustos e 8% cipós e trepadeiras. (FIEAM, Federação das Indústrias do Estado do Amazonas, 2002).

Dados consolidados num trabalho preparado pelo MMA (Ministério do Meio Ambiente) dos Recursos Hídricos e da Amazônia Legal, a Agenda Amazônica 21, avaliam que mais de 25% de todas as drogas prescritas nos EUA contêm substâncias ativas derivadas de plantas das florestas tropicais. Apenas as populações indígenas, segundo o levantamento, dominam o conhecimento de 1300 dessas plantas com princípios ativos com características de antibióticos, anticoncepcionais, antidiarréicos, anticoagulantes, fungicidas, anestésicos, relaxantes musculares e antiviróticos. Neste último caso, são recursos promissores para a descoberta de medicamentos eficazes contra a AIDS.

Frente esta grande biodiversidade encontrada na região amazônica, são necessários incentivos e regulamentações que permitam o uso racional dos recursos naturais da região, incentivando o desenvolvimento sustentável, priorizando o eco sistema amazônico e o respeito às populações indígenas e ribeirinhas. Alguns dos grandes problemas detectados na região devido à atual exploração predatória são o desmatamento desmedido, levando à extinção espécies ainda nem catalogadas, a biopirataria (termo que define a transferência de espécies vegetais, animais, material genético, clandestinamente para outros países) e também o empobrecimento das populações locais, legadas a um trabalho de coleta para grandes corporações que atuam na região.

Uma utilização racional da biodiversidade amazônica pode ser expressa pelas palavras do DSc. Alfredo Homma em sua conclusão do trabalho: "Biopirataria Na Amazônia: Ainda é tempo para salvar?" Apresentado na Audiência Pública do dia 16 de setembro de 1997, na Câmara dos Deputados, sobre biopirataria.

"Como conclusão final, na Amazônia Legal, cerca de 47 milhões de hectares já foram desmatados, equivalente à soma de dois Estados do Paraná. Apesar dessa imensa área desmatada, com grandes custos ambientais e destruição da biodiversidade contrasta com a ampliação do "apartheid" urbano e rural, sem alternativas de emprego e de renda. A utilização da biodiversidade da Amazônia, mediante uma domesticação integral desses recursos genéticos potenciais, em vez de ficar lamentando com o leite derramado, poder-se-ia transformar em uma alternativa econômica para essas populações e com isso evitar-se-á a biopirataria de forma inteligente".

Entre os muitos compostos de interesse das indústrias alimentícias e farmacêuticas identificados na biodiversidade da Região Amazônica, encontram-se os alcalóides. Estes compostos orgânicos são encontrados nas folhas, sementes, raízes e cascas (Bentley, 1966). Alguns alcalóides, como a morfina extraída do ópio, a quinina, subministrada da quina, e a ergotamina do ergot, utilizada em cefaléias severas, são altamente tóxicos, apresentando aplicações terapêuticas em doses moderadas.

Na Tabela 2.1, encontram-se algumas plantas com propriedades terapêuticas conhecidas e utilizadas para diversos fins (Beckstrom-Sternberg e James, 1994), que possuem alcalóides como princípios ativos.

Tabela 2.1: Princípios ativos e uso popular da algumas plantas

Planta	Utilização	Princípios ativos
Erva-de-São João	Analgésico, Cicatrizante, Anti-inflamatório.	Alcalóides com propriedades vaso-constritoras
Beladona	Relaxante muscular Antiasmático Dilatante da retina ocular Contra cólicas urinárias	1% de alcalóides derivados do tropano (hiosciamina, atropina), ácido atrópico, beladonina e escopolamina.
Ipeca	Contra amebíase Contra tosse Antitérmico	Contém o alcalóide emetina
Quelidônea	Antiespasmódico Sedativo Efeito Bactericida Contra tumores malignos	Contém até 4% de alcalóides (quelidonina, queleritrina, sanguisorbina, berberina, etc.) ligados ao ácido quelidônico .
Cicuta	Antiespasmódico, Antiepiléptico, Contra angina no peito Contra coqueluche	Cicutoxina e o alcalóide cicutina. O fruto seco contém óleo essencial em abundância.
Quinino	Abaixa a febre, Relaxa espasmos Anti-malária Reduz batimento cardíaco	Alcalóides quinina e quinidina
Giesta	Narcótica Regula a ação do coração Efeitos diurético Purgativo	Alcalóide esparteína

Entre as plantas cultivadas na Amazônia, a cultura do Guaraná é uma das quais apresenta maior grau de desenvolvimento, domesticação e industrialização, sendo um exemplo da viabilidade da agroindustrialização da região.

O guaraná é cultivado devido, principalmente, a grande quantidade de alcalóides estimulantes encontrados em suas semente, em especial a cafeína, sendo usado na indústria alimentícia e farmacêutica.

A cultura do guaraná foi originalmente desenvolvida pelos índios Maués da Região Amazônica, popularmente é utilizado para diversos fins medicinais, sendo considerado um ótimo estimulante. Nas sementes do guaraná, além da cafeína, encontra-se elevado teor de taninos, outro princípio ativo muito importante desta planta.

2.2. O Guaraná

O guaranazeiro, planta natural da Floresta Amazônica, é denominado cientificamente de *Paullinia cupana*, variedade *sorbilis* (Martius) Duke. O fruto desta planta é conhecido como guaraná. Esta espécie vegetal é da família das *sapindáceas*, nativa da Amazônia, cujo nome provém do termo indígena *uaraná*, que significa olho de gente, alusão à semelhança de seus frutos com os olhos humanos. O guaraná é encontrado em estado nativo na região compreendida entre os rios Amazonas, Maués, Paraná dos Ramos e Rio Negro no Estado do Amazonas e também na bacia do Rio Orinoco, na Venezuela. A planta é um arbusto semi-ereto, trepadeira, lenhosa, que no seu *habitat* natural se apóia nas árvores da floresta, atingindo altura de 9 a 10 metros. Possui a folha composta por cinco folíolos, as flores surgem em panículas amarelo-claro, nos meses mais secos do ano, com amadurecimento dos frutos dois ou três meses depois. Os frutos quando maduros, apresentam a coloração vermelha e em menores proporções, alaranjadas e amarelas, abrindo-se parcialmente, deixando à mostra as sementes. Quando maduro se abre parcialmente deixando aparecer 1 a 3 sementes castanha-escuras, com a metade inferior recoberta por um espesso arilo branco. Neste estágio deve ser feita a colheita dos frutos, para que as cascas não se abram totalmente, evitando-se, assim, a queda das sementes que se constitui a parte utilizável da planta após sofrer beneficiamento primário, que consiste na torrefação e limpeza (Aronovitch, 1969). Como plantio, é domesticada por meio de podas periódicas, assemelhando-se a cafezais, porém com folhas mais largas e fortes, e com cachos avermelhados e amarelados que podem pesar até um quilo (Figura 2.1).



Figura 2.1- Cacho dos frutos do guaranazeiro.

Seu cultivo data da época pré-colombiana, quando era praticado por diversas tribos indígenas, entre as quais Maués e Andiras, localizadas no "Baixo Amazonas" (Henman, 1986). A colheita, se realiza entre outubro e janeiro quando os frutos estão maduros. Os cachos são colhidos com as mãos e colocados em aturás ou jamaxis e transportados para os barracões. Inicia-se então o beneficiamento tradicional, que obedece as seguintes etapas:

Fermentação - para amolecer a casca dos frutos.

Despoldamento - para retirada da casca e do arilo.

Lavagem - coloca-se o produto despoldado em um paneiro dentro da água, as sementes vão para o fundo enquanto a casca sobe à superfície. Lava-se então o guaraná para libertá-lo da massa branca aderente.

Torrefação - é feita em fornos de barro ou tachos de ferro, cobre ou argila. As sementes são revolvidas com um rodo e, depois de torradas, são colocadas em paneiros para esfriar.

Retirada da casquinha da semente conforme a tradição - as sementes são colocadas em sacos e batidas com varas, depois passam por peneiras. Esse trabalho também pode ser feito em pilões ou em máquinas.

Trituração - feita em pilões de madeira ou piladeiras mecânicas. Ao preparar o bastão do guaraná, acrescenta-se água aos poucos até formar uma pasta.

Panificação - com o uso das mãos os "padeiros" compactam a massa, expulsando o ar e dando-lhe forma cilíndrica.

Defumação - os bastões são levados para o "moquiador" onde passam cerca de quarenta e oito horas sobre o fogo, para retirar a água e evitar rachaduras posteriores. Devidamente "assados" são levados ao "fumeiro" onde passam no mínimo quarenta e cinco dias. O "fumeiro" é uma casa de barro, hermeticamente fechada, com várias prateleiras de madeira onde são colocados os bastões, primeiro nas inferiores, próximas ao fogo, e transferidos para as superiores até a última prateleira completamente "curados". A lenha mais usada é o Murici (*Birsonima sp*) que produz mais fumaça que calor e possui uma resina cujo odor empresta sabor característico ao pão de guaraná (Henmam, 1986).

Foram os Índios Maués quem descobriram os efeitos fisiológicos e medicinais do guaraná, passando dele a fazer uso e a incluí-lo entre seus costumes, posteriormente absorvido pelo restante da população. No Apêndice A, está descrita a lenda do surgimento do guaraná, segundo a cultura indígena Maué. Em 1664, o Pe. Felipe Bettendorf descreveu como encontrou no Amazonas, o guaraná:

"Têm os Andirazes em seus matos uma frutinha a qual secam e depois pisam, fazendo delas umas bolas que estimam como os brancos o seu ouro. Chama-se Guaraná. Desfeitas com uma pedrinha em cuia d'água, dão tanta força como bebida que indo à caça um dia até outro não sentem fome, além do que tiram febres, câibras e dores de cabeça".

O guaraná foi introduzido de tal forma no hábito alimentar da região amazônica e Mato Grosso que substituíu, e em alguns locais ainda substitui, o café e o chá. Até muito recente, o maior produtor brasileiro de guaraná era o Estado do Amazonas, que concentrava 90% de sua produção na região de Maués. No entanto, segundo pesquisadores especialistas do CPAA - Centro de Pesquisa Agroflorestal da Amazônia Ocidental, vinculado à EMBRAPA, que trabalham com a cultura, esse quadro está mudando em virtude de intensa incidência da antracnose do guaranazeiro, uma doença que ataca as folhas da planta reduzindo drasticamente sua produção. A Bahia é o principal estado produtor de guaraná,

desde o final da década de 80, início da de 90, com tendência de consolidação dessa liderança. O Estado de Mato Grosso também mostra tendência de se tornar um dos maiores produtores de guaraná do país. O Amazonas possuía 6.827 hectares plantados em 1996, onde a região de Maués, originária do guaraná, continua liderando a produção do estado. Hoje, os cultivos também se estenderam para Apuí, no sul de seu território. No Estado do Pará existiam apenas 83 hectares da cultura, em 1995, e os principais plantios se localizam ao longo da Rodovia Transamazônica, sendo Uruará e Altamira seus principais municípios produtores. No Acre, a pequena produção de guaraná está toda concentrada na região do Juruá, em especial nos municípios de Cruzeiro do Sul e Mâncio Lima, em vista da tradição em cultivar-se ali o guaranazeiro. No Estado de Mato Grosso, o guaranazeiro nativo é de porte pequeno e baixa produtividade, não sendo, praticamente, mais encontrado. Os cultivos adultos (377 hectares em 1996) encontram-se nos municípios de Alta Floresta, Guarantã-do-Norte, Sinop e Novo Horizonte do Norte, todos localizados no norte do estado, como é fácil concluir, próximo à fronteira com o Amazonas. Em Roraima, há ocorrência subespontânea do guaranazeiro no Baixo Rio Branco, com plantios incentivados desde 1981, através do Programa Nacional de Estimulo à Cultura do Guaraná. Seus principais municípios produtores são Alto Alegre, Caracarái, São Luiz do Anauá, Mucajaí, São Luiz do Baliza e Bonfim, a maioria dos quais localizada ao longo das rodovias BR-364 e Perimetral Norte. Em grande parte da região, a cultura encontra condições naturais adequadas para estabelecer-se, devendo-se dar preferência a áreas providas de infra-estruturas e boas localização com relação ao mercado (FIEAM, Investimentos no Amazonas – Guaraná).

Nas Tabela 2.2 e Tabela 2.3 está descrita a produção brasileira de guaraná entre os anos de 1994 e 1998.

Tabela 2.2: Produção do Guaraná no Brasil (em toneladas) (1994-1998)

Estado/Região	1998	1997	1996	1995	1994
Acre	30	30	30	24	19
Amazonas	448	359	806	503	333
Rondônia	N.D.	N.D.	50	147	676
Roraima	N.D.	N.D.	0	0	0
Amazônia Oc.*	478	389	886	674	1028
Pará	25	22	24	21	41
Amapá	N.D.	N.D.	0	0	0
Região Norte	502	411	910	695	1069
Bahia	1893	1449	957	1546	1424
Mato Grosso	132	132	157	149	181
Total	2527	1992	2024	2390	2674

* Amazônia Ocidental – Engloba os Estados do Acre, Amazonas, Rondônia e Roraima
 Fonte: IBGE. Levantamento sistemático da produção agrícola – Guaraná. 1994-1998

Tabela 2.3: Valor da produção do Guaraná no Brasil (em mil dólares).

Estado/Região	1998	1997	1996	1995	1994
Acre	148,20	148,20	148,20	263,68	70,74
Amazonas	1.869,29	1.608,90	3.874,41	2.534,98	1.084,67
Rondônia	N.D.	N.D.	242,30	948,33	3.912,11
Roraima	N.D.	N.D.	0,50	0,00	0,00
Amazônia Oc.	2.017,49	1.757,10	4.264,96	3.746,99	5.067,52
Pará	81,18	76,73	89,78	155,01	31,08
Amapá	N.D.	N.D.	0,00	0,00	0,00
Região Norte	2.098,67	1.833,83	4.354,74	3.902,00	5.098,60
Bahia	5.807,62	4.774,74	3.382,44	5.135,63	6.668,81
Mato Grosso	572,11	572,11	783,92	1.074,27	1.314,04
Total	8.478,40	7.180,68	8.521,10	10.111,90	13.081,45

Fonte: IBGE. Levantamento sistemático da produção agrícola – Guaraná. 1994-1998

Segundo a FIEAM, Federação das Indústrias do Estado do Amazonas, a comercialização do guaraná é muito atrativa para os mercados interno e externo. Atualmente o guaraná vem sendo comercializado sob as formas de refrigerantes, bastão (semente torrada e moída moldada com água em forma cilíndrica, conhecido também por "pão" de guaraná), pó e xarope, tendo crescente participação relativa no mercado, nas formas de refrigerante e guaraná em pó, enquanto tem decrescido sensivelmente o consumo de bastão. A diversificação dos subprodutos do guaraná tem refletido na expansão da

demanda por pó e extrato líquido. Isso é devido ao crescente interesse por parte dos laboratórios, farmácias e lojas de produtos naturais na utilização de bases purínicas (os alcalóides cafeína, teobromina e teofilina) do guaraná, para a fabricação de produtos diversos, a exemplo de alguns energizantes que se encontram no mercado. Atualmente a demanda não está sendo suprida pela oferta, oferta esta que tem diminuído em função de problemas fitossanitários das regiões produtoras de guaraná, como a dos Maués, no Estado do Amazonas. Assim, muito embora nos últimos anos a economia do guaraná tenha decaído nestas regiões, o mercado continua ávido pelo produto, fazendo crescer a produção em outros estados brasileiros. Segundo os pesquisadores da área, a atual estagnação vivida pelo mercado consumidor está diretamente relacionada com a redução da oferta, inviabilizando a realização de inúmeros contratos por falta de condições para assumir encargos contratuais relativos à não-entrega do produto (FIAM – Investimentos no Amazonas - Guaraná).

A revitalização da Cultura do Guaraná tem sido foco de muitos financiamentos e pesquisas realizadas no país com intuito de desenvolver as regiões que produzem o guaraná. A Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa) investiu no desenvolvimento de clones de plantas resistentes à antracnose que já estão à disposição dos agricultores (Atroch, 2000).

Segundo a maioria dos trabalhos publicados acerca do guaraná, suas propriedades terapêuticas advêm da alta concentração de cafeína. Entre as propriedades atribuídas a esta planta segundo a *medicina popular* pode-se citar: energético, afrodisíaco, mantém as pessoas mais ativas sexualmente, estimula a circulação sanguínea prevenindo arteriosclerose e isquemia, moderador de apetite, tônico revigorante e rejuvenescedor, entre outras.

Muitas pesquisas estão sendo desenvolvidas devido às propriedades medicinais das sementes do guaraná. A composição química das sementes do guaraná está descrita na Tabela 2.4.

Tabela 2.4: Composição química das sementes de guaraná (*Paullinia cupana*)

Componente	(%)
Ácido Catechutânico ^(a)	traços
Adenina ^(b)	0,005
Amido ^(b)	5,5
Cafeína ^(a)	2,5-7,6
Celulose e Fibra vegetal ^(b)	37,8
Cinzas ^(a)	1,42
Cholina ^(a)	traços
D-Cachetina ^(a)	traços
Glicose ^(b)	0,54
Goma (amilopectina) ^(a)	5,0-6,0
Gordura ^(a)	3,0
Guanina ^(b)	0,005
Hipoxantina ^(b)	0,008
Mucilage ^(a)	traços
Proteína ^(a)	9,9
Resina ^(a)	7,0
Saponina ^(a)	traços
Taninos ^(a)	8,5-12,0
Teobromina ^(a)	0,033
Teofilina ^(a)	0,057
Timbonina ^(a)	traços
Umidade (sementes torradas) ^(c)	máx. 7%
Xantina ^(b)	0,006

^(a) Duke, 1992; ^(b) Beckstrom-Sternberg e James, 1994; ^(c) ANVISA (Resolução - CNNPA nº 12, de 1978).

Os principais compostos químicos presentes na semente de guaraná podem ser resumidos, em g kg⁻¹, como: cinza (14,2), gordura (30), proteína (98,6), amido (50-60), tanino (85-120) e resina (70). Decorrentes do alto teor de alcalóides purínicos e taninos, a bebida de guaraná produz vários efeitos no organismo. A composição química das sementes de guaraná, *Paullinia Cupana*, indica que esta planta contém 3 vezes mais cafeína que o café, além de outros alcalóides como a teobromina e a teofilina.

Espinola *et al.*, 1997, estudaram a atividade farmacológica da ingestão de guaraná em pó (*Paullinia cupana* Mart.) em animais de laboratório. Os estudos compararam 4 grupos de cobaias (ratos). O primeiro grupo foi tratado com água pura, o segundo com água e pó de guaraná misturado (0,3 g/L), o terceiro com água e guaraná na concentração de 3,0 g/L e o último grupo com água e ginseng em pó misturados na concentração de 5 g/L. Os resultados positivos foram conseguidos com a menor dose de guaraná que equivale à concentração de cafeína de 0,0062 mg/mL. Os resultados, considerados estatisticamente

significativos, indicam um aumento da performance física e memória das cobaias. Mattei *et al.*, 1998, estudaram os efeitos tóxicos e comportamentais causados pela ingestão de doses diárias de guaraná em cobaias (ratos) por até 23 meses. Os resultados obtidos indicaram que as dosagens administradas não causaram efeitos tóxicos ou comportamentais nestas cobaias durante os estudos, nem alteração no peso corpóreo e mortalidade em relação a cobaias utilizadas para controle. A análise *in vitro*, feita dos tecidos cerebrais das cobaias indicaram que o guaraná é um poderoso antioxidante devido, segundo os autores, a grande quantidade de taninos encontrada nas sementes. Intoxicações letais devido ao uso de guaraná são raras, porém Riesenmann *et al.* (1999) relatam um caso comprovado ocorrido na Alemanha em 1998. Neste caso uma mulher de 19 anos foi encontrada morta sem sinais de violência. A autópsia revelou cápsulas de guaraná em pó em seu estômago, a análise sanguínea detectou uma taxa letal de cafeína.

Mehr *et al.* (1996) estudaram a extração da cafeína a partir das sementes de guaraná molhadas utilizando dióxido de carbono supercrítico. Em seus resultados os autores concluem que a extração da cafeína é possível com o dióxido de carbono e que a solubilidade é incrementada com o aumento de pressão. Na Tabela 2.5 estão apresentados os resultados obtidos por estes autores.

Tabela 2.5: Valores médios (duplicatas) de fração molar de cafeína em dióxido de carbono supercrítico para várias temperaturas e pressões (Mehr *et al.*, 1996).

Pressão (atm)	Temperatura (K)	Fração molar x 10 ⁴
136,1	308	1,30
	318	1,21
	328	0,76
170,1	308	2,10
	318	2,08
	328	1,93
204,1	308	2,40
	318	2,52
	328	3,18
238,2	308	2,81
	318	3,01
	328	3,51
272,2	308	3,28
	318	3,49
	328	4,60

2.3. A Cafeína

A definição atualmente aceita para os alcalóides deve-se a Pelletier (1997) que considera alcalóides as moléculas cíclicas que contêm pelo menos um átomo de nitrogênio e que são verdadeiros metabólitos secundários. Esta definição exclui as aminas simples e os derivados de amônia acíclicos e ainda os compostos nitros e nitrosos (uma vez que nos alcalóides, o átomo de nitrogênio tem de possuir estado de oxidação negativo). Os alcalóides formam um grupo muito vasto de metabólitos que podem ocorrer tanto em microorganismos como plantas superiores e inferiores e ainda em animais, apesar de nestes últimos ocorrerem com rara frequência.

A biossíntese dos alcalóides inclui, sempre, pelo menos um aminoácido. São também incorporadas outras unidades provenientes de piruvato, malonato ou mevalonato. Com precursores de origem biossintética tão distintas, é fácil entender a complexidade e a diversidade estrutural encontrada nestas substâncias, sendo hoje conhecidos mais de 5000 alcalóides.

Entre os alcalóides que possuem propriedades estimulantes, encontram-se as metilxantinas, ou alcalóides purínicos (estimulantes psicoativos).

Dentre os alcalóides purínicos mais importantes estão os derivados metilados de xantinas, destacando-se a cafeína (1,3,7-trimetilxantina), a teofilina (1,3-dimetilxantina) e a teobromina (3,7-dimetilxantina). Estes princípios ativos são encontrados nas sementes de café (1-2% de cafeína) assim como nas sementes de guaraná *Paullinia cupana* (com teor de 3-6% de cafeína). As folhas de chá mate *Ilex paraguariensis* contém aproximadamente 2% de cafeína e as amêndoas de cacau *Theobroma cacao* contém entre 0,9-3% de teobromina.

A Figura 2.2 mostra os principais alcalóides do grupo purínico.

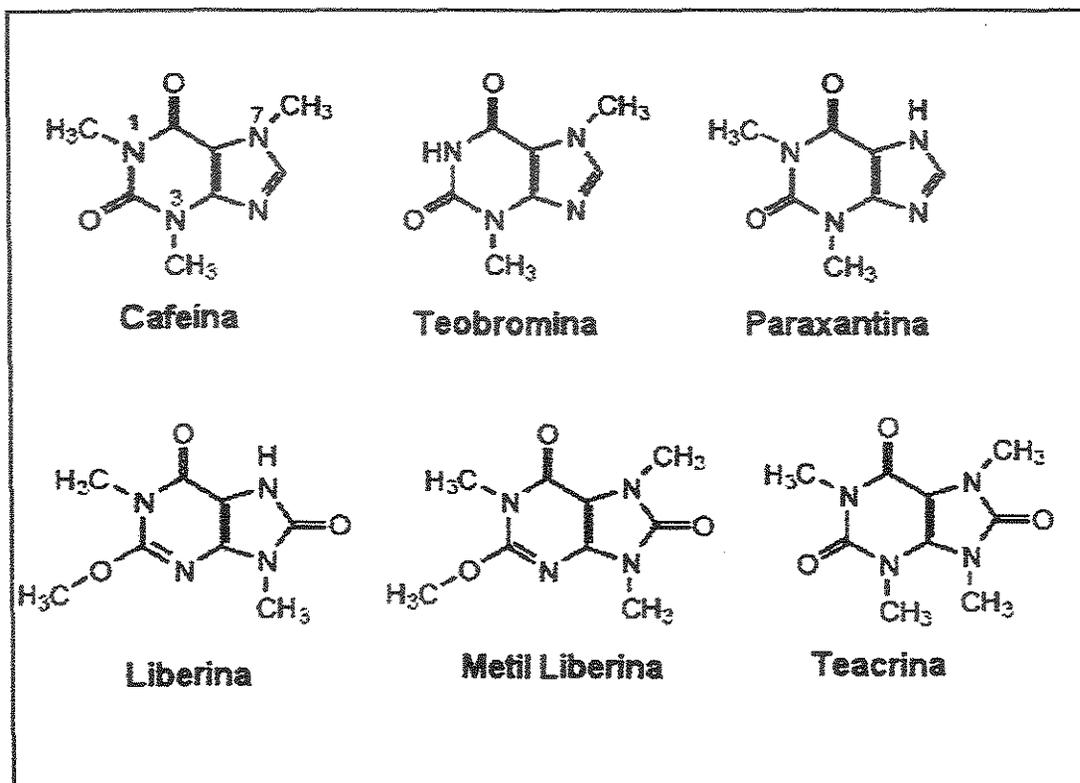


Figura 2.2- Estrutura molecular dos principais alcalóides purínicos (Ashihara e Crozier, 2001).

As propriedades da cafeína, alcalóide de interesse deste trabalho, estão apresentadas na Tabela 2.6 a seguir.

Tabela 2.6: Propriedades da cafeína (Martin *et al.*, 1981; Li e Hartland, 1992; Johannsen e Brunner, 1994)

Propriedade		
Fórmula molecular	C ₈ H ₁₀ N ₄ O ₂	
Massa molecular (g g mol ⁻¹)	194,19	
Ponto de ebulição (K)	628,2	
Volume molar a 298 K (mL mol ⁻¹)	144	
Densidade (g cm ⁻³) (C.N.T.P)	1,321-1,333	
Parâmetro de solubilidade a 298 K (cal cm ⁻³) ^{0,5}	13,8	
Espectro de absorção UV em água (λ _{máx}) (nm)	273-280	
Momento dipolo (Debye)	3,83	
Ponto de sublimação (K)	451	
Pressão de sublimação (bar)	313 K	3,717 x 10 ⁻⁹
	333 K	4,769 x 10 ⁻⁸
Ponto de fusão (K)	508-511	
Entalpia de fusão no ponto de fusão (J mol ⁻¹)	21118	
Solubilidade ideal (fração molar) (em água)	298 K	0,0289
	313 K	0,0435
	333 K	0,0709
	353 K	0,1092

A cafeína é um dos principais alcalóides purínicos, sendo consumido em larga escala através da ingestão de café, chá, chá mate, bebidas de cola e guaraná (como refrigerante ou *in natura*) e chocolates. A grande maioria dos brasileiros adultos consomem doses diárias de cafeína superiores a 300 mg, o que corresponde a uma xícara grande (200 mL) de café “expresso” (coado com vapor). Na Tabela 2.7. encontram-se alguns produtos comerciais e a concentração de cafeína em suas composições.

Tabela 2.7: Teor de cafeína em alguns alimentos

Produto Comercial	Quantidade (ml)	Cafeína (mg)
Café solúvel	1 xícara pequena (50 ml)	60,00
Café expresso	1 xícara pequena (50 ml)	85,00
Refrigerante à base de cola	1 lata (350 ml)	37,00
Refrigerante à base de cola dietético	1 lata (350 ml)	49,70
Sorvete de chocolate	1 bola (100 ml)	40,92
Leite com achocolatado	1 copo grande (240 ml)	5,00
Chá mate (ervas)	1 xícara (180 ml)	35,50
Chá mate pronto	1 copo (180 ml)	23,40
Chá mate pronto com limão	1 copo (180 ml)	19,64
Refrigerante de guaraná	1 lata (350 ml)	28,33
Refrigerante de guaraná dietético	1 lata (350 ml)	32,00

Fonte: Rede de atenção ao abuso de drogas - a cafeína, 2000.

A cafeína é conhecida também como guaranina, trimetildioxipurina, 1,3,7 trimetilxantina ou metilobromina (Schreck, 1975). A Figura 2.3 apresenta a estrutura molecular deste alcalóide.

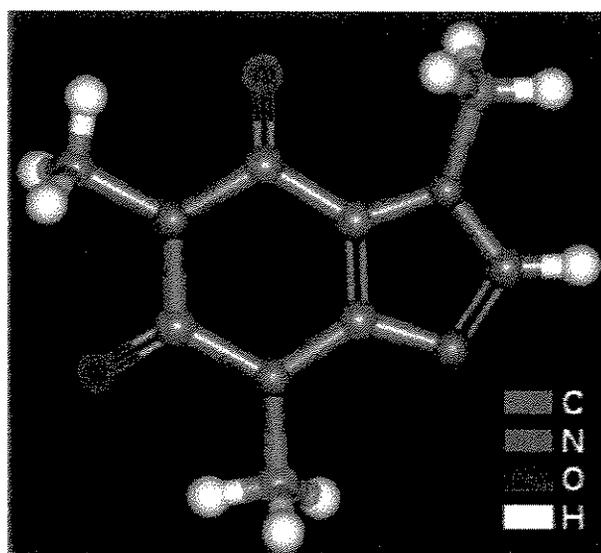


Figura 2.3- Estrutura molecular da cafeína

Em temperatura ambiente, a cafeína apresenta-se sob forma de cristais acidulares longos, flexíveis, inodoros, incolores e de sabor amargo. O cristal de cafeína cristaliza-se a partir de soluções aquosas, desidratando lentamente em temperatura ambiente. A 100 °C a

desidratação é rápida e completa, evaporando-se toda água a 130 °C, fundindo na faixa de 234 a 235 °C. Em temperaturas inferiores a 177 °C a cafeína sublima sem decomposição. Sua densidade a 25 °C é de 1,43 g/cm³. É quimicamente estável acima de seu ponto de fusão (Bothe e Cammenga, 1979). A massa molar da cafeína é 194,19 g/gmol. Possui dois máximos de absorbância de espectroscopia UV a 210 e 273 nm em solução de água.

Muitos autores estudaram os efeitos fisiológicos do consumo de cafeína. Pode-se citar os trabalhos de Hughes (1994) e Evans e Griffiths (1999) que estudaram respectivamente a síndrome da abstinência causada pela cafeína, Libermann *et al.* (1987) que estudaram os efeitos de pequenas doses de cafeína na performance humana; Griffiths e Woodson (1988) e Strain *et al.* (1994), que relataram os sintomas da dependência de cafeína, entre vários outros estudos.

Os mecanismos de operação no corpo humano são similares às anfetaminas e à cocaína. Seus efeitos, entretanto, são mais fracos do que estas drogas, mas ela age nos mesmos receptores do sistema nervoso central (SNC). A ligação da adenosina, um neurotransmissor natural, aos seus receptores, diminui a atividade neural e dilata os vasos sanguíneos, entre outros efeitos. A cafeína liga-se a estes receptores impedindo a ação da adenosina sobre o SNC, o que estimula a atividade neural e causa a constrição dos vasos sanguíneos. Muitos medicamentos contra a dor de cabeça, tais como Aspirina Forte[®]- Bayer, Melhoral[®]- Sydney Ross, Doril[®]- Dorsay e Neosaldina[®]- Abbott, entre outros, contém cafeína em suas formulações para impedir a ação da adenosina, contraindo os vasos sanguíneos cerebrais e aliviando a dor de cabeça. Com o aumento da atividade neural devido à ingestão do alcalóide, a glândula pituitária libera grandes quantidades de adrenalina, causando uma série de efeitos no corpo humano, como a taquicardia, aumento da pressão arterial, abertura dos tubos respiratórios (por isso muitos medicamentos contra a asma contêm cafeína), aumento do metabolismo e contração dos músculos, entre outros. Um outro modo de ação da cafeína é o bloqueio da enzima fosfodiesterase, responsável pela quebra do mensageiro cAMP (adenosina '3,5' monofostato cíclico) que é necessário para a liberação de adrenalina no organismo. Com o bloqueio da enzima, a adrenalina é continuamente liberada e seus sinais excitatórios persistem por muito mais tempo (por isso o aumento no estado de alerta ao se ingerir produtos cafeinados) (Gonzalez, 2002). A cafeína também aumenta a concentração de dopamina no sangue (assim como fazem as

anfetaminas e a cocaína), por diminuir a recaptação da dopamina no SNC. A dopamina também é um neurotransmissor (relacionado com o prazer) e suspeita-se que seja justamente este aumento dos níveis de dopamina que leve ao vício da cafeína. O problema do consumo de cafeína só aparece em longo prazo. O mais importante é o efeito que a cafeína tem sobre o sono. A recepção de adenosina é muito importante para o chamado o sono profundo. O tempo de meia-vida da cafeína no organismo é de 6 horas. Portanto, se um indivíduo ingerir um copo de café (200 mg de cafeína) por volta das 15:00 h e for dormir às 21:00 h não conseguirá os benefícios do sono profundo. No dia seguinte, o indivíduo precisará de mais cafeína para se sentir melhor, e este círculo vicioso continua, dia após dia. A parada abrupta do consumo de cafeína, causa depressão e, algumas vezes, uma terrível dor de cabeça – causada pela excessiva dilatação dos vasos sanguíneos no cérebro. Estes efeitos negativos forçam o consumo de cafeína, ocorrendo a dependência (Strain *et al.*, 1994).

Rogers e Dernoncourt (1998) divulgaram um estudo sobre os benefícios e desvantagens do consumo regular de cafeína na performance psicomotora. Neste estudo é indicado que um consumo moderado (1 mg de cafeína / (kg de massa corpórea dia)) favorece a diminuição do tempo de resposta a um estímulo, melhorando a performance. Doses mais altas, (2 mg de cafeína / (kg de massa corpórea dia)), pioram os resultados.

Riesselmann *et al.* (1999) estudaram casos de intoxicação fatal com cafeína. Segundo os autores estes casos são raros, mas foram detectadas superdosagens de cafeína (um dos casos devido à ingestão de cápsulas de guaraná em pó), através de cromatografia líquida de alta eficiência, no sangue e urina de dois óbitos na Alemanha em 1998. A concentrações de cafeína no sangue das vítimas, uma mulher de 19 anos e uma mulher de 81 anos foram de 260 e 180 mg/L respectivamente. A dose letal de cafeína no sangue descrita pelos autores é de concentrações acima de 80 mg/L, que representa a ingestão de aproximadamente 3 g de cafeína. A dose terapêutica (ingerida no café, chá ou outra fonte) é entre 50-200 mg, o que representa concentrações de cafeína no sangue de até 15 mg/L. Uma xícara pequena de café expresso (50 mL) contém cerca de 80 mg de cafeína. Os autores indicam ainda que os efeitos da superdosagem de cafeína são estimulação do centro respiratório, taquicardia, arritmia e tremores.

Muitos métodos são utilizados para obtenção de alcalóides (como a cafeína) a partir de produtos naturais. Em sua grande maioria utilizam solventes orgânicos imiscíveis em água, em geral prejudiciais ao meio ambiente e ao ser humano, para a extração dos alcalóides. Outras técnicas alternativas utilizam solventes solúveis em água (álcoois), menos seletivos, para o processo de extração. As etapas posteriores de purificação destes dois tipos de processos, para que o produto final esteja livre de contaminantes e possua um rendimento satisfatório, são dispendiosas e demoradas. Outro problema que estes métodos apresentam é a degradação térmica devido às temperaturas alcançadas nos processos de extração e purificação (McKillop, 1970).

2.4. Tecnologia para extração de alcalóides

Os métodos convencionais de extração de alcalóides a partir de produtos naturais são baseados na extração sólido-líquida com a utilização de solventes orgânicos. Segundo Wingrove e Caret, (1992) este processo é uma operação difícil e prolongada, assim como sua purificação. Nos métodos convencionais, o material vegetal é extraído em meio alcalino (NH_4OH) com solventes orgânicos como o acetato de etila, o benzeno, hexano, etc. Ao extrato obtido, é adicionada em seguida, uma solução de ácido clorídrico diluído, formando duas fases (uma fase orgânica e outra fase aquosa). O alcalóide forma um sal de cloro na fase aquosa e é separado dos demais componentes do extrato, que permanecem na fase orgânica. Uma base (NH_4OH) é adicionada a fim de precipitar os alcalóides na fase aquosa. Para alcançar um maior grau de pureza, o precipitado obtido pode ser dissolvido novamente num outro solvente orgânico imiscível na água (clorofórmio), cristalizando em seguida o alcalóide pela evaporação do solvente (Wingrove e Caret, 1992). Na Figura 2.4 está representado um diagrama esquemático da extração de alcalóides a partir de matrizes vegetais com a utilização de solventes orgânicos (Saldaña, 1997).

Este tipo de procedimento, utilizando solventes imiscíveis na água em meio alcalino, nem sempre conduz a extração, exigindo tratamentos prolongados, tornando o processo lento e às vezes caro. Deve-se considerar o perigo de explosões e incêndios quando os esgotamentos se efetuam à quente. Nestas circunstâncias, a perda de solventes volatilizados e não recuperados pode atingir cifras elevadas. Os solventes clorados diminuem estes riscos, sendo necessário, no entanto, proteger os operários de intoxicações provocadas pelos vapores produzidos.

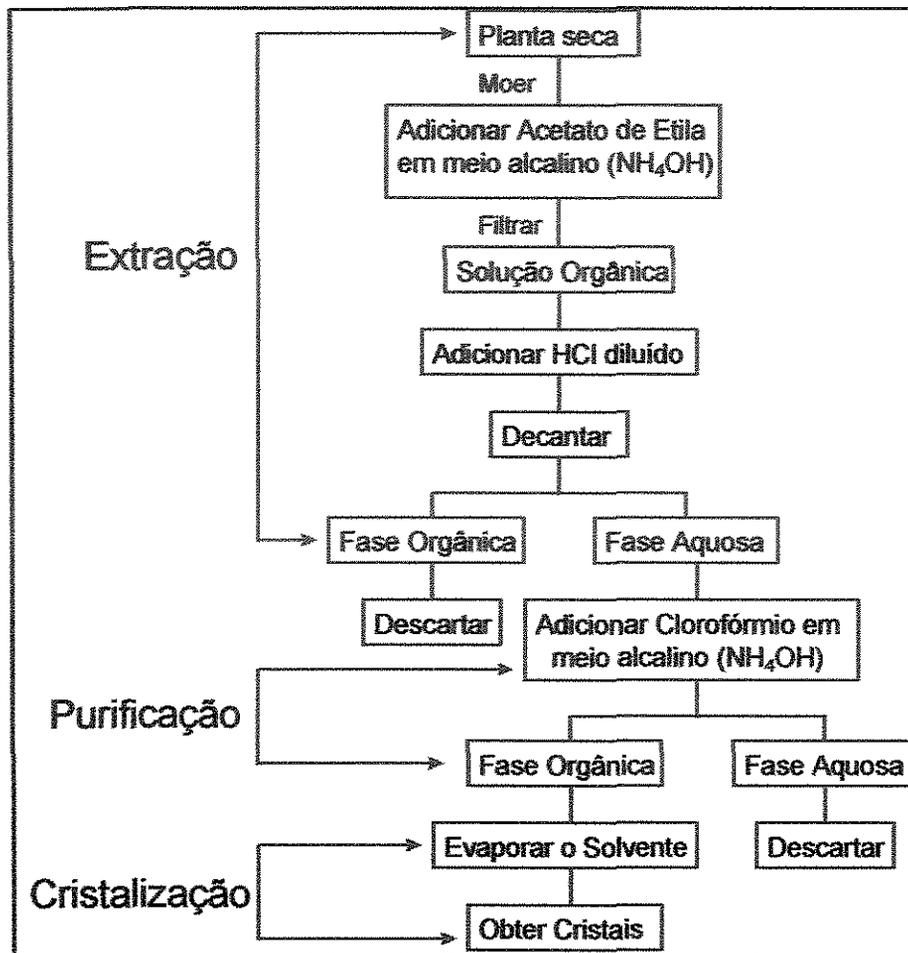


Figura 2.4: Extração convencional de alcalóides (Saldaña, 1997).

Pelo mencionado acima, a extração convencional de alcalóides, realizada com solventes orgânicos apresenta inconvenientes de operação, de tempo e de alto consumo de energia, aos quais adiciona-se o alto custo de produção. Além disso quando é necessário o aproveitamento da matriz vegetal, a contaminação com os solventes orgânicos pode inviabilizar o processo.

Um exemplo deste problema é extração de cafeína a partir dos grãos de café (QMCWEB, número 22, 2000). Até 1980 o café era descafeinado com diclorometano, que extrai a cafeína, seletivamente, sem extrair os açúcares, peptídeos e ingredientes que compõem o aroma e o sabor da bebida. Entretanto, o diclorometano é tóxico, tendo evidências de ser uma substância carcinogênica. Nos anos 90, em substituição ao diclorometano, utilizou-se o acetato de etila para a extração da cafeína contida nos grãos de

café, mas esta também é uma substância moderadamente tóxica para o organismo humano. Somente a partir de 1990 que um solvente não-tóxico, o dióxido de carbono supercrítico, passou a ser usado. Neste tipo de processo, o fluido supercrítico dissolve substâncias com uma capacidade semelhante à de um líquido, principalmente substâncias orgânicas, como a cafeína. O processo de extração é simples: o CO_2 supercrítico, sob alta pressão, percola os grãos de café dissolvendo cerca de 99% da cafeína presente. A cafeína, então, é isolada e vendida para as indústrias farmacêuticas e de alimentos. O café descafeinado é vendido como um produto de alto valor agregado. A Figura 2.5 apresenta o diagrama esquemático do processo de descafeinação do café com fluidos supercríticos.

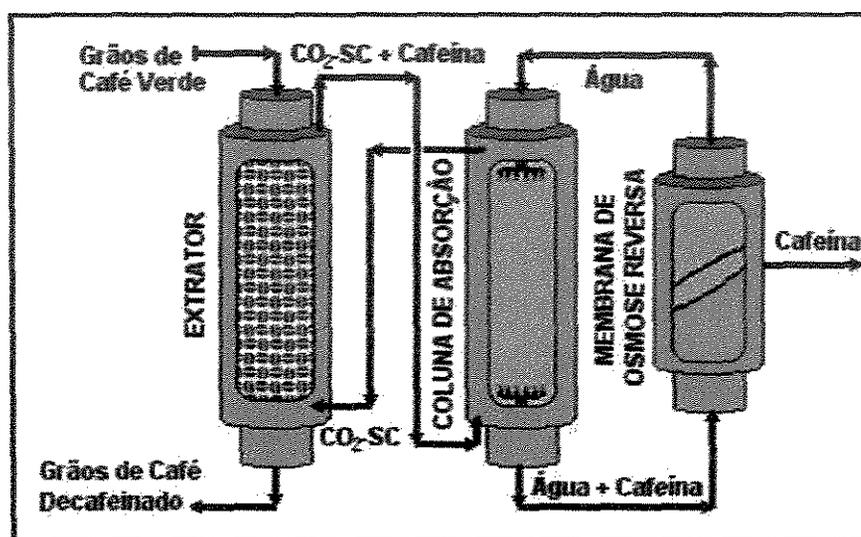


Figura 2.5: Extração de cafeína a partir de grãos de café com dióxido de carbono supercrítico (adaptado de: QMCWEB, número 22, 2000).

Outro processo para a extração de alcalóides usa uma membrana líquida, recomendada para substâncias muito básicas e lipossolúveis. Porém, nem sempre as substâncias a serem extraídas apresentam estas propriedades. Nas folhas de chá *Camelia sinensis*, por exemplo, o alto conteúdo de purinas (1-3%) é raramente extraído por possuir caráter levemente básico (Hong *et al.*, 1990).

A substituição dos processos convencionais vem se acentuando nos últimos anos devido ao desenvolvimento de tecnologias limpas sem contaminantes para o meio ambiente e sem possíveis danos à saúde. Produtos desenvolvidos por estas técnicas alcançam ótima

aceitação no mercado, chegando a um valor agregado mais alto o que compensa o investimento no desenvolvimento destas tecnologias.

A extração utilizando fluidos supercríticos, escopo desta pesquisa, tem sido objetivo de inúmeros trabalhos, porém para a implementação de processos com esta nova tecnologia são necessários estudos da solubilidade e seletividade do produto a ser extraído pelo fluido supercrítico, determinando-se a viabilidade do processo.

2.5. Fluidos Supercríticos

Qualquer fluido que se encontre acima da sua pressão crítica (P_c) e da sua temperatura crítica (T_c) é considerado um fluido supercrítico (FSC). As propriedades dos fluidos no estado supercrítico conferem a eles características especiais que os tornam desejáveis para inúmeros processos. Dentre as características mais importantes dos FSC destaca-se a densidade que, próxima ao ponto crítico, é semelhante às densidades dos líquidos, o que lhes proporcionam um poder de solubilização elevado. Esta característica, aliada a uma compressibilidade próxima à dos gases, tornam estes fluidos especiais, sobretudo para processos de extração. A Tabela 2.8 apresenta uma comparação entre algumas propriedades de líquidos gases e fluidos supercríticos.

Tabela 2.8 - Comparação entre algumas propriedades de líquidos, gases e fluidos supercríticos

Solvente	Massa Específica (g/mL)	Difusividade (cm ² /s)	Viscosidade (cP)
Gases	~0,001	0,005 - 0,035	0,01 - 1,0
FSC	0,2 - 0,9	0,020 - 0,1	(0,1 - 3,3) x 10 ⁻⁴
Líquidos	0,8 - 1,0	0,3 - 2,4	(0,5 - 2,0) x 10 ⁻⁵

As propriedades dos FSC são muito sensíveis à temperatura e pressão. Enormes mudanças na densidade (e no poder de solubilização) são obtidas através de pequenas mudanças nestas variáveis. Desta forma, uma fácil recuperação de solutos extraídos pode ser possível através de pequenas variações na pressão e/ou na temperatura - técnica que

permite precipitá-los em função da variação no poder de solubilização/densidade, deixando o solvente para ser reciclado.

Para os solventes convencionais (líquidos) esta variação no poder de solubilização/densidade só é possível através da adição de outros solventes ou através de mudanças consideráveis na temperatura. A Figura 2.6 mostra a variação da densidade do CO₂ com a temperatura e a pressão.

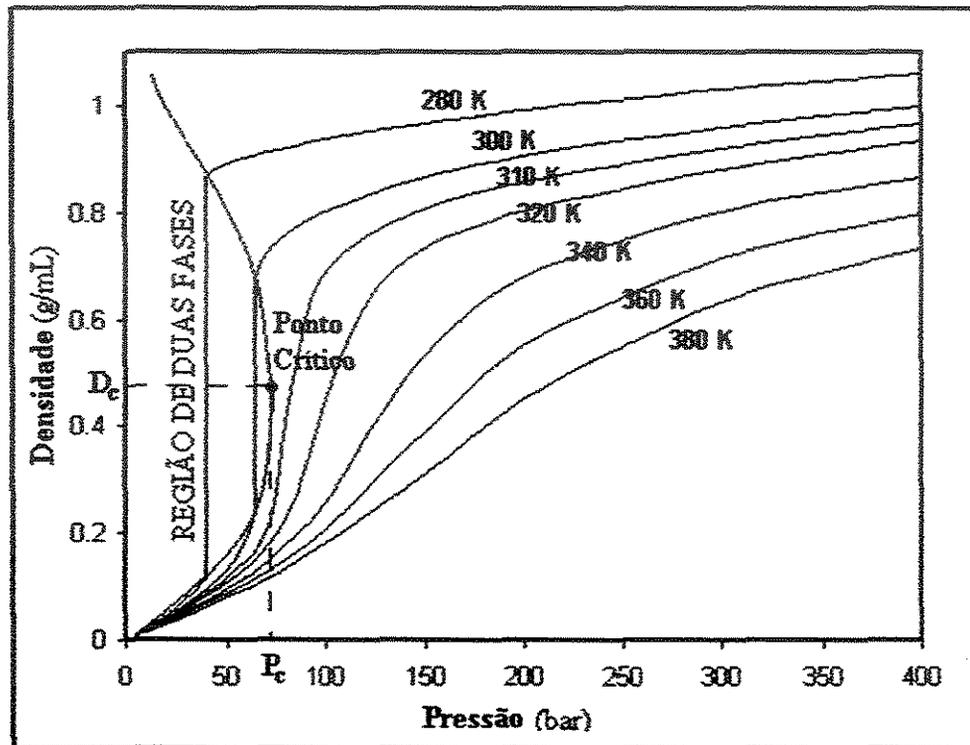


Figura 2.6- Diagrama PpT para o dióxido de carbono (dados de densidade em função da temperatura e pressão, Angus e Dereuk, 1976).

Na Figura 2.6 pode-se observar variações abruptas na densidade com pequenas mudanças na temperatura ou na pressão, na região supercrítica ($T > 31,2\text{ °C}$ e $P > 73,8\text{ bar}$).

Considerando uma isoterma de solubilidade de um soluto qualquer, com o aumento progressivo da pressão após o ponto crítico do solvente, é observado um aumento abrupto da solubilidade, pois é logo após o ponto crítico que existe a maior taxa de aumento da densidade com o incremento da pressão (Figura 2.6). Se for considerada uma segunda isoterma em uma temperatura mais baixa, verifica-se que após o ponto crítico a solubilidade do soluto nesta temperatura será maior para as mesmas pressões, efeito

conhecido como comportamento retrógrado. A explicação clássica para este fenômeno é a existência de dois efeitos concorrentes devido ao aumento da temperatura: a diminuição da densidade e o aumento da pressão de vapor do soluto. Enquanto o efeito da diminuição da densidade for predominante, existirá a região retrógrada, ao passo que, ao se distanciar do ponto crítico, a variação da densidade diminui, como pode ser observado na Figura 2.6, e o aumento da pressão de vapor do soluto passa a ser predominante ocorrendo o fim da região retrógrada. Este fato (McHugh e Krukoni, 1986), pode ser melhor exemplificado através da Figura 2.7, que demonstra as isotermas de solubilidade para o naproxeno em CO_2 .

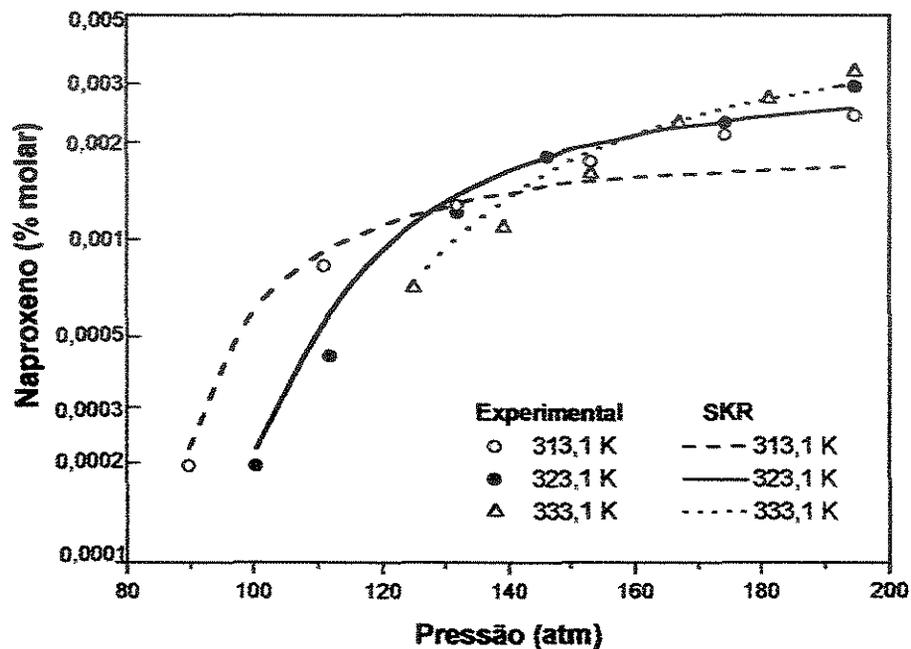


Figura 2.7- Correlação através da equação SRK para a solubilidade de naproxeno em CO_2 -SC puro. (Ting *et al.*, 1993 a).

A pressão na qual as isotermas de solubilidade do naproxeno se cruzam (Figura 2.7) é denominada pressão de cruzamento superior (Foster *et al.*, 1991; McHugh e Krukoni, 1986).

Foster *et al.* (1991) estudaram a pressão de cruzamento superior para várias substâncias em fluidos supercríticos e concluíram que há fortes indícios da existência de uma única pressão de cruzamento (onde para qualquer temperatura a solubilidade é a mesma). Note que a Figura 2.7 apresenta uma faixa de cruzamento para as isotermas, mas

segundo os autores, isto pode ser atribuído a erros experimentais. Foster *et al.* (1991) estudaram a solubilidade de um soluto em vários fluidos supercríticos e observaram que, quanto maior o ponto crítico do solvente, maior a pressão de cruzamento superior.

Muitos fluidos são utilizados para a extração supercrítica, de acordo com as propriedades necessárias para cada processo. Na Tabela 2.9 são observadas as temperaturas e pressões críticas de alguns fluidos.

Tabela 2.9: Temperatura e pressão críticas de alguns fluidos

Fluido	Temperatura crítica (°C)	Pressão crítica (MPa)
CO ₂ ¹	31,2	7,3
N ₂ O ¹	36,4	7,3
NH ₃ ¹	132,4	11,3
Xe ¹	16,5	5,8
Ar ¹	150,8	4,8
H ₂ O ¹	374,0	21,9
CCl ₂ F ₂ ¹	111,7	4,1
Metano ²	-82,6	4,6
Etileno ²	9,3	5,0
Etano ²	32,3	4,9
Propileno ²	91,9	4,6
Propano ²	96,7	4,2
Amônia ²	132,5	11,3

Fonte: ¹ Rizvi *et al.*, 1986; ² Phelps *et al.*, 1996

O gás carbônico tem sido amplamente utilizado em processos com fluidos supercríticos devido a algumas características que o tornam especial para estas aplicações: temperatura crítica convenientemente baixa; custo relativamente baixo; não-tóxico; estabilidade química, não-inflamabilidade e também a estabilidade em aplicações radioativas. É um gás que não agride o meio ambiente podendo, através dos processos de extração supercrítica, substituir outros solventes orgânicos. O CO₂ também está disponível em grande quantidade, sendo subproduto de inúmeras operações industriais como a fermentação, a combustão e a síntese de amônia. Possui um caráter polar intermediário entre um solvente “verdadeiramente” não-polar, como hexano, e solventes polares fracos,

pois a molécula do CO₂ apesar de ser classificada como não-polar, possui fraca afinidade com solutos polares devido ao alto valor de seu quadrupolo molecular. O CO₂ tem afinidade com muitas moléculas orgânicas, e mesmo moléculas orgânicas com algum caráter polar, especialmente se estas forem fluoretadas. O gás carbônico não é um bom solvente para polímeros de hidrocarbonetos e outros hidrocarbonetos de alto peso molecular. Etano, eteno e propano são alternativas para a extração de hidrocarbonetos, embora estes solventes possuem a desvantagem de serem perigosos devido à inflamabilidade e serem um pouco mais tóxicos ao meio-ambiente. Água supercrítica é um solvente conveniente para o meio ambiente, mas seus parâmetros críticos são elevados (P_c e T_c altas), aumentando o custo energético de processo. A água supercrítica está sendo usada como um meio para a destruição oxidativa de rejeitos tóxicos, mas, devido ao grande poder de oxidação desse solvente é necessária a utilização de aços especiais na confecção dos equipamentos que entram em contato com o solvente. Há um interesse particular na água supercrítica ou próximo ao seu ponto crítico porque sua polaridade diminui com a elevação da temperatura. Amônia tem um comportamento semelhante, mas não é muito utilizada devido à sua toxicidade. Muitos halocarbonetos possuem condições críticas interessantes porém têm a desvantagem do alto custo e de serem prejudiciais ao meio ambiente. O Xenônio é um solvente caro, mas está sendo muito utilizado para experiências que envolvem a espectroscopia devido sua transparência no infravermelho. (Clifford, 1998).

Apesar do dióxido de carbono, um solvente apolar, ser muito utilizado para as extrações com fluidos supercríticos, é conhecido que a solubilidade de substâncias polares neste solvente é muito baixa. Este fato torna-se um obstáculo para o desenvolvimento de processos utilizando CO₂-SC (Ke *et al.*, 1996). Porém muitos estudos têm apontado a utilização de pequenas quantidades de um segundo solvente polar (co-solvente) que, quando adicionado ao CO₂-SC, produz uma mistura supercrítica polar (Dobbs *et al.*, 1986; Gurdial *et al.*, 1993) e a solubilidade de substâncias polares tendem a ser incrementadas significativamente.

Muitos trabalhos na literatura apontam a utilização de co-solventes como por exemplo o etanol, para melhorar o poder de extração dos fluidos supercríticos. A adição de co-solventes modifica a polaridade do CO₂ e as propriedades do solvente supercrítico. Na

Tabela 2.10, são apresentadas as temperaturas e pressões críticas para misturas contendo etanol e CO₂. A adição de etanol aumenta a pressão e temperatura crítica da mistura.

Tabela 2.10: Variação de Pc e Tc da mistura CO₂-Etanol com a adição de co-solvente.

Fração molar de etanol (%)	Pressão Crítica da Mistura (MPa)	Temperatura Crítica da Mistura (K)
0,00	7,30	304,4
0,95	7,65	305,8
2,14	7,83	308,4
2,78	8,07	310,3
3,66	8,25	312,1
4,64	8,61	315,2
6,38	9,19	320,1
7,32	9,74	325,1

Fonte: Predição através de equações de estado de Peng-Robinson (Saldaña, 1997).

Ting *et al.* (1993a), determinaram a variação das propriedades críticas de uma mistura de CO₂-SC com vários co-solventes e verificaram que a adição de álcoois eleva gradativamente a temperatura crítica da mistura na medida que aumenta a percentagem do co-solvente. Na Figura 2.8, apresentam-se os resultados observados por estes autores.

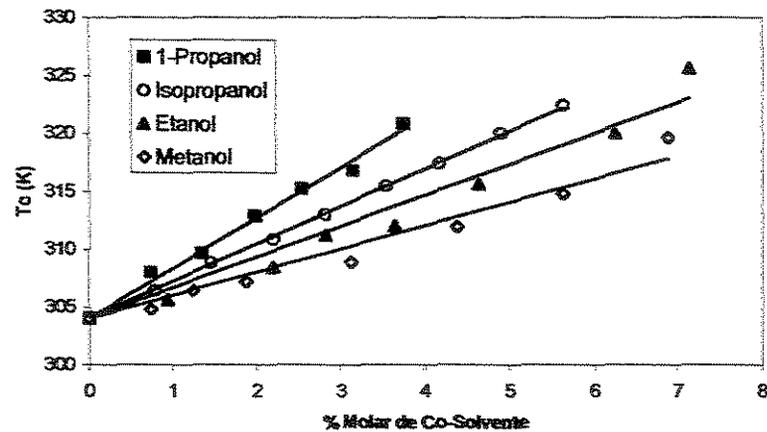


Figura 2.8- Temperatura crítica de mistura com a variação da percentagem molar de co-solvente. As linhas indicam o melhor ajuste para cada conjunto de dados (adaptado de Ting *et al.*, 1993 a).

A habilidade do FSC extrair compostos de baixa volatilidade origina-se das fortes interações entre soluto e solvente, ou das associações químicas entre eles. A adição de co-solvente proporciona um aumento de solubilidade em função de um aumento das forças de interação do fluido com o soluto (químicas ou físicas), e/ou através do aumento da densidade e conseqüentemente o aumento do poder de solvatação. O fator predominante depende da natureza química dos componentes bem como das condições experimentais (temperatura, pressão e concentrações) (Zhong *et al.*, 1997).

Ke *et al.*, 1996, estudaram a solubilidade do ácido salicílico em dióxido de carbono supercrítico utilizando etanol como co-solvente. Nos seus resultados é observado que a solubilidade do ácido salicílico aumenta até duas ordens de grandeza, para ensaios em uma mesma temperatura e pressão, com a adição de 2,58 a 6,5% (mol) de etanol na mistura, em relação às solubilidades encontradas quando se utiliza CO₂-SC puro. Em suas conclusões os autores apontam para dois fatores importantes para o aumento da solubilidade: as interações entre o co-solvente e o soluto e o aumento da densidade da mistura supercrítica com o aumento da percentagem de etanol.

Segundo Ting *et al.* (1993 a) o efeito do co-solvente está relacionado com a formação de um *cluster*¹ ao redor da molécula do soluto, devido às interações destas com as moléculas de co-solventes, tornando a densidade local (ao redor da molécula do soluto) maior em relação à densidade do meio (Debenedetti *et al.*, 1989; Brennecke *et al.*, 1990). Ting *et al.* (1993 a) afirmaram que pontes de hidrogênio são formadas entre as moléculas de soluto e as moléculas de co-solvente. Estas conclusões foram determinadas a partir do estudo da solubilidade de naproxeno em misturas com CO₂-SC e co-solventes. Os autores estudaram uma série de álcoois: metanol, etanol, 1-propanol e isopropanol (2-propanol). Os resultados demonstram que o efeito de co-solvente (definido como a razão entre a solubilidade do soluto na mistura solvente + co-solvente e a solubilidade do soluto no solvente puro) aumenta com o aumento da cadeia carbônica do álcool, sendo que o 1-

¹ Na presente dissertação, o termo *cluster* refere-se a um aumento de densidade local em decorrência de encontrar-se maior quantidade de moléculas de solvente ao redor da molécula de soluto, não significando ligações entre estas moléculas. Este aumento de densidade está relacionado com dois efeitos: i) efeitos diretos (Debenedetti e Mohamed, 1989) relacionados com a atração entre o par soluto-solvente e ii) indiretos (Tucker, 1999), que ocorrem devido as flutuações na densidade do solvente quando se está próximo ao ponto crítico onde a compressibilidade do sistema é muito grande formando aglomerados locais de moléculas de solvente. Assim, quanto mais próximo do ponto crítico maior a "facilidade" da presença de aglomerados em torno das moléculas de soluto.

propanol é o co-solvente que maximiza este efeito. Nestes resultados observa-se que o efeito de co-solvente, para as condições e substâncias utilizadas, diminui com o aumento de pressão. A Figura 2.9 apresenta o efeito de co-solvente para as substâncias estudadas.

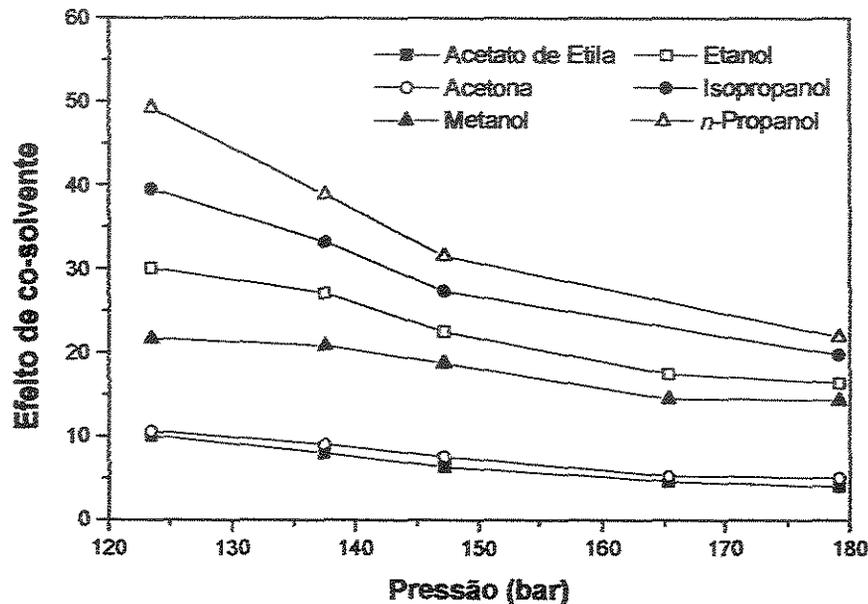


Figura 2.9- Efeito de co-solvente em função da pressão a 333,1 K e com concentração de 5,25 % mol de co-solvente, na solubilidade do naproxeno (Ting *et al.*, 1993 a).

Segundo os autores, a razão para que o isopropanol tenha um efeito de co-solvente menor que o propanol é devido a impedimento estérico para a formação do *cluster* de solvatação, pois o posicionamento da hidroxila no meio da cadeia dificulta a aproximação para a formação da ponte de hidrogênio com os oxigênios presentes na molécula do soluto. O posicionamento da hidroxila da ponta da cadeia, como é o caso do 1-propanol, facilita a formação do *cluster* de solvatação. Outro efeito discutido é o maior distanciamento das condições críticas. A mistura de CO₂-isopropanol possui temperatura crítica (320 K) menor do que a mistura CO₂-propanol (326 K) (Figura 2.8), portanto para a temperatura experimental (333,1 K) utilizada nos experimentos de solubilidade do naproxeno (Figura 2.9), a mistura CO₂-isopropanol está mais distante de sua T_c e, quanto mais distante, menor é o efeito de compressibilidade no sistema. Desta forma, a diferença entre a densidade local e a densidade do meio é menor quando comparada com a mistura utilizando propanol como

co-solvente, assim é esperado um menor efeito no aumento da solubilidade pelo aumento de densidade local. Realmente para qualquer FSC, quanto mais próximo do ponto crítico maior é o ganho de solubilização de algum soluto (Ting *et al.*, 1993a). Este efeito pode ser entendido com base no trabalho publicado por Debenedetti e Mohamed (1988).

Debenedetti e Mohamed (1988) definem este fenômeno, formação do *cluster* de solvatação, como o número de moléculas do solvente em excesso ao redor da molécula de soluto, quando comparado com a distribuição uniforme das moléculas de solvente no seio do fluido (densidade *bulk*). A Equação 2.1, proposta por estes autores, define o tamanho de *cluster*, ξ .

$$\xi = \rho \int (g_{21}^{\infty} - 1) d^3 r \quad (2.1)$$

Onde ρ é a densidade do solvente, r o raio (com a molécula de soluto no centro) e g_{21}^{∞} a função de correlação de par (soluto-solvente).

Debenedetti e Mohamed (1988) demonstraram a relação entre ξ e as quantidades termodinâmicas, obtendo uma dependência de ξ com K_T (compressibilidade isotérmica).

$$\xi = K_T(\rho kT - \delta) \quad (2.2)$$

Onde k é a constante de Boltzmann, T é a temperatura e δ é obtido por:

$$\delta = \lim_{N_1 \rightarrow 0} \langle N_1 + N_2 \rangle \left(\frac{\partial P}{\partial N_1} \right)_{T, V, N_2} \quad (2.3)$$

Onde $(N_1 + N_2)$ é a quantidade total de moléculas (soluto e solvente) no volume V

Segundo estes pesquisadores, três tipos de comportamento entre as moléculas de soluto e do solvente podem ocorrer:

Atrativo: $\delta < 0$;

Fracamente atrativo: $\rho kT > \delta > 0$

Repulsivo: $\delta > \rho kT$,

Normalmente, a maioria dos sistemas estudados, que envolve a extração de algum componente com o uso de fluidos supercríticos, apresenta comportamento atrativo. Desta forma a grandeza ξ (tamanho do *cluster*) aumenta com o aumento da compressibilidade isotérmica K_T .

A compressibilidade isotérmica do solvente, apresentada pela Equação 2.4 (Sandler, 1989), diverge no ponto crítico, onde a derivada do Volume Molar, \underline{V} , em respeito à pressão tende a valores muito grandes, mantendo-se a temperatura constante.

$$K_T = -\frac{1}{\underline{V}} \left(\frac{\partial \underline{V}}{\partial P} \right)_T \quad (2.4)$$

Desta forma, para sistemas com comportamento atrativo, o tamanho do *cluster* de solvatação tende a valores muito grandes próximo ao ponto crítico. Isto pode ser melhor observado, na Figura 2.10 (Debenedetti e Mohamed, 1988).

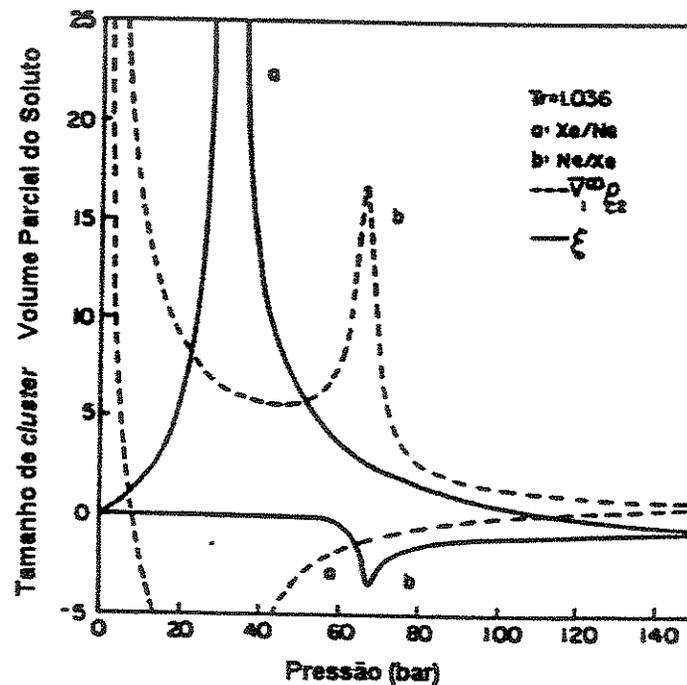


Figura 2.10- Cálculo do volume parcial molar do soluto e tamanho de *cluster*, utilizando a Equação de Estado de Van der Waals. (a) Sistema com comportamento atrativo: solvente, Ne e soluto, Xe; (b) Sistema com comportamento repulsivo: solvente, Xe e soluto, Ne. Condições críticas: Ne (27 bar, -228 °C); Xe (59 bar, 17 °C).

Através da Figura 2.10 é possível observar que, para um sistema com comportamento atrativo, o tamanho do *cluster* aumenta rapidamente próximo ao ponto crítico. Assim há um incremento das interações físicas devido a maior quantidade de moléculas de solvente em volta do soluto. Desta forma, o solvente supercrítico é mais efetivo próximo ao ponto crítico. Quanto mais próximo do ponto crítico do solvente, mais a diferença entre a densidade local (em torno das moléculas de soluto) e a densidade do meio aumenta nestes sistemas. Com o aumento da pressão, a densidade do meio aumenta e o tamanho de *cluster* diminui e, então, esta diferença entre as densidades diminui.

Zhong *et al.* (1997), estudaram o efeito da adição de etanol na solubilidade de ácido esteárico em CO₂-SC. Os resultados indicaram um aumento de solubilidade do ácido esteárico com o aumento da percentagem de etanol a uma mesma pressão. Segundo os autores este resultado é em razão da formação de pontes de hidrogênio entre a hidroxila do etanol e o oxigênio do ácido carboxílico. Um outro efeito importante é o aumento da densidade do fluido supercrítico com a adição do co-solvente, melhorando o poder de solvatação do FSC.

Schaeffer *et al.* (1988), estudaram a variação da solubilidade do alcalóide monocrotalina com a adição de etanol ao CO₂-SC. Os resultados encontrados pelos autores indicam que com a adição de 5% e 10% de etanol (fração molar), a solubilidade aumentou respectivamente em média (para as várias pressões utilizadas) 6 e 12 vezes, quando comparada com a solubilidade no CO₂-SC puro. Os autores também apontaram um deslocamento da pressão de cruzamento superior com o aumento da quantidade de etanol.

Berna *et al.* (2001) estudaram a variação da solubilidade de resveratrol em mistura de CO₂ e etanol. Este estudo foi motivado pela baixa solubilidade deste soluto em CO₂-SC. Os autores estudaram misturas com 5; 7,5; 10; 12,5 e 15% de etanol (fração molar). Os resultados apontam que as misturas contendo 7,5 % de etanol apresentavam o maior incremento da solubilidade. Utilizando as equações de estado de Peng-Robinson e de Soave-Redlich-Kong os autores modelaram com sucesso o equilíbrio ternário.

A Figura 2.11 apresenta um exemplo do incremento da solubilidade de um soluto em CO₂-SC com a adição de co-solvente. Os dados foram obtidos por Ting *et al.* (1993a) para a solubilidade de naproxeno em CO₂-SC e metanol como co-solvente.

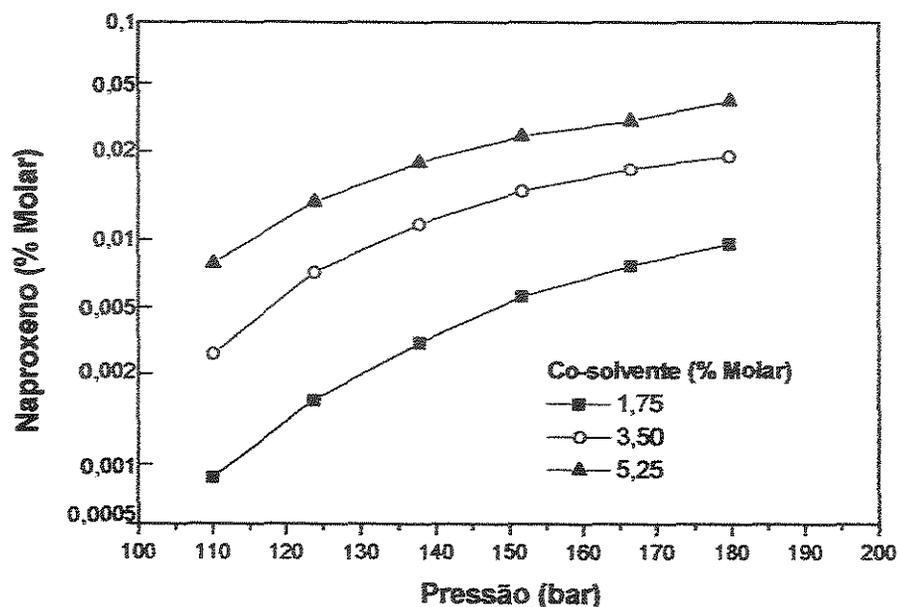


Figura 2.11- Variação da solubilidade do naproxeno em dióxido de carbono supercrítico e metanol como co-solvente em função da quantidade de co-solvente e da pressão (Ting *et al.*, 1993 a).

A determinação de solubilidade de substâncias em fluidos supercríticos pode ser feita por dois procedimentos: através de método dinâmico ou através do método estático.

O método mais utilizado, devido a sua simplicidade e confiabilidade é o método dinâmico (Van Leer e Paulaitis, 1980; Kurnik *et al.*, 1981; Krukonis e Kurnik, 1985). Este método também foi utilizado nos resultados apresentados neste trabalho. O fluido é inserido no sistema e comprimido à pressão de operação desejada através de uma bomba de alta pressão. Quando são atingidas as pressão e temperatura desejadas, uma válvula após o extrator é aberta, iniciando-se o processo. As vazões volumétricas típicas estão em torno de 1 L min^{-1} (fluido nas C.N.T.P.). Vazões baixas garantem que o fluido seja saturado com o soluto no extrator. Na válvula após o extrator, o FSC saturado expande à pressão atmosférica e o soluto precipita num recipiente resfriado. Este tipo de sistema apresenta características positivas como (McHugh e Krukonis, 1986): i) um número razoavelmente grande de dados de solubilidade podem ser obtidos de forma rápida e reproduzível; ii) dados de equilíbrio, extração e fracionamento podem ser obtidos; e iii) o procedimento de amostragem é simples.

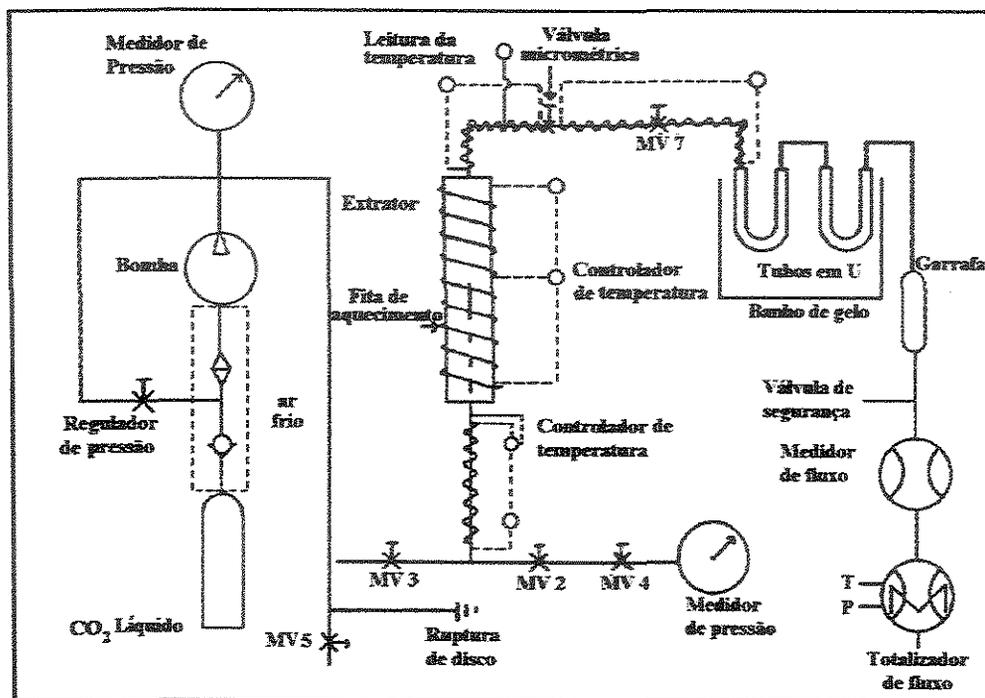


Figura 2.12: Sistema dinâmico de extração de alta pressão (Chimowitz e Pennisi, 1986)

No entanto, este método também apresenta algumas limitações: i) quando não é utilizado um extrator com janela de observação, mudanças de fase tais como sólido-líquido e líquido-líquido podem ocorrer sem que sejam detectadas ou percebidas; ii) experimentos de equilíbrio com misturas multicomponentes devem ser cuidadosamente desenhados, para evitar o esgotamento completo de um ou mais componentes durante o experimento; iii) um sólido ou um líquido pode obstruir a válvula micrométrica e causar a retenção do soluto e levar a erros nas medidas de solubilidade (Saldaña, 2002).

O equipamento utilizado no método estático para medir a solubilidade de substâncias em fluidos supercríticos é constituído por uma célula (com janela de observação) para altas pressões. Esta célula permite a determinação visual das fases presentes em equilíbrio (McHugh e Krukoni, 1986).

A célula é inicialmente carregada com uma quantidade de sólido ou líquido (soluto) e purgada 5 vezes ou mais à temperatura ambiente com o solvente de interesse para remover o ar. Através de uma bomba de alta pressão o solvente é, então, comprimido até

que o soluto esteja totalmente dissolvido no solvente em temperatura e pressão acima do ponto crítico do solvente. O conteúdo da célula é misturado por agitação contínua, usando, por exemplo, um sistema magnético (Figura 2.13). A temperatura é diminuída lentamente até uma segunda fase apareça. A imagem deste processo pode ser projetada através de filmagem. O surgimento da segunda fase indica a saturação da fase supercrítica naquela pressão e naquela temperatura, como a quantidade de soluto e de solvente são conhecidos, obtém-se os dados de solubilidade para aquelas condições. Modelos semelhantes deste método (Figura 2.13) foram apresentados por Floter *et al.* (1997), McHugh e Krukonis (1986), Peters (1986) e De Loos *et al.* (1983).

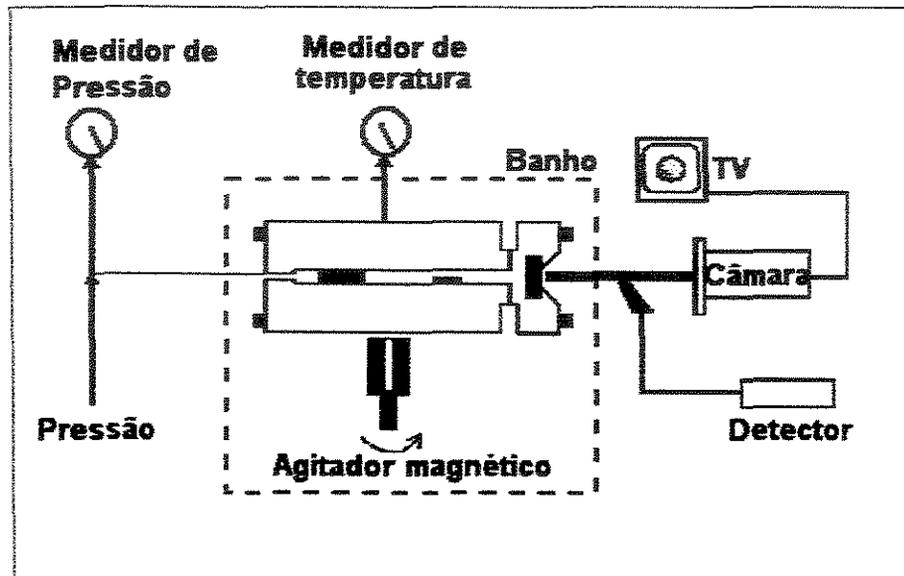


Figura 2.13- Sistema típico estático com módulo de filmagem.

Entre as vantagens deste modelo temos: i) as transições de fase são determinadas visualmente e uma possível inversão de fases é facilmente detectada; ii) a solubilidade de sólidos e líquidos em misturas binárias é obtida sem amostragem; iii) quantidades mínimas de componentes ou fluidos supercríticos são usadas num experimento; iv) a pressão da mistura pode ser continuamente ajustada numa temperatura e composição fixa; v) com misturas multicomponentes, as fases de equilíbrio podem ser amostradas. Por outro lado, a desvantagem do uso do método estático é que os dados de extração ou fracionamento com fluidos supercríticos não são facilmente obtidos (Saldaña, 2002).

Na Tabela 2.11 estão apresentadas as condições de extração investigadas por diversos autores e os métodos usados para determinação da solubilidade da cafeína em fluidos supercríticos.

Tabela 2.11: Métodos utilizados para a determinação da solubilidade de cafeína em fluidos supercríticos.

Solvente	Pressão (MPa)	Temperatura (K)	Método	Referência
CO ₂	1-20	294-333	dinâmico	Stahl e Schilz (1979)
CO ₂	5-25	323-433	estático	Ebeling e Franck (1984)
NH ₃	100	423	estático	Liedtke e Lentz (1984)
NH ₃	10-13	433	estático	Yonker e Smith (1985)
CO ₂	26-33	333	dinâmico	McHugh e Krukonis (1986)
CO ₂ , CO ₂ /H ₂ O	15-70	310-430	estático	Lentz <i>et al.</i> (1986)
CO ₂	8-30	313-368	dinâmico	Li <i>et al.</i> (1991)
CO ₂ , CO ₂ /etanol	15-30	333-368	dinâmico	Li e Hartland (1992)
CO ₂	20-35	313-353	estático	Johannsen e Brunner (1994)
CO ₂	9-24	313-343	dinâmico	Saldaña <i>et al.</i> (1997)

As extrações de solutos a partir de matrizes sólidas com o uso de fluidos supercríticos (FSCs) também podem ser realizadas usando o modo estático, dinâmico ou a combinação (estático/dinâmico). A extração estática consiste no uso de uma quantidade fixa de fluido que interage com o extrato/matriz. Normalmente, o extrator que contém a matriz é pressurizado com o fluido numa dada temperatura. Devido a grande difusividade do fluido supercrítico, existe a penetração na matriz e extração do soluto. Este sistema estático é formado por controladores, bombas, válvulas e um detector. O extrato deve migrar à célula de fluxo num processo limitado pela difusão. Um dos problemas experimentais na extração estática é a impossibilidade de esgotar o soluto na matriz se o FSC já estiver saturado (Hedrick *et al.*, 1992). Por outro lado, o método dinâmico usa o FSC fluindo continuamente pela matriz. Ao contrário do que acontece no modo estático, a extração dinâmica se realiza até esgotar o extrato. Portanto, a pureza do fluido é fundamental a fim de evitar a concentração de contaminantes que poderiam interferir na análise do extrato. Um problema apresentado com este método é a remoção de um maior número de componentes da matriz pelo uso de maior quantidade de FSC (Hedrick *et al.*, 1992).

2.6. A Extração de produtos naturais a partir de matrizes sólidas com fluidos supercríticos

A cinética de extração utilizando-se fluidos supercríticos envolve inúmeras variáveis. Entre estas, pode-se destacar: pressão, temperatura, vazão e tamanho de partícula da matriz sólida. Um experimento de extração típico utilizando o método dinâmico consiste em uma operação em batelada, onde o material sólido (no qual está contido o produto de interesse) é colocado em um extrator, e após atingir as condições experimentais (temperatura e pressão), é iniciada a extração a uma vazão constante. Na Figura 2.14 está mostrada uma curva de extração típica para o processo descrito. Na ordenada encontra-se o rendimento (material de interesse extraído / quantidade total deste material contido na amostra), na abscissa encontra-se a quantidade de solvente utilizada.

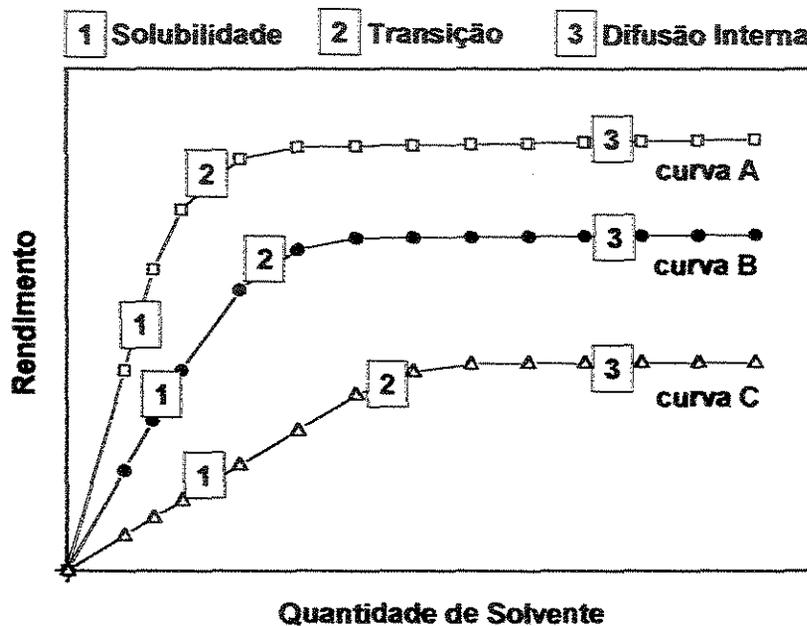


Figura 2.14- Representação gráfica de algumas curvas de extração típicas utilizando FSC (método dinâmico).

Na Figura 2.14 pode-se observar três regiões distintas nas curvas de extração, a primeira região (1) é controlada pela solubilidade do soluto no fluido, quanto maior a solubilidade de soluto no fluido, maior será o ângulo de inclinação desta parte da curva, na Figura 2.14, a curva A tem a maior solubilidade de soluto no FSC, a curva C tem a menor.

A segunda região é denominada de transição, onde ocorre uma desaceleração das taxas de extração pois a quantidade de soluto na superfície diminui e inicia-se a difusão do soluto do interior da partícula para superfície quando entra em contato com o solvente. Na terceira região, não existe mais soluto acessível ao solvente, esta é a região dependente da difusão do soluto (contido no interior das partículas para o meio), onde as taxas de extração, devido a grande resistência a transferência de massa, são baixas. A inclinação das retas que representam esta região depende do coeficiente de transferência de massa no interior das partículas: quanto menor a resistência, maior será a inclinação.

A tecnologia de extração supercrítica é uma técnica muito versátil, oferecendo muitas possibilidades para a modificação da taxa de transferência de massa ou da seletividade. Entretanto as particularidades de cada sistema, como por exemplo, as diferentes interações entre o soluto de interesse, a matriz e o fluido supercrítico são fatores complicadores no que diz respeito ao desenvolvimento de um processo único para todos os sistemas.

Para uma melhor compreensão dos processos de extração que utilizam fluidos supercrítico, muitos autores têm estudado e desenvolvido modelos cinéticos para a modelagem destes processo (Tezel e Hortaçsu (2000); Cocero e Garcia (2001a); Cocero e Garcia (2001b); Sovová (1994) ; Sovová *et al.* (1994)). Este tipo de estudo é de grande importância para obter-se, a partir de experimentos em laboratório, processos em escala industrial com esta nova tecnologia.

Björklund *et al.*, 1998, determinaram as taxas de extração de um mesmo soluto em diferentes matrizes sólidas, para identificar os efeitos de interação matriz-soluto. No experimento foi estudada a extração da clevidipina (Figura 2.15) impregnada em filtros de papel e misturada com esferas de aço inoxidável, esferas de vidro e areia, utilizando CO₂ supercrítico a 28,3 MPa e 40°C. A vazão foi mantida constante em 4,0 mL/min.

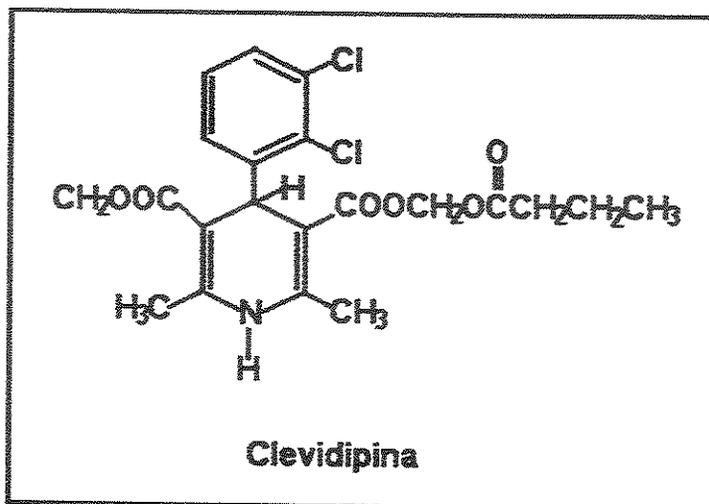


Figura 2.15- Estrutura Molecular da clevidipina.

A Figura 2.16 apresenta as curvas de extração da clevidipina nas diferentes matrizes.

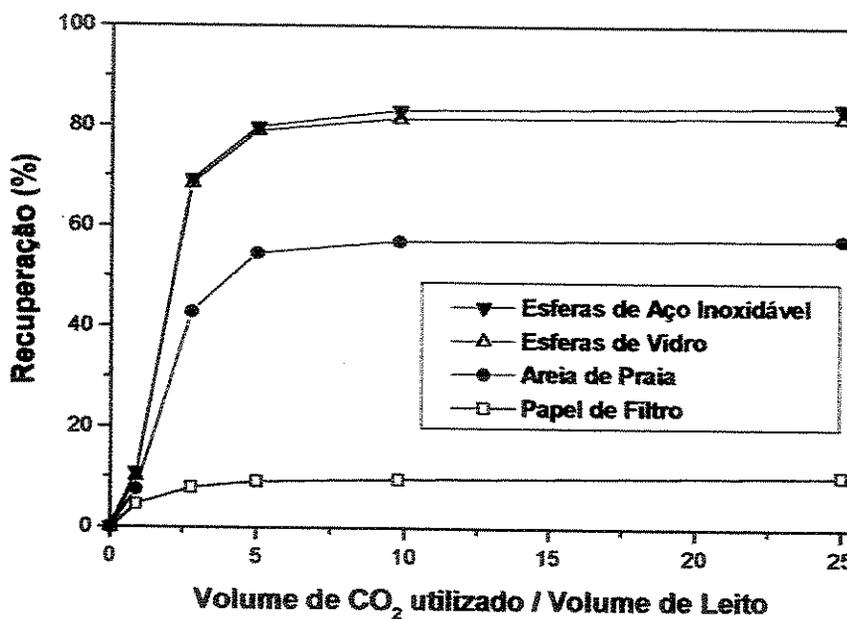


Figura 2.16- Extração da Clevidipina de diferentes matrizes sólidas utilizando CO₂ supercrítico a 28,3 MPa e 40°C.

Através dos dados obtidos foi possível identificar o efeito da matriz no curso da extração da Clevidipina. A interação da molécula do soluto é muito maior com o papel de

filtro quando comparada com os demais meios. É observado que tanto as esferas de vidro como as esferas de aço inoxidável interagem de forma semelhante com a molécula, já a areia de praia possui um efeito intermediário. Através dos resultados obtidos, os autores concluíram que o meio (a matriz sólida) é um importante fator no curso da extração, influenciando diretamente nas taxas de extração.

Sovová *et al.* (1994) realizaram experimentos para a extração de óleo das sementes de uva com dióxido de carbono supercrítico, variando o diâmetro das partículas de sementes, com o intuito de estudar a influência desta variável na extração do óleo. A Figura 2.17 apresenta os resultados obtidos por estes pesquisadores.

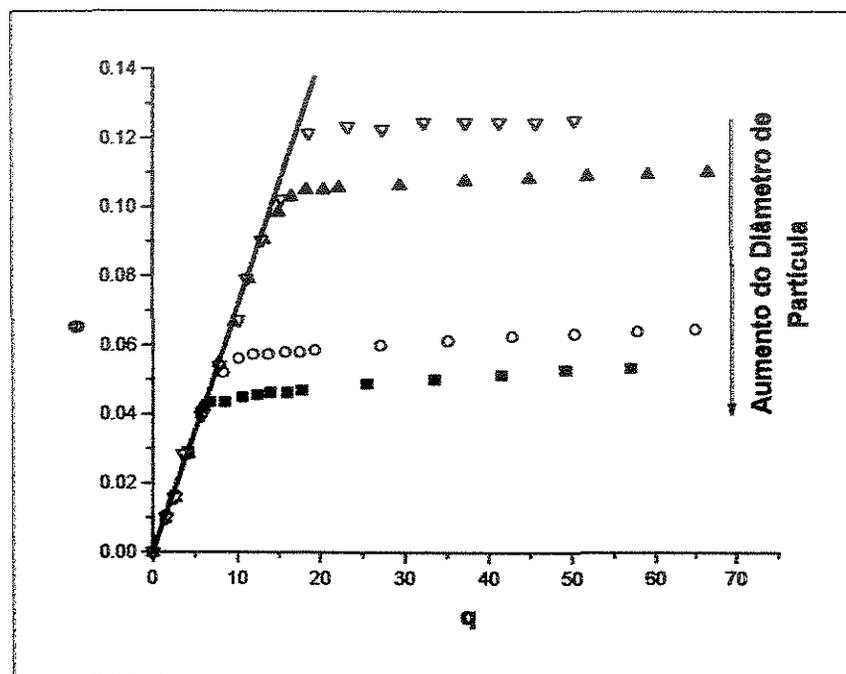


Figura 2.17: Influência do diâmetro de partícula no curso da extração de óleo das sementes de uva com dióxido de carbono supercrítico. e: quantidade de óleo extraído/ quantidade óleo inicial, q: massa de solvente/massa de óleo inicial.

Na Figura 2.17 pode-se observar que a região de solubilidade diminui com o aumento do diâmetro de partícula. Isto é explicado devido ao fato de que com a diminuição do diâmetro, a área de contato matriz (soluto) - FSC aumenta, existindo uma maior quantidade de soluto facilmente acessível ao solvente.

Como já discutido anteriormente, a adição de co-solvente pode aumentar a taxa de extração devido às interações entre a molécula de soluto e de co-solvente, isto pode ser exemplificado pelo trabalho de Björklund *et al.* (1998), com a clevidipina. Os autores estudaram a adição de metanol como co-solvente a fim de melhorar a extração do soluto a partir do papel de filtro. Os resultados obtidos estão apresentados na Figura 2.18.

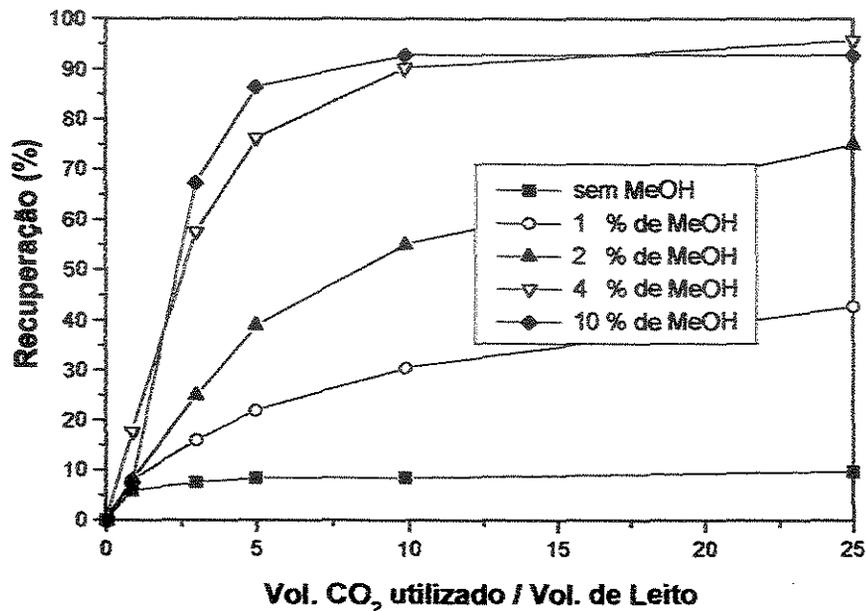


Figura 2.18- Curvas de extração da clevidipina impregnada em papel de filtro utilizando CO₂-SC modificado com diferentes concentrações de metanol, a 28,3 MPa e 40°C.

Segundo os autores, possivelmente as pontes de hidrogênio, formadas entre as moléculas de clevidipina e as moléculas de celulose do papel de filtro, são as responsáveis pela baixa taxa de extração. A adição de metanol, um composto que apresenta a capacidade de formar pontes de hidrogênio, pode competir com a clevidipina pelos sítios ativos da molécula de celulose, resultando em um aumento na taxa de extração. Pode-se verificar que a adição de metanol aumentou bastante a taxa de extração. Entretanto o aumento na concentração de 4 para 10% não surte efeitos significativos em relação à taxa de extração. Duas hipóteses para este caso foram consideradas pelos autores: i) o metanol satura os sítios das moléculas de celulose e dessa forma, a adição de mais metanol passaria apenas a influenciar na densidade do solvente e ii) a partir de determinada concentração, as

moléculas de metanol começam a se auto-associar, e assim não mais competirão com a clevidipina pelos sítios ativos da molécula de celulose.

A vazão utilizada nos processos de extração supercrítica é um fator importante a ser considerado. Björklund *et al.* (1998), estudaram as taxas de extração de dois óleos lubrificantes, misturados com esferas metálicas, em função da vazão. No primeiro sistema (Figura 2.19) os autores observaram que a quantidade de óleo extraído (Drawsol 2345 N) é proporcional à vazão. Desta forma, pôde-se concluir que o fluido supercrítico foi saturado com o óleo em todas as vazões estudadas no experimento. Nas três curvas apresentadas, as quantidades extraídas de óleo por quantidade de solvente utilizado foram semelhantes (a mesma taxa de extração).

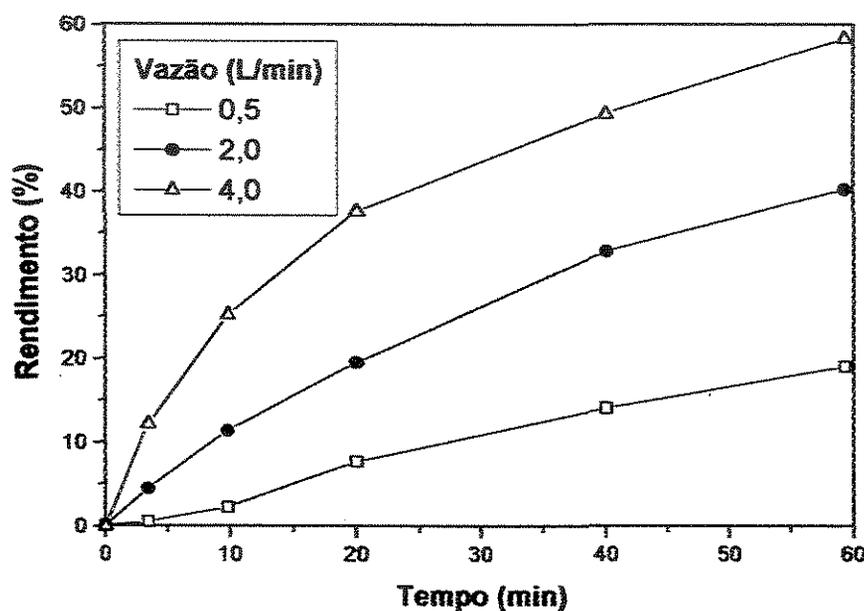


Figura 2.19: Extração do óleo Lubrificante (Drawsol 2345 N) com diferentes vazões.

Para a extração do segundo óleo utilizado, UNIQ DP-101 (Figura 2.20), observou-se um comportamento inverso. As maiores quantidades de material extraído são conseguidas com as menores vazões. Isto significa que a condição de equilíbrio dentro do extrator não foi atingida. A resistência à transferência de massa do óleo para o seio do fluido foi muito maior do que a verificada no experimento inicial (Björklund *et al.*, 1998).

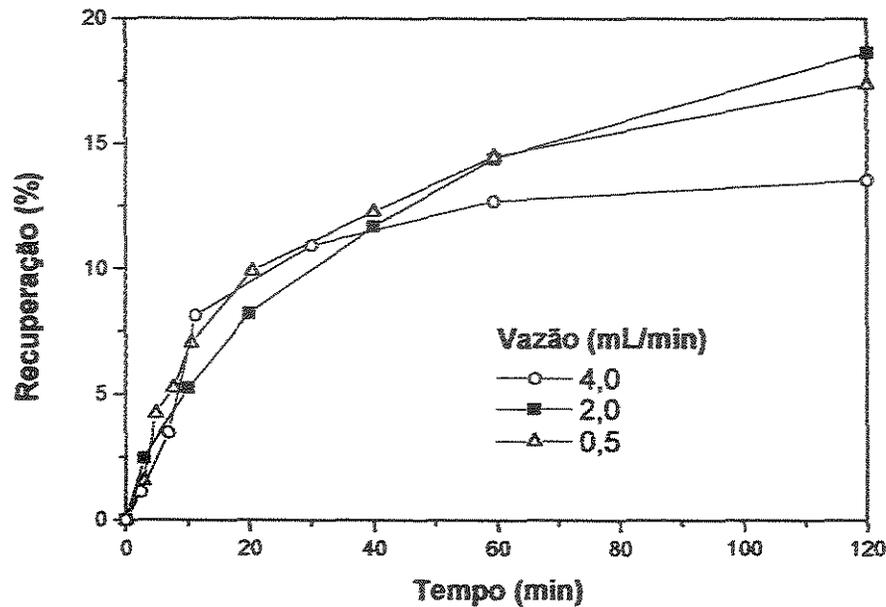


Figura 2.20: Extração do óleo lubrificante (UNIQ DP-101) suportado em esferas metálicas com CO₂ supercrítico a diferentes taxas de extração.

Para a modelagem matemática das curvas de extração, muitos modelos tem sido desenvolvidos na literatura. Um modelo muito eficiente e simples apresentado por Sovová (1994) considera algumas simplificações para o caso de um soluto disperso uniformemente em uma matriz vegetal, com a temperatura e pressão constante ao longo de toda a extração. O fluido possui uma velocidade U . As partículas sólidas são homogêneas com um diâmetro conhecido. A massa de soluto total, O , é composta de uma parte que está nas superfícies das partículas, P_T , facilmente acessível ao soluto, e da parte que se encontra no interior das partículas, K . N representa a massa da matriz livre do soluto.

$$x = O/N = x_p + x_k = P_T / N + K/N \quad (2.5)$$

Onde x é a razão mássica de soluto na matriz sólida, x_p e x_k são respectivamente a razão mássica de soluto acessível e a razão mássica de soluto no interior da matriz. Em suas equações H é a altura de leito, a fração de espaços vazios é ε , a distância axial ao longo do leito é h e $J(x,y)$ é a taxa de transferência de massa do soluto da matriz para o fluido supercrítico, aplicando um balanço de massa tem-se que:

$$-\rho_s(1-\varepsilon)\frac{\partial x}{\partial t} = J(x, y) \quad (2.6)$$

(variação da razão mássica de soluto com o tempo na matriz)

$$\rho\varepsilon\frac{\partial y}{\partial t} + \rho U\frac{\partial y}{\partial h} = J(x, y) \quad (2.7)$$

(variação da razão mássica de soluto com o tempo e posição do leito no fluido)

Onde t é o tempo, e y a razão mássica de soluto no seio do fluido, tem-se que as condições de contorno adotadas para a modelagem são (em $t=0$):

$$x(h, t = 0) = x_0 \quad (2.8)$$

$$y(h = 0, t) = 0 \quad (2.9)$$

Sovová em seu trabalho, determina que a taxa de transferência de massa pode ser dividida em duas partes, a primeira quando ainda existe soluto acessível ($x > x_k$) e depois quando necessariamente existe a difusão do soluto do interior da matriz para o seio do fluido ($x < x_k$):

$$J(x > x_k, y) > J(x \leq x_k, y) \quad (2.10)$$

A autora, analisando seus dados experimentais, concluiu que a taxa de difusão na primeira fase de extração ($x > x_k$) possui uma dependência linear entre a solubilidade de equilíbrio do soluto nas condições de experimento (y_r) e a concentração de soluto na fase fluída. O coeficiente de inclinação desta correlação, $k_f a_0 \rho$, é justamente o inverso da resistência à transferência de massa do soluto para o meio. Onde a_0 é a área superficial de matriz sólida por volume de leito, ρ é a densidade do fluido e k_f é o coeficiente de ajuste. É importante notar que este coeficiente, $k_f a_0 \rho$, determina a inclinação da primeira região da curva de extração (Figura 2.14). Para o segundo período de extração a taxa de extração depende apenas da concentração de sólido na matriz.

$$J(x > x_k, y) = k_f a_0 \rho (y_r - y) \text{ e } J(x \leq x_k, y) = k_s a_0 \rho_s x \quad (2.11)$$

Substituindo-se todas equações, tem-se um sistema que pode ser resolvido por um método numérico qualquer e os coeficientes k_E , k_s e x_k podem então ser obtidos de dados experimentais.

Primeiro período de extração (soluto na acessível na matriz):

$$\frac{dX_h}{dt} = -\frac{k_f a_0 \rho}{\rho_s (1-\varepsilon)} (Y_r - Y_h) \quad (2.12)$$

$$\frac{dY_h}{dt} = -\left[\frac{k_f a_0}{\varepsilon} + \frac{U}{\varepsilon \Delta_h} \right] Y_r + \frac{k_f a_0 Y_r}{\varepsilon} + \frac{U Y_{h-1}}{\varepsilon \Delta_h} \quad (2.13)$$

Segundo período (soluto inacessível na matriz):

$$\frac{dX_h}{dt} = -\frac{k_s a_0 X_h}{(1-\varepsilon)} \left(1 - \frac{Y_h}{Y_r} \right) \quad (2.14)$$

$$\frac{dY_h}{dt} = -Y_h + \frac{k_s a_0 \rho_s}{\rho \varepsilon} \left(1 - \frac{Y_h}{Y_r} \right) - \frac{U Y_h}{\varepsilon \Delta_h} - \frac{Y_{h-1}}{\varepsilon \Delta_h} \quad (2.15)$$

Esta modelagem foi utilizada por Saldaña et al, (2001) e por Kopcak *et al.* (2001) para a modelagem da extração de óleo das sementes de cacau e de cupuaçu respectivamente utilizando etano supercrítico, obtendo-se bons resultados. A Figura 2.21 demonstra os resultados e a modelagem obtidos por Saldaña et al, (2001).

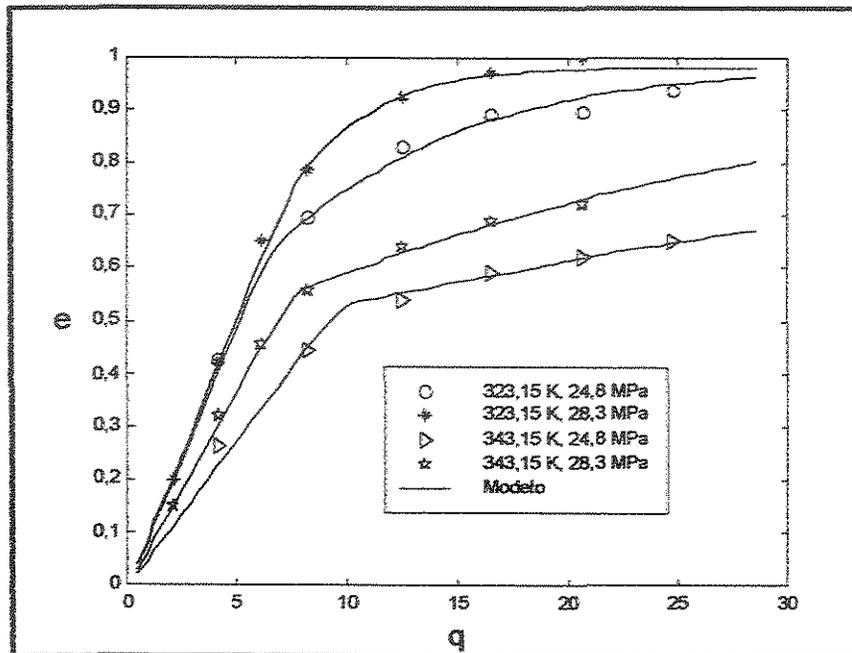


Figura 2.21- Comportamento retrógrado de isoterma a 323,2 K e 343,2 K e pressões de 15,2, 24,8, e 28,3 MPa. e: quantidade de óleo extraído/ quantidade óleo inicial, q: massa de solvente/massa de óleo inicial.

O modelo proposto por Helena Sovová (1994), assim como muitos outros, considera o extrato (formado por uma série de compostos quando se trabalha com matrizes vegetais) como um pseudocomponente. Este tipo de abordagem funciona bem com sistemas nos quais o componente principal se encontra em alta concentração (40-60% em massa) como é o caso dos óleos vegetais. Para sistemas multicomponentes, onde a influência de diferentes solutos presentes nas matrizes vegetais deve ser levada em conta (extração de sólidos), alguns modelos baseados no encolhimento do núcleo (retração da frente de extração) e modelos baseados em sistemas de dessorção-dissolução-difusão têm sido propostos na literatura.

Tezel *et al.* (2000) propuseram uma abordagem baseada no modelo dessorção-dissolução-difusão, denominado modelo de encolhimento de núcleo ou avanço da frente de extração. Nessa proposta as mesmas considerações para o caso de um único componente são realizadas. Os solutos encontram-se parcialmente livres e parcialmente absorvidos nas paredes das matrizes. Entretanto, neste caso a dessorção e dissolução de um soluto não podem ser consideradas independentes dos outros solutos. O modelo proposto de encolhimento do núcleo foi avaliado na extração do óleo de sementes de tomate com

dióxido de carbono supercrítico. Os autores verificaram bons resultados na predição da separação seletiva dos compostos (Figura 2.22).

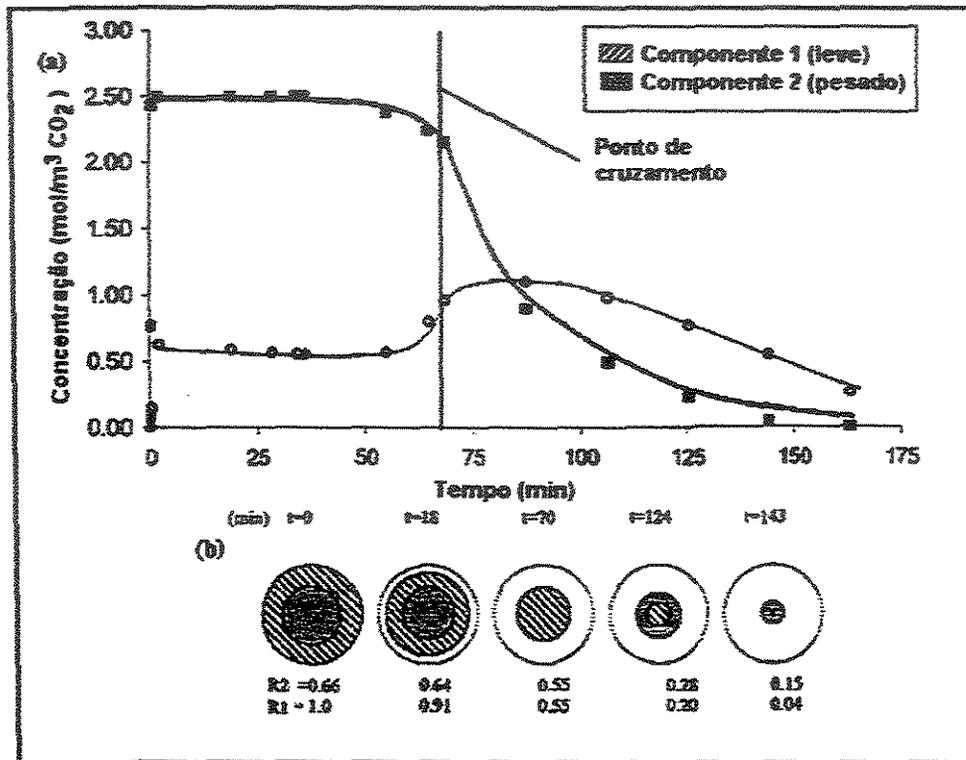


Figura 2.22- Extração seletiva de componentes das sementes de tomate em função do tempo de extração.

Na Figura 2.22 é possível observar que o componente mais leve é extraído preferencialmente, tendo uma queda abrupta após 70 min de extração, quando a concentração do componente pesado aumenta nos extratos de saídas.

Outro modelo, dessorção-dissolução-difusão, utiliza equações do tipo Langmuir para os modelos de adsorção e dessorção. É verificado em muitos sistemas que, quando a interação entre a matriz sólida e o soluto é forte, há um atraso no início da extração ou no tempo necessário para haver a dessorção do soluto. Este modelo assume que existe uma dependência entre a taxa de extração de um soluto e a composição das outras espécies presentes e que os solutos encontram-se distribuídos através dos poros da matriz sólida, parte como soluto livre e parte adsorvido nas paredes. Em algumas abordagens, a fração adsorvida é considerada contida no interior de estruturas celulares. Tezel *et al.*, 2000, testou

este modelo para a extração de óleo da casca de cítricos (Figura 2.23). Foi verificado que a difusão é a etapa limitante no processo de separação.

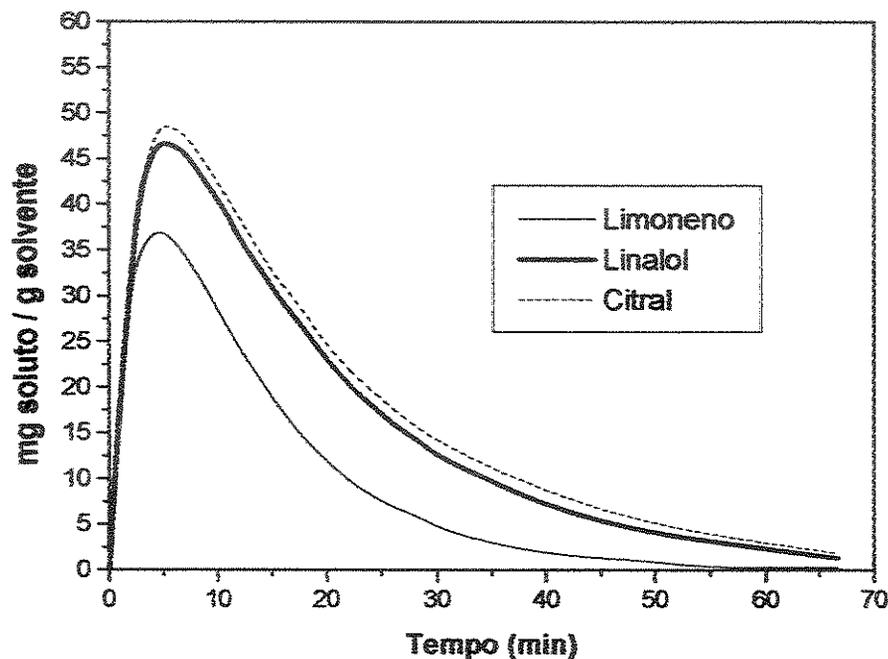


Figura 2.23- Representação da simulação do modelo DDD para óleo de casca de cítrico.

É possível observar na Figura 2.23 que para os três componentes existe um tempo necessário para que haja a dessorção dos componentes presentes da matriz vegetal, logo após este tempo, as taxas de extração atingem valores máximo, diminuindo com o esgotamento do leito.

Os modelos cinéticos são ferramentas importantes para a descrição dos processos de extração. Bons modelos e domínio dos fatores que influenciam a cinética de extração de óleos, podem ser encontrados no trabalho de muitos autores, porém um modelo satisfatório para a extração de substâncias em baixas concentrações em sistemas multicomponentes, principalmente no caso de sólidos, não foi encontrado na literatura. As características destes sistemas, onde as taxas de extrações dependem das seletividades e interações entre os componentes, precisam ser melhor estudadas, para o desenvolvimento de modelos cinéticos satisfatórios.

Capítulo 3

OBJETIVOS

3.1. Objetivo Geral

Este trabalho de pesquisa tem como objetivo geral, os desenvolvimentos experimental e teórico da:

Extração de cafeína das sementes da planta do guaraná com solventes supercríticos modificados pela adição de co-solventes

Este tema foi proposto pois, o estudo da utilização do guaraná como fonte de obtenção de cafeína, poderá contribuir para aumentar o interesse nesta cultura e, conseqüentemente, vir a ser de grande importância para o desenvolvimento das regiões produtoras. A utilização de fluidos supercríticos, uma tecnologia limpa, para o processo de descafeinação do guaraná vem ao encontro do objetivo de incentivar o desenvolvimento de novas tecnologias livres de contaminantes, sem custos ambientais, permitindo um desenvolvimento sustentável, que não agrida os ecossistemas e o meio ambiente em que está inserido.

3.2. Objetivos Específicos

Os objetivos específicos são:

- Determinar a capacidade da mistura de CO₂-SC e co-solventes como isopropanol e o etanol para solubilizar a cafeína pura.
- Identificar as variáveis termodinâmicas que influenciam e controlam a solubilidade da cafeína nestes sistemas de uma maneira que permita determinar as condições ótimas de extração e separação utilizando CO₂-SC e co-solventes.
- Verificar o potencial da utilização de CO₂-SC e co-solventes para a extração de cafeína a partir das sementes da planta do guaraná.

Capítulo 4

MATERIAIS E MÉTODOS

Neste capítulo estão descritos os materiais e os métodos experimentais utilizados na realização deste trabalho.

4.1. Materiais

Para o desenvolvimento deste projeto de pesquisa foram adquiridas sementes de guaraná torradas com casquilha doadas pela Empresa Brasileira de Pesquisas Agrícolas - EMBRAPA. Para controlar a variabilidade desta matéria-prima, um único lote foi adquirido, conservado adequadamente (mantido em local seco), e utilizado em todos os experimentos. Os fluidos supercríticos, dióxido de carbono super seco, com 99,9% de pureza e mistura de padrões primários com 95% de dióxido de carbono e 5% em massa de etanol anidro; com 95% de dióxido de carbono e 5% em massa de isopropanol anidro e com 90% de dióxido de carbono e 10% em massa de etanol anidro foram adquiridos da White Martins Gases Industriais SA, na fase líquida, em garrafas com tubo pescador. Etanol anidro da marca Synth, com 99,99% de pureza na fase líquida e cafeína (reagente analítico) com 99,9% de pureza, foram obtidos no mercado no mercado nacional.

A quantidade de cafeína total presente nas amostras de guaraná foi determinada por Saldaña (2002) através de análise por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE), dos extratos obtidos por Método de Extração Sólido-Líquido utilizando um conjunto Soxhlet. A fração mássica obtida foi 0,0482 (em base seca).

4.2. Sistema de Extração Supercrítica

O equipamento a ser utilizado nos experimentos foi projetado pelo grupo de pesquisa de extração supercrítica da FEQ/UNICAMP e construído pela Autoclave Engineers, Inc. no Erie, PA, USA. O aparelho é o mesmo utilizado por Neves (1996), Socantaype (1996), Saldaña (1997) e Azevedo (2001). O sistema de extração supercrítica é um equipamento versátil, que permite um controle independente das variáveis como temperatura, pressão e fluxo. Os indicadores e controladores estão situados em um painel de controle. Este aparelho (Figura 4.1) possui quatro linhas paralelas que permitem a alimentação de solventes e co-solventes. Cada linha possui um trocador de calor de tipo casco e tubos antes da sucção de cada uma das quatro bombas. Para introdução do solvente existem duas bombas de deslocamento positivo que operam em paralelo com fluxo entre 46 e 460 mL/h, e uma pressão de até 41 MPa. A extração é realizada com dois vaso-extratores: um simples e o outro com agitação, ambos de aço inoxidável 316SS com capacidade de 300 ml, projetados para resistirem a pressões de até 37,2 MPa na temperatura de 616 K. Em torno dos vasos extratores, externamente, existem cintas de aquecimento ligadas a um controlador de temperatura. O extrator com agitação possui um agitador do tipo MagneDrive II com sistema de refrigeração e uma janela que permite observar as duas fases em equilíbrio. A tubulação que une o módulo de entrada com os extratores possui válvulas de isolamento, permitindo a operação de cada extrator separadamente ou em série, e válvulas de segurança com discos de ruptura para proteger os extratores. O fluido proveniente dos extratores passa por uma válvula micrométrica, usada para regular a vazão do solvente e reduzir a pressão até aproximadamente a pressão atmosférica, ocorrendo a condensação/precipitação do material extraído no separador. Uma fita de aquecimento em volta da válvula micrométrica e da tubulação evita a possibilidade de congelamento do CO₂ e obstrução, causada pela redução da temperatura em consequência da despressurização. A vazão do solvente é medida em litros por minuto por um totalizador de vazão FC70A *flow computer linealizer* e um CA03 *signal conditioner*, construídos pela EG&G. Instruments (Phoenix, Arizona, USA.)

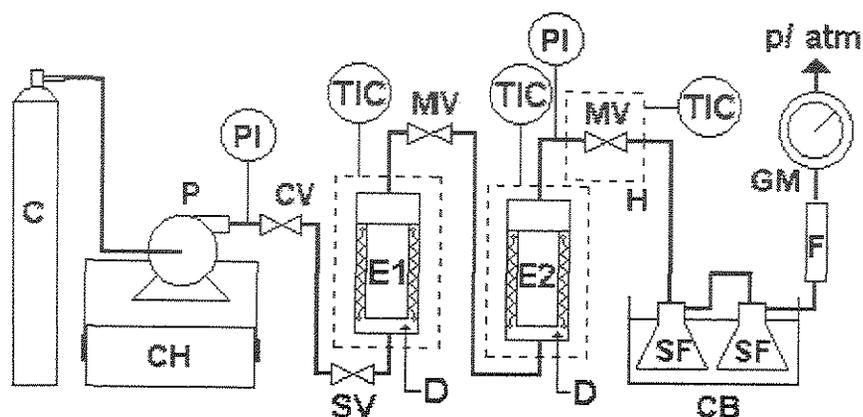


Figura 4.1- Aparelhagem Experimental: C- cilindro, CB- banho de gelo, CH- Chiller, CV- Válvula, D- Camisa de Aquecimento, E1 and E2- Extratores, F- Filtro, GM- Totalizador de Fluxo, H- Fita de Aquecimento, MV- Válvula Micrométrica, P- Bomba, PI- Indicador de Pressão, SF- Vaso Separador (com álcool), SV- Válvula de Alimentação do Extrator, TIC- Controlador e Indicador de Temperatura.

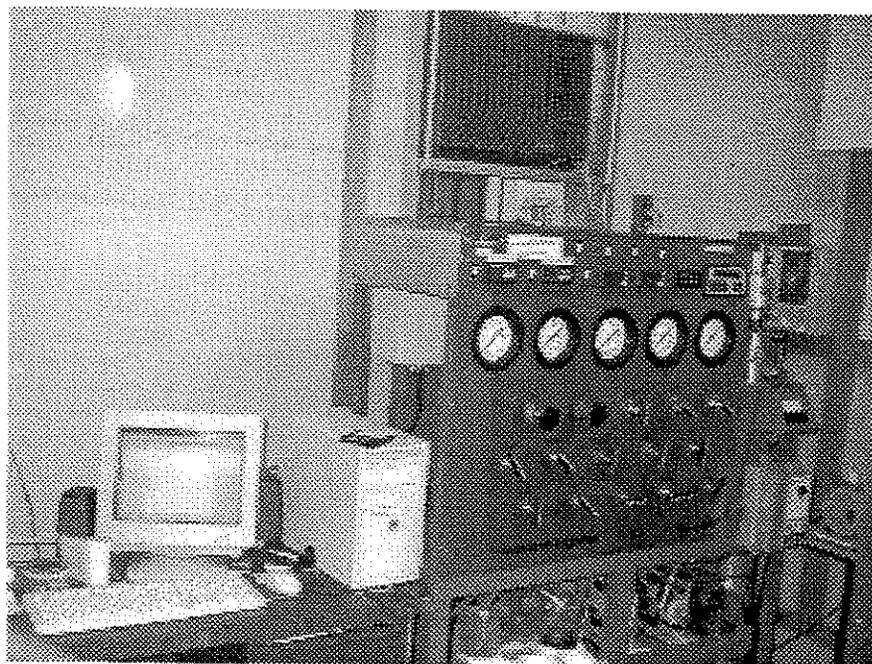


Figura 4.2- Aparelho Experimental

4.3. Métodos Experimentais

4.3.1 Experimentos de Solubilidade da Cafeína em Fluidos Supercríticos

O aparelho de extração supercrítica (Figura 4.1) permite realizar diferentes experimentos, operando com os extratores isolados, em série ou em paralelo, mudando a direção do fluxo através das válvulas situadas no painel. Os experimentos de solubilidade, através do método dinâmico, foram realizados utilizando apenas o extrator simples. Nestes experimentos 35g de cafeína anidra pura foram misturados com 150 g de esferas de vidro (5mm de diâmetro) e colocados no extrator. A mistura CO₂/etanol na fase líquida foi transferida do cilindro para o sistema de extração supercrítica através de um tubo sifonado. A mistura sempre é resfriada (a -1°C) na cabeça da bomba para prevenir sua vaporização. Uma vez resfriada e na fase líquida, a mistura foi bombeada e introduzida, lentamente, no vaso-extrator, entrando em contato com o alcalóide. O fluido foi aquecido de acordo com as condições experimentais. Quando a pressão de extração foi alcançada, a válvula micrométrica na saída do sistema de extração foi lentamente aberta (até atingir a vazão de experimento, 0,800 L/min). Ao passar através desta válvula, ocorreu a expansão do fluido até as C.N.T.P., o que acarretou a diminuição de solubilidade da cafeína que então precipitou e foi coletada em três kitassatos em série, mantidos em banho de gelo. O CO₂ gasoso (o álcool etílico da mistura também é recolhido nos três kitassatos) continua fluindo até o medidor de vazão, onde foi totalizado o fluxo em cada experimento (em cada experimento foram utilizados 50 L de CO₂ na CNTP). Após a extração, foi efetuada a lavagem da tubulação e da válvula micrométrica, para garantir a recuperação do alcalóide precipitado, utilizando-se álcool na temperatura de ebulição. Toda cafeína retirada do sistema em cada experimento (kitassatos e tubulação) foi solubilizada em 250 mL de álcool anidro (nas C.N.T.P) e posteriormente foi analisada por espectrofotometria de UV. Todos os experimentos de solubilidade foram realizados em triplicata.

4.3.2 Experimentos de Extração da Cafeína a partir das Sementes de Guaraná com Fluidos Supercríticos

Nos experimentos de extração de cafeína a partir de sementes de guaraná foram utilizados 12 g de sementes torradas e moídas (utilizando em moinho manual de discos para café), secas em estufa a 60° C por 12 horas. A granulometria das partículas foi determinada através de peneiramento, por meio de um agitador de peneiras PRODUTEST, com *mesh* variando entre 75 e 840 microns. Foi utilizado o extrator simples do equipamento de extração (Figura 4.1). As sementes moídas foram misturadas com pérolas de vidro e colocadas em um invólucro de tela (*mesh* 50 μm). Este invólucro foi colocado no extrator.

Os ensaios, para a determinação do efeito do diâmetro de partícula no curso da extração, foram efetuados em uma pressão de 23,4 MPa e temperatura de 50°C utilizando mistura supercrítica de dióxido de carbono e 5% (em massa) de etanol como co-solvente. Após serem atingidas as condições de ensaio, as extrações foram realizadas com uma vazão de 0,8 Lmin^{-1} de CO_2 nas C.N.T.P (após a despressurização). Para uma mesma amostra, 14 frações foram obtidas, cada fração foi retirada após terem sido bombeados 40 litros de CO_2 (nas C.N.T.P), perfazendo um total de 560 litros por amostra. O material extraído em cada fração foi diluído em etanol anidro e analisado através de espectroscopia de UV.

As extrações obtidas em função da pressão, da temperatura e do co-solvente utilizado, foram realizadas em três pressões e três temperaturas utilizando-se misturas contendo dióxido de carbono supercrítico e 5% de etanol (em peso) como co-solvente, dióxido de carbono supercrítico e 10% de etanol (em peso) como co-solvente e também, dióxido de carbono supercrítico e 5% de isopropanol (em peso) como co-solvente. Em cada extração, 10 frações de material extraído foram retiradas, em cada fração, 40 litros de CO_2 (nas C.N.T.P) foram utilizados. Estes ensaios foram realizados como uma vazão volumétrica de 0,800 Lmin^{-1} de CO_2 (nas C.N.T.P). O diâmetro de partícula médio utilizado foi de 180 μm . Na Tabela 4.1 estão apresentadas as condições experimentais para cada extração em função da temperatura, pressão e tipo de co-solvente adicionado ao dióxido de carbono supercrítico.

Tabela 4.1: Condições experimentais para as extrações realizadas em função da pressão, temperatura e tipo de co-solvente.

Extração	Temperatura (°C)	Pressão (MPa)	Co-Solvente
1	50	17,9	Isopropanol 5% (em peso)
2	60		
3	70		
4	50	23,4	
5	60		
6	70		
7	50	30,0	
8	60		
9	70		
10	50	17,9	Etanol 5% (em peso)
11	60		
12	70		
13	50	23,4	
14	60		
15	70		
16	50	30,0	
17	60		
18	70		
19	50	17,9	Etanol 10% (em peso)
20	60		
21	70		
22	50	23,4	
23	60		
24	70		
25	50	30,0	
26	60		
27	70		

4.3.3 Análise do Teor de Cafeína Solubilizada

Nos ensaio de solubilidade de cafeína pura em FSCs, todo o soluto retirado do extrator foi dissolvido em 250 mL de etanol anidro utilizando-se um balão volumétrico. Uma alíquota de 1 mL foi retirada e diluída em 100 mL de etanol anidro. Nos ensaios de extração de cafeína a partir das sementes torradas e moídas de guaraná, o material extraído em cada fração (em um total de 10 frações), foi diluído em 250 mL de etanol anidro. Para as 4 primeiras frações (com maiores concentrações) uma alíquota de 5 mL foi retirada e diluída em etanol anidro em um balão volumétrico de 50 mL. Estas soluções foram então analisadas em um espectrofotômetro de UV HP 84453. As diluições utilizadas foram

definidas em testes preliminares para que os máximos de absorvância estivessem em torno de 1,5, respeitando a faixa em que a concentração é diretamente proporcional a absorvância (Lei de Beer). A quantidade de cafeína foi determinada comparando-se os resultados com uma curva de calibração previamente estabelecida que relaciona absorvância, a 270 nm, de cafeína pura em álcool com a concentração do alcalóide. A Figura 4.3 apresenta os espectros de absorvância para os padrões de cafeína. A Tabela 4.2 apresenta os valores de absorvância encontrados.

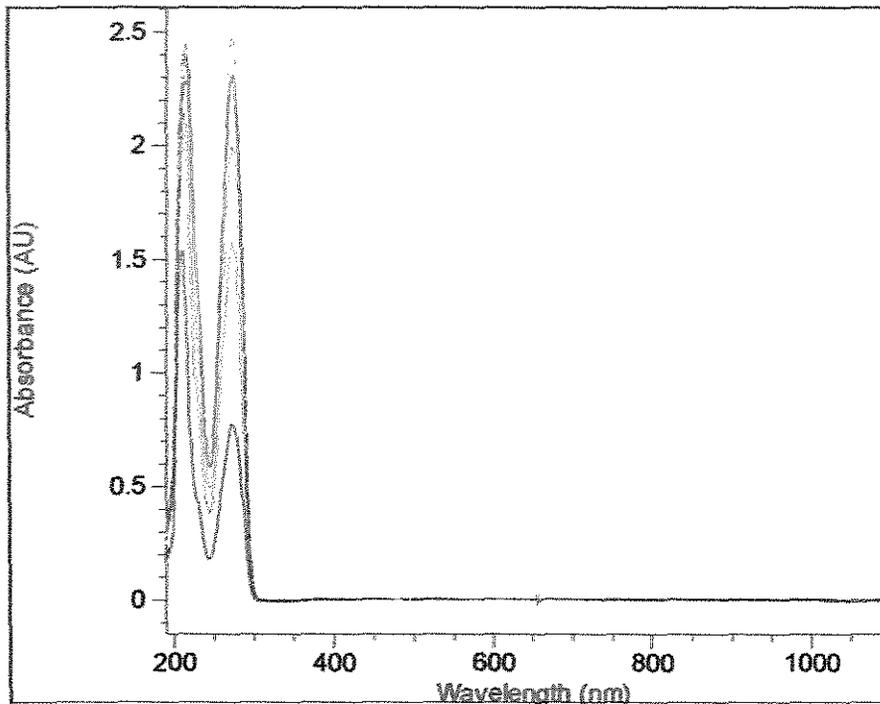


Figura 4.3- Picos de absorvância de cafeína em etanol.

Tabela 4.2: Valores de absorvância de cafeína em etanol, 270 nm.

Padrão	Cafeína (g/ml solução) $\times 10^5$	Abs <270nm>	Erro (%)
1	1,7377	0,75357	0,05
2	3,4828	1,53550	-1,59
3	5,2528	2,26600	0,58
4	2,8471	1,25830	-1,82
5	4,4258	1,94730	-1,38
6	5,7048	2,43900	1,49

Na Figura 4.4 está mostrada a curva de calibração obtida e na Tabela 4.3 os valores dos parâmetros obtidos.

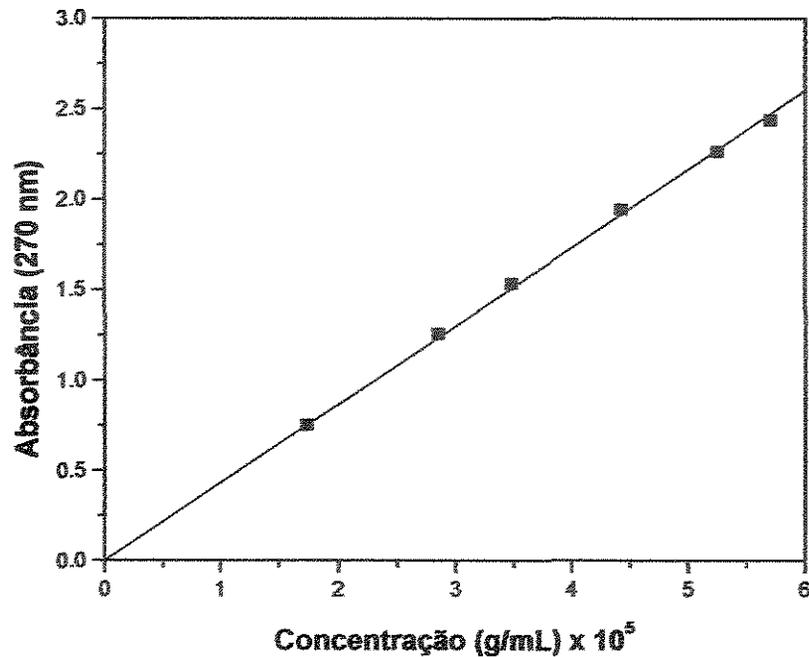


Figura 4.4- Curva de calibração, padrões de cafeína em etanol

Tabela 4.3: Coeficientes da curva de calibração

Soluto	Cafeína
Número de padrões	6
Curva de calibração	$C \text{ [g/mL]} = k_1 \times \text{Abs}$
Coeficiente k_1	$2,3047 \times 10^{-5}$
Desvio padrão de k_1	$1,3524 \times 10^{-7}$
Desvio padrão da calibração	$5,9541 \times 10^{-7}$
Coeficiente de correlação (R^2)	0,99983

Através da curva de calibração, as análises dos experimentos de solubilidade e de extração de cafeína foram feitas, respeitando-se as diluições das amostras.

4.3.4 Análise do Teor Total de Fenóis

Para a análise do teor total de fenóis, extraído a partir de sementes torradas e moídas de guaraná, foi utilizado o procedimento de determinação colorimétrica adotado por Swain e Hillis (1959). Dos extratos obtidos em cada ensaio, alíquotas de 5 mL de cada fração (diluídas previamente para 250 mL) foram retiradas e colocadas em tubos de ensaios e, então, secas em estufa a 90°C por 12 h. Aos tubos de ensaio, contendo o material seco, foram adicionados 3,5 mL de água destilada. O material foi solubilizado com o auxílio de um equipamento de ultrassom Thornton, por 15 minutos. Em seguida, 250 µL de reagente de Folin-Ciocaltean foram adicionados e misturou-se as soluções com auxílio de um Vortex Quimis. Após três minutos, 0,5 mL de solução saturada de carbonato de sódio anidro (17,5 g/ 50 mL de água), foi adicionado, agitando-se em seguida. Após uma hora, estas soluções foram analisadas em um espectrofotômetro UV-Visível Pharmacia. A quantidade total de fenóis, extraída em cada fração, foi determinada comparando-se os resultados com uma curva de calibração previamente estabelecida que relaciona absorbância, a 725 nm, de padrões de ácido fênico submetidos ao mesmo procedimento mencionado acima. Os resultados obtidos são relativos às massas de fenol utilizadas para a obtenção da curva de calibração, conforme procedimento adotado Swain e Hillis (1959). A Figura 4.5 apresenta os espectros de absorbância para os padrões de fenol. A Tabela 4.4 apresenta os valores de absorbância encontrados.

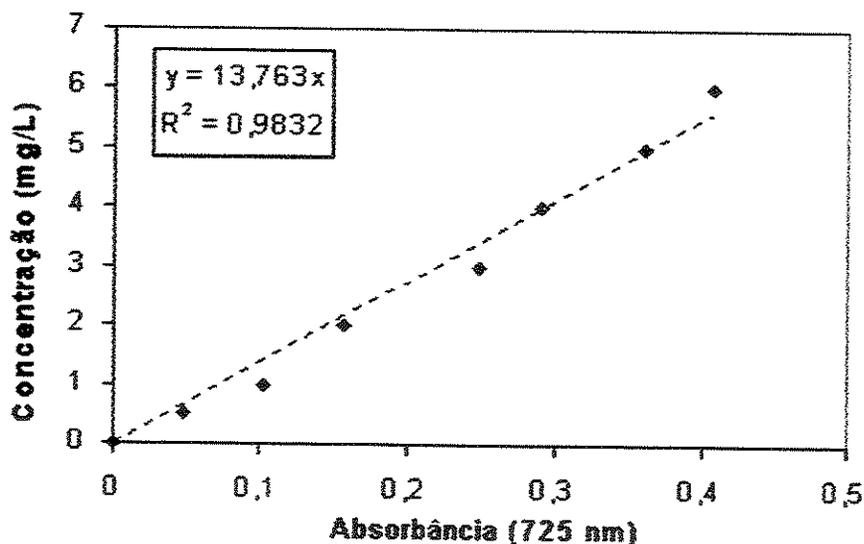


Figura 4.5- Curva de calibração, padrões de fenol em água

Tabela 4.4: Valores de absorvância encontrados para os padrões de fenol, 725 nm.

Padrão	Fenol (mg/L solução)	Abs <725nm>
1	0,5049	0,048
2	1,0098	0,103
3	2,0196	0,158
4	3,0294	0,248
5	4,0392	0,290
6	5,0490	0,360
7	6,0588	0,407

Através da curva de calibração, as análises da quantidade de fenóis totais em cada fração das curvas de extração foram feitas, respeitando-se as diluições das amostras.

Capítulo 5

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste capítulo são descritos os resultados experimentais obtidos neste trabalho. Inicialmente estão apresentados os resultados da solubilidade de cafeína pura em misturas supercríticas contendo dióxido de carbono e co-solventes, em seguida estão apresentadas, as curvas de extração de cafeína a partir de sementes de guaraná torradas e moídas em função do diâmetro de partícula, pressão, temperatura e co-solvente utilizado. Complementando este trabalho experimental, as curvas de extração de fenóis totais obtidas a partir de sementes de guaraná torradas e moídas em função da pressão, temperatura e co-solvente utilizado também estão apresentadas.

5.1. Solubilidade de cafeína em misturas supercríticas.

Os resultados experimentais, realizados conforme os procedimentos descritos no Capítulo 4, para os experimentos de solubilidade de cafeína pura em misturas contendo dióxido de carbono supercrítico com 5 e 10% (em peso) de etanol anidro e dióxido de carbono supercrítico contendo 5% de isopropanol (em peso) estão apresentados nas Tabela 5.1, Tabela 5.2 e Tabela 5.3 respectivamente.

Tabela 5.1: Solubilidade de cafeína em misturas de CO₂-SC e etanol (5% em massa).

Temperatura (K)	Pressão (MPa)	Fração Mássica x 10 ³	Fração Molar x 10 ³
313	15,2	2,46	0,56
	17,9	5,35	1,22
	20,7	6,62	1,51
	23,4	7,53	1,72
323	15,2	1,89	0,43
	17,9	3,78	0,86
	20,7	5,66	1,29
	23,4	7,44	1,70
343	15,2	2,42	0,33
	17,9	4,30	0,68
	20,7	4,43	1,01
	23,4	7,09	1,62

Tabela 5.2: Solubilidade de cafeína em misturas de CO₂-SC e etanol (10% em massa).

Temperatura(K)	Pressão (MPa)	Fração Mássica x 10 ³	Fração Molar x 10 ³
323	15,2	8,74	2,0
	17,9	9,62	2,2
	20,7	12,6	2,9
	23,4	12,7	2,9
	26,2	17,2	4,0
	30,0	19,4	4,4
343	15,2	5,64	1,3
	17,9	8,86	2,0
	20,7	11,5	2,6
	23,4	12,3	2,8
	26,2	15,0	3,4
	30,0	24,2	5,5

Tabela 5.3: Solubilidade de cafeína em misturas de CO₂-SC e isopropanol (5% em massa).

Temperatura(K)	Pressão (MPa)	Fração Mássica x 10 ³	Fração Molar x 10 ³
323	15,2	1,35	0,31
	17,9	2,31	0,53
	20,7	3,57	0,82
	23,4	5,15	1,19
	26,2	5,52	1,27
	30,0	6,22	1,44
343	15,2	0,86	0,20
	17,9	2,24	0,52
	20,7	3,48	0,80
	23,4	5,05	1,17
	26,2	6,41	1,48
	30,0	6,60	1,52

Os resultados descritos na Tabela 5.1 possuem desvios médios padrão da ordem de 9% entre os ensaios para uma mesma pressão e temperatura (triplicatas). Os desvios médios padrão variaram entre 6 e 20% entre as triplicatas dos ensaios com a mistura de CO₂-SC e 10% em massa de etanol (Tabela 5.2). Nos experimentos com 5% em massa de isopropanol como co-solvente, os desvios médios padrão variaram entre 0,5 e 6% (Tabela 5.3).

Os resultados obtidos estão apresentados na forma gráfica na Figura 5.1 (misturas contendo 5% de etanol) e na Figura 5.2. (misturas contendo 10% de etanol e misturas contendo 5% de isopropanol). Na Figura 5.1 também estão apresentados, para efeito de comparação, os resultados obtidos por Saldaña *et al.* (1997) para a solubilidade de cafeína

em dióxido de carbono puro, determinados através do mesmo método analítico utilizado neste trabalho e com o mesmo aparelho experimental.

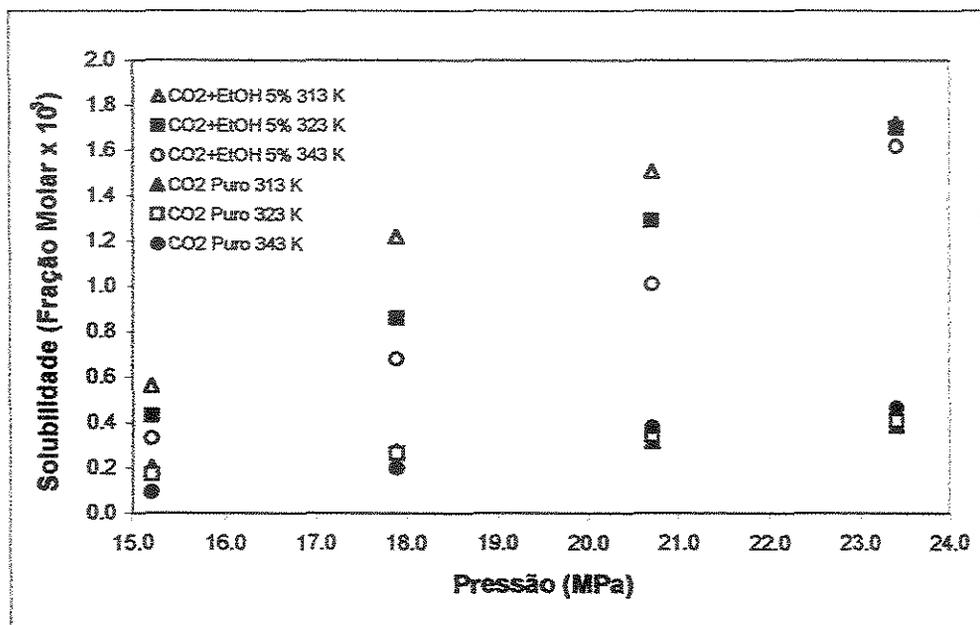


Figura 5.1- Isotermas de solubilidade da cafeína em dióxido de carbono supercrítico puro (Saldaña *et al.*, 1997) e em misturas supercríticas contendo dióxido de carbono e 5% de etanol como co-solvente em função da pressão.

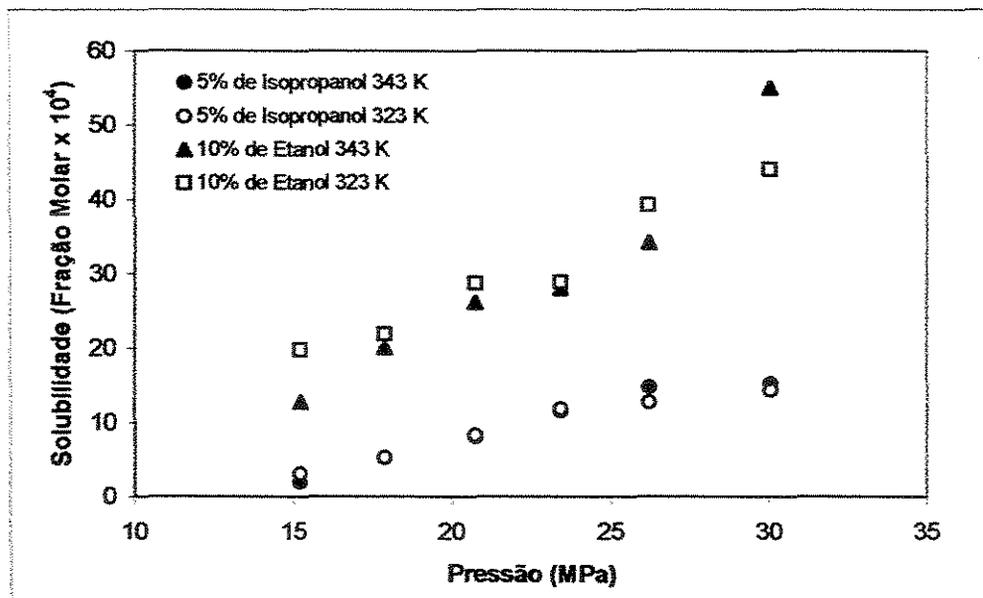


Figura 5.2- Isotermas de solubilidade da cafeína em dióxido de carbono supercrítico e co-solventes em função da pressão.

Nas Figuras 5.1 e 5.2 pode ser observado que a adição de co-solvente, ao dióxido de carbono supercrítico, interfere positivamente na solubilidade da cafeína. Nos resultados apresentados é verificada a ocorrência do comportamento retrógrado tanto para os sistemas contendo co-solventes como também para os dados de solubilidade de cafeína em dióxido de carbono puro. A adição do co-solvente desloca o ponto crítico de mistura, aumentando as temperaturas e pressões críticas das misturas (Gurdial *et al.*, 1991 a; Ting *et al.*, 1993 a). Este efeito reflete diretamente no aumento da pressão de cruzamento superior para as curvas de solubilidade como apresentado por Gurdial *et al.* (1991a e b).

Nos dados publicados por Saldaña (1997), a pressão de cruzamento superior para sistemas cafeína-CO₂ foi determinada como sendo 19,6 MPa (Figura 5.1). Ao se analisar os dados para a solubilidade de cafeína em misturas contendo CO₂ com 5% de etanol, a pressão de cruzamento superior é em torno de 23,0 MPa. Para as misturas contendo 10% de etanol e 5% de isopropanol foi possível estimar graficamente as pressões de cruzamento. A Figura 5.3 apresenta regressões lineares para as isotermas obtidas com estas misturas, com a finalidade de estimar as pressões de cruzamento dos sistemas estudados.

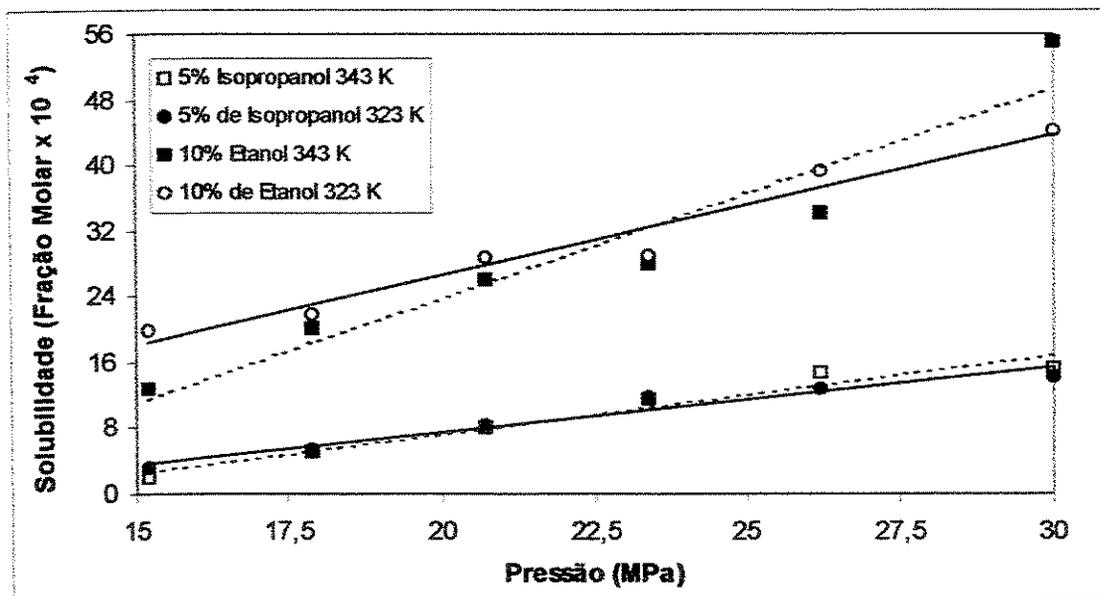


Figura 5.3- Isotermas de solubilidade da cafeína em dióxido de carbono supercrítico e co-solventes em função da pressão. Regressões lineares para as isotermas obtidas.

Os coeficientes para as regressões apresentadas na Figura 5.3 encontram-se na Tabela 5.4.

Tabela 5.4: Coeficientes das regressões lineares para os sistemas estudados.

Sistema (Co-Solvente)	Temperatura (K)	Coef. Angular	Coef. Linear	R ²
Isopropanol 5%	323	1,7123	-7,5976	0,9540
	343	2,5571	-27,446	0,9185
Etanol 10%	323	0,7991	-8,4923	0,9527
	343	0,9587	-11,847	0,9519

A Tabela 5.5 apresenta as pressões de cruzamento para os sistemas estudados, bem como as temperaturas e pressão críticas. Os resultados apresentados na Tabela 5.5 indicam que, para os sistemas estudados, a pressão de cruzamento superior apresenta um aumento significativo com a adição de co-solvente. Através dos dados das propriedades críticas, pode-se observar que existe um aumento da temperatura e pressão críticas dos sistemas quando se adiciona o co-solvente.

Tabela 5.5: Pressões de cruzamento superior para isotermas de solubilidade de cafeína em dióxido de carbono puro e com o uso de co-solventes e pressões e temperaturas críticas dos solventes e misturas estudados.

Sistema	Pressão Crítica (MPa)	Temperatura Crítica (K)	Pressão de Cruzamento Superior (MPa)
CO ₂ Puro	7,4 ^(a)	304 ^(a)	19,4 ^(b)
Etanol Puro	6,1 ^(c)	514 ^(c)	-----
Isopropanol Puro	4,8 ^(c)	508 ^(d)	-----
Com 5% de Etanol	8,6 ^(d)	316 ^(c)	23 ^(e)
Com 10% de Etanol	10,5 ^(d)	326 ^(c)	23,5 ^(f)
Com 5% de isopropanol	-----	316 ^(c)	21,0 ^(f)

Fonte: ^(a) Rizvi *et al.*, 1986; ^(b) Saldaña *et al.*, 1997; ^(c) Ting *et al.*, 1993; ^(d) Predição através de equações cúbicas, Saldaña, 1997; ^(e) Estimado através dos dados apresentados na Figura 5.1; ^(f) Estimado através de regressão linear dos dados apresentados na Figura 5.3.

O efeito do aumento da região retrógrada, para a solubilidade de alcalóides com o aumento da quantidade de etanol como co-solvente ao CO₂-SC, foi estudado por Schaeffer

et al. (1988). Os resultados de solubilidade da monocrotalina, um alcalóide pirrolizidínico, apresentados por estes autores demonstraram que utilizando CO₂-SC puro, com 5% e com 10% (fração molar) de etanol como co-solvente, as pressões de cruzamento obtidas foram 8,5; 18,0 e 27,5 MPa respectivamente. Os resultados obtidos nesta pesquisa para a solubilidade de cafeína em CO₂ supercrítico modificado por co-solventes apresentam a mesma tendência apontada por estes autores.

Estes efeitos de deslocamento das condições críticas e da pressão de cruzamento superior com a adição de co-solvente influenciam diretamente os processos de extração supercrítica, pois, para uma mesma pressão de trabalho, a adição do co-solvente significa trabalhar mais próximo do ponto crítico e (dependendo da pressão de cruzamento superior) na região de comportamento retrógrado. Isto pode contribuir tanto para a diminuição de custos (trabalhar em temperatura mais baixas, obtendo maiores taxas de extração) como para melhorar a eficiência do solvente, pois quanto mais perto do ponto crítico, maior é a compressibilidade do sistema e mais eficiente é o uso do FSC.

Nas Figuras 5.4 e 5.5 são comparadas as curvas de solubilidade da cafeína em dióxido de carbono supercrítico (Saldaña, 1997) e em dióxido de carbono supercrítico e etanol como co-solvente (5 e 10% em massa) e com isopropanol (5% em massa) obtidas neste trabalho nas temperaturas de 323 e 343 K respectivamente.

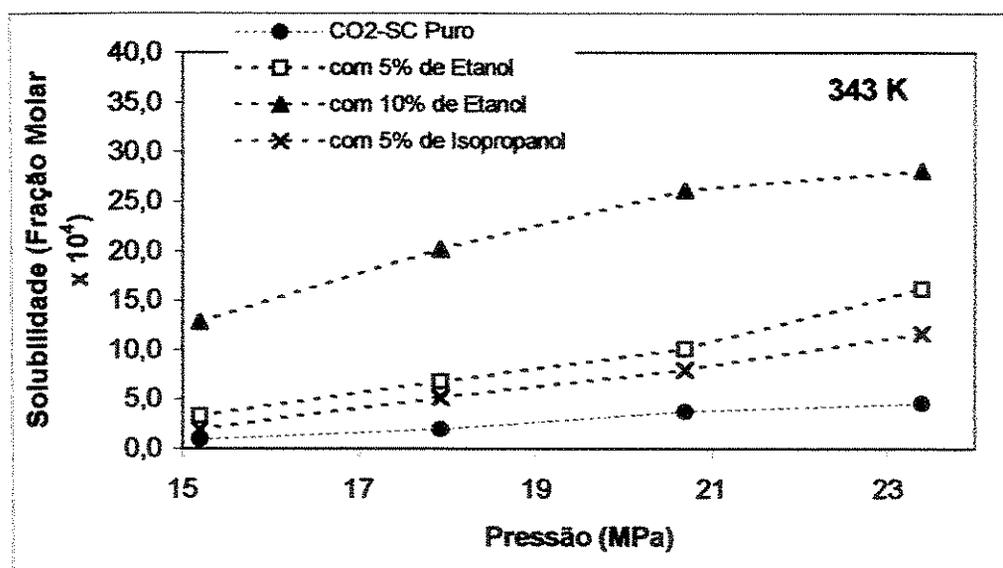


Figura 5.4- Isoterma de solubilidade de cafeína pura em CO₂ – SC puro e com a adição de co-solventes a 343 K. Dados com CO₂ puro, Saldaña *et al.* (1997).

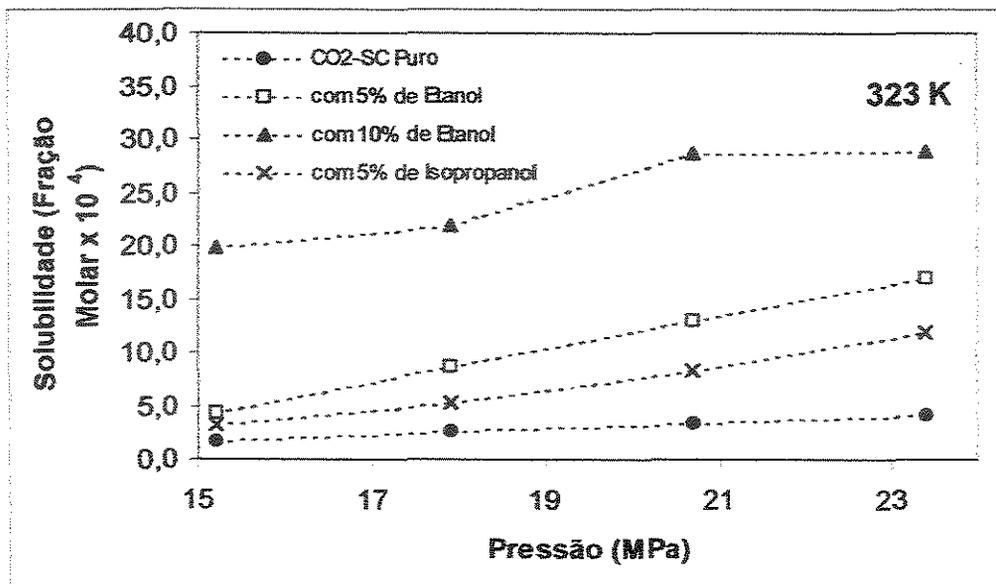


Figura 5.5- Isoterma de solubilidade de cafeína pura em CO₂ – SC puro e com a adição de co-solventes a 323 K. Dados com CO₂ puro, Saldaña *et al.* (1997).

Através dos resultados apresentados nas Figuras 5.4 e 5.5 pôde-se verificar que a solubilidade da cafeína em dióxido de carbono supercrítico aumenta com a adição de co-solvente e com o aumento da pressão.

O fato de a solubilidade aumentar com o aumento de pressão pode ser explicado através do aumento da densidade de mistura. Para que haja a solubilização da molécula de soluto, é formado um complexo de solvatação entre a cafeína e o FSC. A formação deste complexo é resultado das forças intermoleculares entre o FSC e o soluto. Com o aumento de pressão e conseqüente aumento de densidade, há um incremento das interações físicas, como interações dipolo-dipolo, dipolo induzido-dipolo e dipolo induzido-dipolo induzido, facilitando a formação do complexo de solvatação e, portanto, aumentando a solubilidade. Este complexo em torno da molécula do soluto aumenta a densidade local em relação à densidade do meio. Este efeito é independente da utilização de co-solvente e pode ser observado para todas as isotermas apresentadas.

Para explicar o aumento da solubilidade da cafeína com a adição de co-solventes, pode-se quantificar o efeito proporcionado pela adição dos álcoois ao dióxido de carbono na solubilidade da cafeína.

Na Tabela 5.6 é apresentada uma quantificação do efeito do co-solvente. O efeito de co-solvente é definido como a razão entre a solubilidade do soluto com a utilização do co-solvente e a solubilidade do soluto sem a utilização do co-solvente nas mesmas temperaturas e pressões experimentais (Ting et al., 1993). Neste trabalho foram utilizados os dados de Saldaña et al. (1997) como base para o cálculo do efeito de co-solvente.

Tabela 5.6: Efeito de co-solvente para a solubilidade da cafeína em dióxido de carbono supercrítico (percentagem de co-solvente em massa).

Temperatura (K)	Pressão (Mpa)	Etanol 5%	Etanol 10%	Isopropanol 5%
323	15,2	2,52	11,66	1,83
	17,9	3,28	8,36	2,03
	20,7	3,80	8,40	2,41
	23,4	4,16	7,08	2,91
	Média	3,44	8,87	2,29
343	15,2	3,65	14,21	2,18
	17,9	3,42	10,15	2,60
	20,7	2,67	6,90	2,12
	23,4	3,49	6,05	2,51
	Média	3,31	9,33	2,35

A análise dos dados apresentados na Tabela 5.6 confirma que a utilização de co-solvente é um fator de grande importância para aumentar a solubilidade da cafeína em dióxido de carbono supercrítico. A solubilidade da cafeína aumenta com o aumento da quantidade de etanol utilizado na mistura, sendo que as misturas contendo 10% de etanol apresentam em média solubilidades 2,7 vezes maiores quando comparadas com as solubilidades de cafeína em misturas com 5% de etanol como co-solvente. Se estes resultados forem comparados com as solubilidades de cafeína em dióxido de carbono puro, as solubilidades são, em média, 8 vezes maiores com o uso de 10% (em massa) de co-solvente. Quando se utiliza CO₂ com 5% de etanol, as solubilidades de cafeína, comparadas com as solubilidades quando se utiliza CO₂-SC puro, são, em média, 3,4 vezes maiores. Este aumento pode ser entendido através de dois fatores: i) aumento da diferença entre a densidade local e a densidade do meio com o aumento da percentagem de etanol e ii) a maior quantidade de hidroxilas disponíveis para a formação de pontes de hidrogênio entre a molécula de cafeína e o co-solvente.

A magnitude do efeito, devido à formação de pontes de hidrogênio, pode ser notada quando as isotermas obtidas utilizando-se 5% isopropanol como co-solvente e 5% etanol como co-solvente são avaliadas. Segundo Ting *et al.* (1993a e b) estas duas misturas possuem a mesma temperatura crítica e, portanto, pode-se considerar que os efeitos de densidade (ou o efeito do aumento da solubilidade em virtude da diferença entre a densidade do meio e a local) das duas misturas são da mesma ordem de magnitude. Porém a solubilidade da cafeína quando se utiliza o etanol é maior quando comparado à solubilidade de cafeína em misturas de CO₂-SC e isopropanol à mesma temperatura e pressão e mesma quantidade de co-solvente. Ambos os álcoois possuem a habilidade de formar as pontes de hidrogênio com a cafeína, porém como se utilizou a percentagem de co-solvente em massa e não molar, tem-se um menor número de hidroxilas no sistema CO₂-SC – isopropanol, uma vez que a massa molar do isopropanol é maior (isopropanol: 60,1; etanol: 46,07). Em termos de percentagens molares, a mistura com etanol contém 4,8% de mol de co-solvente e a mistura com isopropanol contém 3,7% de mol de co-solvente. Em média, para as duas temperaturas estudadas, as solubilidades de cafeína em misturas contendo 5% de etanol (em massa)- são 45% maiores quando comparadas com os experimentos utilizando-se isopropanol, porém a quantidade de hidroxilas nas misturas contendo etanol é apenas 28% maior. Assim um segundo efeito, não menos importante pode ser identificado para a diferença de solubilidade apresentada pelas diferentes misturas: um maior impedimento estérico da molécula de isopropanol, e, portanto uma maior dificuldade de formação do complexo de solvatação em comparação às moléculas de etanol. Este efeito foi apontado também por Ting *et al.* (1993 a), que estudaram a solubilidade de naproxeno em CO₂-SC com n-propanol e isopropanol como co-solventes. Os resultados apresentados por estes autores identificam que as solubilidades nas misturas contendo isopropanol são sempre menores quando comparadas com a solubilidade nas misturas contendo n-propanol, nas mesmas condições de temperatura pressão e fração molar, o que sugere a possibilidade da presença de efeito estérico, já que a única diferença entre as duas moléculas de co-solvente é a posição da hidroxila da cadeia.

As Figuras 5.6 e 5.7 apresentam o efeito de co-solvente para as misturas estudadas em função das pressões utilizadas para a obtenção das isotermas.

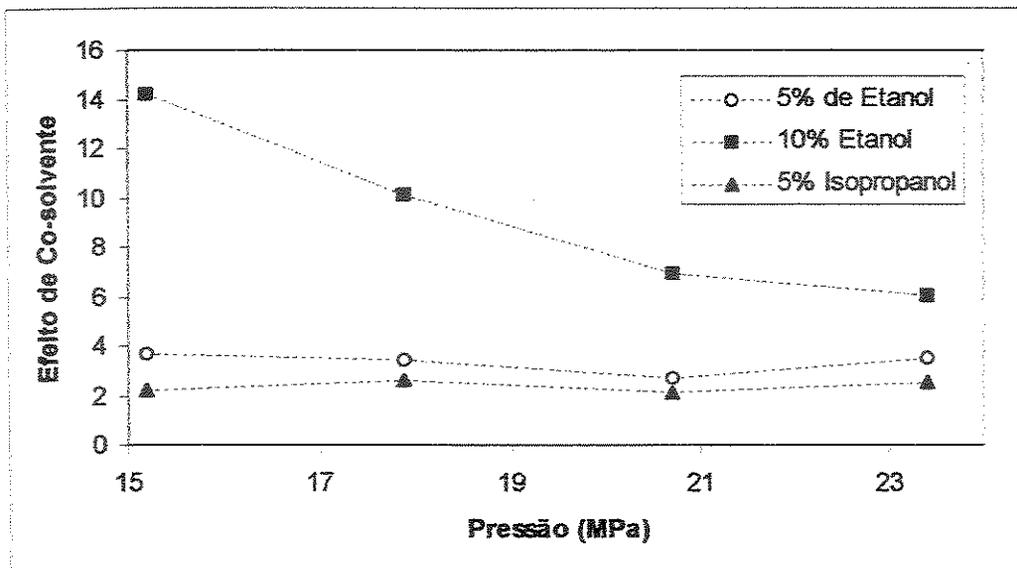


Figura 5.6- Efeito de co-solvente na solubilidade de cafeína em dióxido de carbono supercrítico a 343 K.

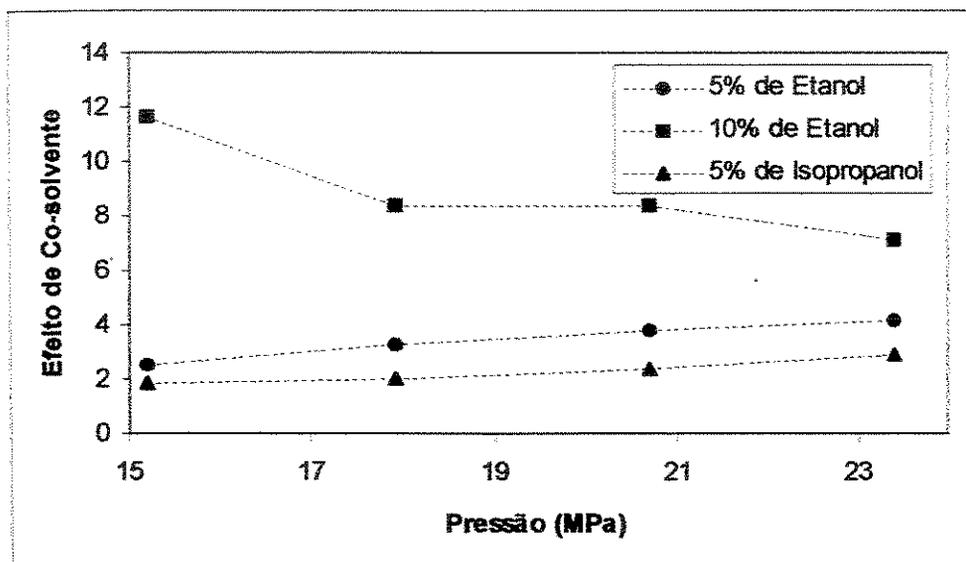


Figura 5.7- Efeito de co-solvente na solubilidade de cafeína em dióxido de carbono supercrítico a 323 K.

Através dos dados apresentados nas Figuras 5.6 e 5.7, pode-se observar um decréscimo do efeito de co-solvente com o aumento da pressão quando se utiliza 10% de etanol (em massa) como co-solvente. Para as demais isoterms (isopropanol e etanol, 5%), levando em conta os erros experimentais, o efeito do uso de co-solvente parece constante para todas as pressões estudadas.

Como o efeito de co-solvente é definido como a razão entre a solubilidade do soluto na mistura solvente/co-solvente pela solubilidade do soluto no solvente puro, para as misturas contendo etanol e isopropanol (5% em peso), as Figuras 5.7 e 5.8 indicam que o aumento da solubilidade, devido ao uso de co-solvente com o aumento de pressão, é proporcional ao aumento da solubilidade do soluto no dióxido de carbono puro com o aumento de pressão. Para as isotermas de solubilidade de cafeína em misturas contendo CO₂-SC e 10% de etanol (em massa) como co-solvente, este ganho não é proporcional, sendo mais pronunciado nas pressões menores.

Segundo Debenedetti e Mohamed (1988), para misturas soluto/solvente com caráter atrativo, como é o caso da cafeína com os FSCs utilizados neste trabalho, quanto mais próximo do ponto crítico do solvente, maior é o tamanho do *cluster* de solvatação (Figura 2.10). Este fato contribui para solubilizar o soluto, devido ao aumento das interações físicas e químicas entre a molécula de soluto e as moléculas de solvente. O tamanho de *cluster* diminui rapidamente com o afastamento do ponto crítico, tendendo a um valor constante (Figura 2.10). Desta forma, em uma mesma pressão e temperatura, como as misturas, contendo 10% de etanol como co-solvente, estão mais próximas do ponto crítico em relação às outras misturas (5% de isopropanol e 5% de etanol como co-solvente, Tabela 5.4), o efeito do aumento do tamanho do *cluster* contribui significativamente para um ganho maior na solubilidade em relação a pressões maiores. Com o aumento da pressão e a diminuição do tamanho do complexo de solvatação, este efeito torna-se de menor importância.

5.2. Extração de cafeína a partir das sementes de guaraná (*Paullinia cupana*) utilizando dióxido de carbono supercrítico e co-solventes.

5.2.1. Efeito do diâmetro de partícula

Na Figura 5.8 estão apresentadas as curvas de extração de cafeína a partir das sementes torradas e moídas de guaraná (*Paullinia cupana*) a uma temperatura de 323 K e a 23,4 MPa, utilizando dióxido de carbono supercrítico e etanol anidro (5% em peso) como co-solvente, em função do diâmetro de partícula utilizado.

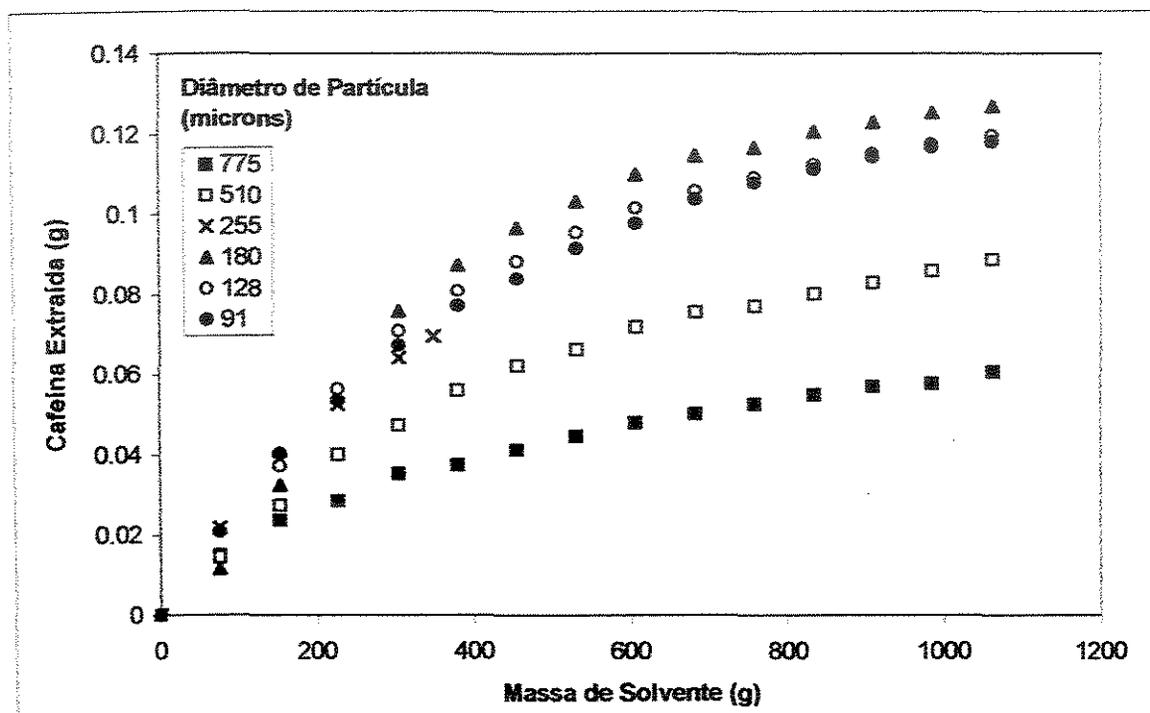


Figura 5.8- Efeito do diâmetro de partícula na taxa de extração de cafeína a partir das sementes de guaraná (*Paullinia cupana*) a 50°C e 23,4 MPa, utilizando dióxido de carbono supercrítico e etanol (5% em massa) como co-solvente. Vazão utilizada: 1,44g CO₂/min. Quantidade de cafeína contidas na sementes no leito de extração: 0,587 g.

Através da análise dos resultados apresentados na Figura 5.8 pôde-se verificar que a quantidade de cafeína extraída é dependente do diâmetro de partícula, o qual influencia na duração dos períodos de extração. Em todas as curvas, verifica-se a ocorrência de dois períodos de extração. O primeiro período é caracterizado pela extração do soluto mais acessível ao solvente, encontrado na camada superficial das partículas. A taxa de extração

então diminui (etapa de transição) e um segundo período, caracterizado pela extração do soluto no interior das partículas, é estabelecido. Esta etapa de difusão intrapartícula é a etapa mais lenta e, desta forma, a taxa de extração neste período é menor. Ao se observar os resultados, verifica-se que, em um primeiro momento, todas as curvas de extração possuem taxas de extração semelhantes (quantidade de cafeína extraída/quantidade de solvente utilizada) e que esta taxa sofre uma desaceleração no decorrer dos experimentos até atingir uma taxa constante e igual para qualquer diâmetro de partícula. A diferença entre as curvas é que a transição de uma taxa de extração (primeiro período) para outra (segundo período) pode ser mais rápida. O diâmetro de partícula está intimamente relacionado com a desaceleração da taxa de extração, pois quanto maior o diâmetro de partícula menor será a área superficial do leito, tendo-se uma menor quantidade de cafeína acessível ao solvente. Para diâmetros menores que 180 μm , observa-se, porém, uma maior desaceleração na taxa de extração, apesar de existir uma maior área superficial no leito de extração. Este fenômeno pode ser atribuído a aglomeração destas partículas mais finas, formando agregados com diâmetros aparentemente maiores. Através da Figura 5.9 verifica-se que as curvas de extração obtidas com partículas com 91, 128 e 255 μm de diâmetro possuem curvas de extração semelhantes. Quando estas curvas de extração são comparadas com a curva obtida com partículas de 180 μm de diâmetro, a desaceleração nas taxas de extração é maior e, desta forma, pode-se supor que, para partículas menores que 180 μm , ocorre a aglomeração e que os tamanhos destes aglomerados são aparentemente da mesma magnitude das partículas com 255 μm de diâmetro. Pôde-se notar que, para partículas com diâmetros menores que 180 μm , quanto menor o diâmetro de partícula, maior a desaceleração da taxa de extração, ou seja, maior é o aglomerado. Para o sistema estudado, a maior taxa de extração foi obtida com diâmetros de partículas em torno de 180 μm . Na Figura 5.9 estão apresentados os resultados de cafeína acumulada nas 4^a e 14^a frações (início do segundo período e total extraído nos ensaios). Os dados das curvas obtidas, em função do diâmetro de partícula, indicam um máximo de eficiência na extração de cafeína quando se utilizam partículas com diâmetros em torno de 180 μm , para as sementes de guaraná torradas e moídas.

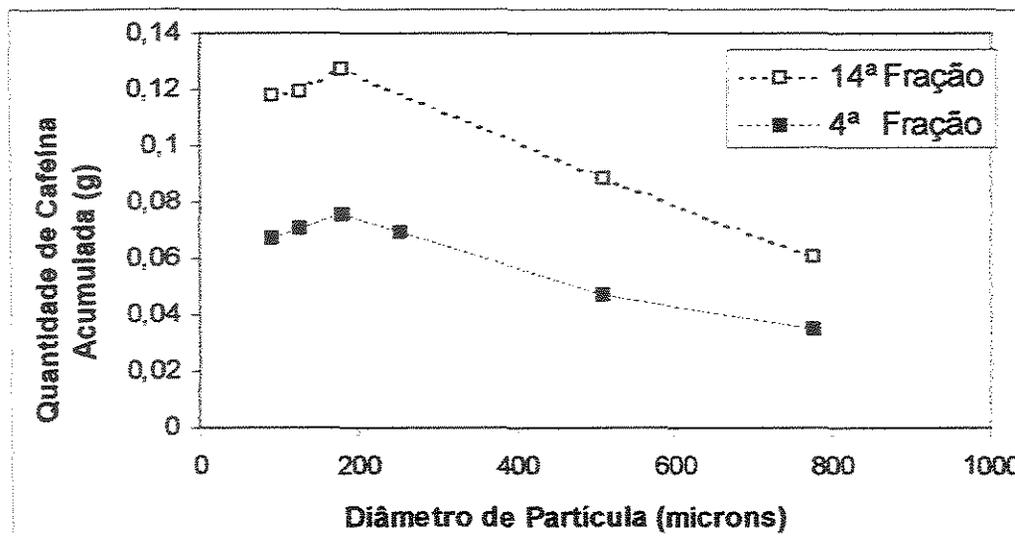


Figura 5.9- Quantidades de cafeína acumulada nas 4 e 14ª frações das curvas de extração em função do diâmetro de partícula.

Os resultados apresentados na Figura 5.9 descrevem a tendência de comportamento para a fração de soluto acessível ao solvente em função do diâmetro de partícula, pois está intimamente relacionada com as quantidades extraídas, quanto maior esta fração, maior a quantidade de soluto extraído ao fim do primeiro período de extração. Estes resultados estão em concordância com os dados obtidos por Sovová *et al.* (1994).

Através das quantidades de cafeína extraída nas frações das curvas apresentadas na Figura 5.9 pôde-se determinar as taxas de extração inicial e final deste grupo de experimentos (1º período de extração e 2º período de extração respectivamente). Na Tabela 5.7 estão apresentados os resultados obtidos. Estes resultados indicam que a taxa de extração diminui uma ordem de grandeza no decorrer do experimento.

Tabela 5.7: Taxas de extração de cafeína a partir de sementes de guaraná para experimentos com diversos diâmetros de partícula (vazão: 1,4 g de CO₂/min).

Período	Taxa (g cafeína/ g de CO ₂)	Desvio Padrão (%)	nº de dados utilizados
1º	$(2,4 \pm 0,4) \times 10^{-4}$	18	15
2º	$(3,1 \pm 0,6) \times 10^{-5}$	18	19

Com base na análise dos resultados apresentados na Figura 5.10, nos experimentos de extração de cafeína a partir das sementes de guaraná com fluidos supercríticos em função da temperatura, pressão e tipo de co-solvente, optou-se por utilizar partículas com o

diâmetro médio de 180 μm . Estes experimentos foram feitos em três pressões (17,9; 23,4 e 30 MPa) e três temperaturas (50, 60 e 70°C), utilizando-se misturas contendo dióxido de carbono supercrítico e co-solventes, conforme descrito na Tabela 4.3.

As quantidades de soluto extraído nos experimentos, realizados conforme descrito no Capítulo 4, para a extração de cafeína com misturas de solventes contendo dióxido de carbono supercrítico com 10 e 5% (em peso) de etanol anidro e dióxido de carbono supercrítico contendo 5% de isopropanol (em peso) estão apresentados nas Tabelas B.1, B.2 e B.3, do Apêndice B - Resultados Experimentais.

5.2.2. Efeito de Co-Solvente

Nas Figuras 5.10-5.12 estão apresentadas as curvas de extração de cafeína a partir das sementes torradas e moídas de guaraná (*Paullinia cupana*) em função do co-solvente utilizado para três condições experimentais distintas. Os resultados, com o efeito de co-solvente para as demais pressões e temperaturas estudadas, estão apresentados nas Figuras B.1-9, do Apêndice B - Resultados Experimentais. Todas as curvas de extração estão apresentadas em termos do rendimento, e (quantidade de cafeína extraída/ quantidade de cafeína inicial presente nas partículas, colocadas no leito de extração) em função da quantidade de solvente utilizado, q (quantidade em massa de solvente utilizado/ quantidade de cafeína inicial contida no leito). A quantidade inicial de cafeína presente no leito de extração, calculada com base na fração mássica do alcalóide contida nas sementes (0,0482) e a quantidade utilizada de sementes moídas de guaraná (12 g), foi de 0,5784 g em todos os experimentos.

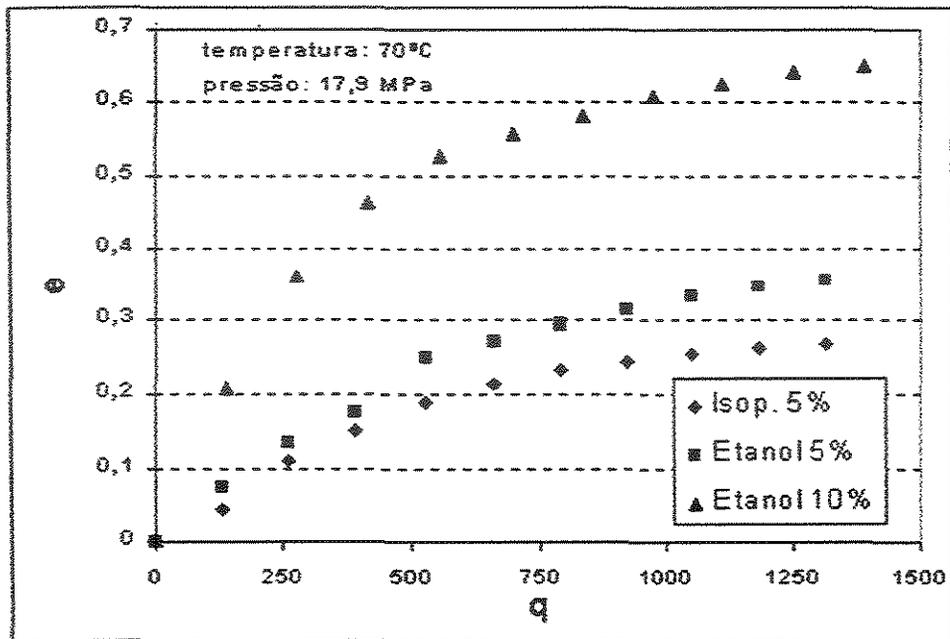


Figura 5.10- Curva de extração da cafeína utilizando dióxido de carbono supercrítico e co-solventes. Condições experimentais: Temperatura - 70°C, Pressão - 17,9 MPa

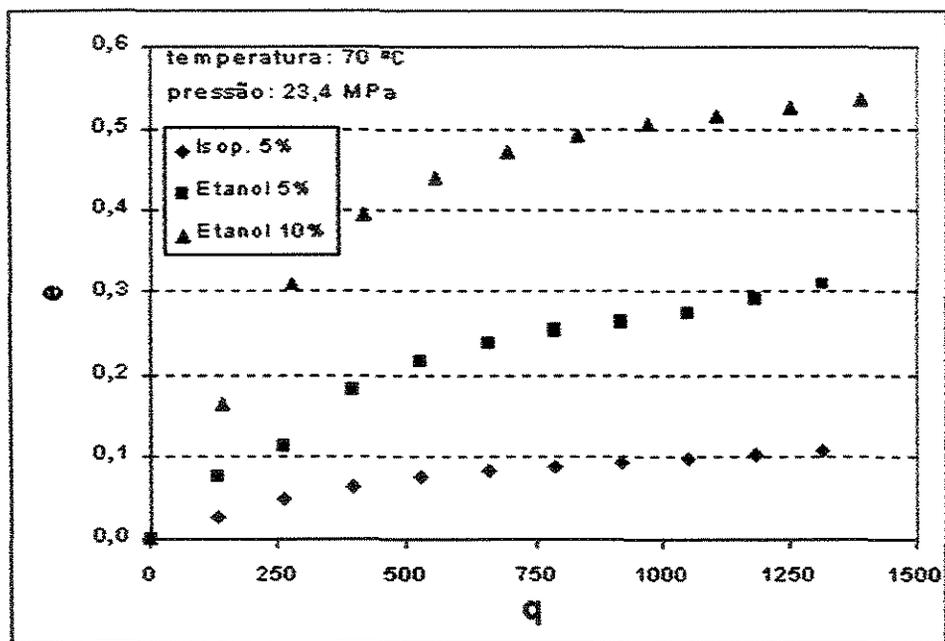


Figura 5.11- Curva de extração da cafeína utilizando dióxido de carbono supercrítico e co-solventes. Condições experimentais: Temperatura - 70°C, Pressão - 23,4 MPa.

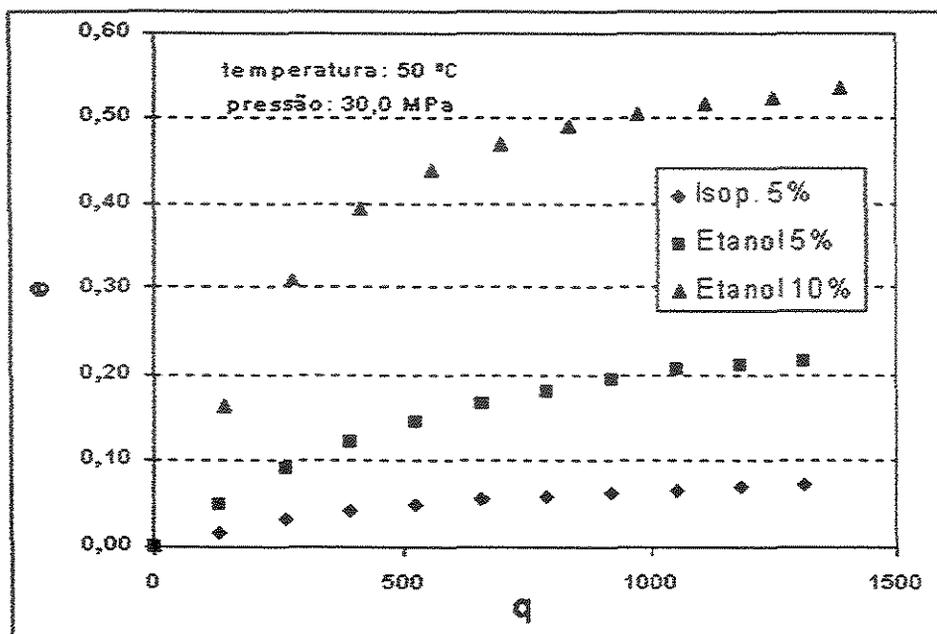


Figura 5.12- Curva de extração da cafeína utilizando dióxido de carbono supercrítico e co-solventes. Condições experimentais: Temperatura - 50°C, Pressão - 30,0 MPa

Através das curvas de extração obtidas, apresentadas nas Figuras 5.10-12 e Figuras B.1-9, pode-se observar que a quantidade de cafeína extraída aumenta com o incremento da quantidade de co-solvente utilizado e em função do tipo de co-solvente. Os melhores resultados, em média, foram obtidos para as misturas contendo 10% de etanol como co-solvente. Uma comparação entre as curvas de extração quando se utiliza a mesma quantidade de isopropanol e de etanol como co-solvente, indica que o uso do etanol, aumenta a quantidade de cafeína extraída em relação ao uso do isopropanol. Na Tabela 5.8. estão apresentados os rendimentos obtidos (em %) para a extração da cafeína em todas as pressões e temperaturas estudadas, em função do co-solvente utilizado.

Nas Tabelas 5.9 e 5.10 estão apresentados os resultados para as taxas de extração de cafeína nos primeiro e segundo período de extração em função do co-solvente utilizado.

As taxas de extração apresentadas nas Tabelas 5.9 e 5.10 são, respectivamente, as inclinações das curvas de extração dos primeiro e segundo períodos de extração (Figuras B.1-27 do Apêndice B - Resultados Experimentais).

Tabela 5.8: Rendimento (%) (g cafeína extraída/ g de cafeína contida inicialmente no leito) obtido nas extrações de cafeína a partir das sementes de guaraná torradas e moídas. Quantidade inicial de cafeína no leito de extração: 0,5784 g.

Pressão (MPa)	Temperatura (°C)	Co-solvente utilizado		
		Isop. 5%	Etanol 5%	Etanol 10%
17,9	50	6,8	25,1	19,6
	60	9,2	24,1	31,4
	70	27,0	35,5	65,0
24,3	50	21,7	20,1	27,7
	60	14,1	21,4	57,6
	70	10,8	31,1	53,6
30,0	50	7,3	21,6	24,7
	60	10,6	24,8	37,4
	70	17,8	36,5	38,9

Tabela 5.9: Taxas do primeiro período de extração de cafeína a partir das sementes de guaraná torradas e moídas (vazão: 1,4 g de CO₂/min).

Pressão (MPa)	Temperatura (°C)	Taxa de Extração x 10 ⁴ (g caf./g solv.)		
		Isop. 5%	Etanol 5%	Etanol 10%
17,9	50	0,95	3,70	2,67
	60	1,33	3,53	4,74
	70	3,92	4,53	11,24
24,3	50	3,61	2,41	3,81
	60	2,32	3,32	9,21
	70	1,65	4,63	9,62
30,0	50	1,07	3,15	3,63
	60	1,57	3,78	6,38
	70	2,72	5,36	6,36

Tabela 5.10: Taxas do segundo período de extração de cafeína a partir das sementes de guaraná torradas e moídas (vazão: 1,4 g de CO₂/min).

Pressão (MPa)	Temperatura (°C)	Taxa de Extração x 10 ⁵ (g caf./g solv.)		
		Isop. 5%	Etanol 5%	Etanol 10%
17,9	50	3,11	9,91	7,30
	60	3,92	3,28	8,58
	70	7,41	11,71	12,11
24,3	50	6,06	6,41	11,06
	60	4,25	4,18	10,49
	70	4,18	16,08	9,68
30,0	50	3,02	6,39	5,11
	60	3,08	6,89	7,25
	70	4,43	14,58	9,05

Em média, os resultados apresentados na Tabela 5.8 indicam que os rendimentos obtidos, quando se utiliza 10% de etanol (em peso) como co-solvente, são 3 vezes maiores em comparação aos rendimentos obtidos com o uso de 5% de isopropanol. O aumento médio, obtido com o uso de 10% de etanol em relação aos resultados obtidos com o uso de 5% de etanol como co-solvente, foi de 48%. Um aumento médio de 92% é observado com o uso de 5% de etanol como co-solvente em relação às extrações feitas com 5% de isopropanol como co-solvente. Se estes resultados forem comparados com os resultados obtidos para a solubilidade, em média, para as condições de pressão e temperatura em que foram realizados experimentos de solubilidade com o uso dos três co-solventes, o ganho com o uso de 10% de etanol em relação ao uso de 5% de etanol é de 136%. Se for comparado a utilização de 5% de etanol em relação a utilização de 5% de isopropanol, o ganho médio é de 42%.

A análise dos resultados indica que o poder de extração do solvente supercrítico é aumentado com a quantidade de co-solvente, devido ao aumento das interações físicas e químicas entre a molécula de cafeína e o solvente. O uso de co-solvente eleva a densidade de mistura, aumentando as interações físicas dipolo/dipolo, dipolo/dipolo induzido e dipolo induzido/dipolo induzido e, conseqüentemente, o poder de extração e solvatação do FSC. As interações químicas também aumentam com o uso de co-solvente, pois as moléculas dos álcoois utilizados podem formar ligações como as pontes de hidrogênio. A menor eficiência de extração com o uso de isopropanol pode ser atribuída a dois fatores: i) a menor quantidade de hidroxilas disponíveis para a formação de pontes de hidrogênio e ii) um maior impedimento estérico para a formação do complexo de solvatação. Estes resultados estão de acordo com os dados obtidos para a solubilidade da cafeína pura nos FSCs utilizados (Tabelas 5.1, 5.2 e 5.3). Uma diferença notada, em relação aos experimentos de solubilidade de cafeína pura, é que, para as temperaturas e pressões estudadas, as quantidades de cafeína solubilizadas são apenas 53% maiores (em média) quanto se utiliza 5% de etanol em relação às misturas contendo 5% de isopropanol e no caso das extrações a partir da matriz vegetal está diferença chega a 92% (em média). Este fenômeno pode ser explicado por um efeito estérico mais pronunciado na extração da cafeína a partir da matriz vegetal quando se utiliza o isopropanol. Para que haja a extração do soluto que se encontra adsorvido na matriz sólida, é necessária a difusão do solvente na matriz. Como as moléculas de isopropanol são maiores do que as moléculas de etanol, o coeficiente de

difusão do isopropanol é menor, o que diminui as taxa de extração. Isto pode ser melhor observado quando as taxas de transferência de massa do segundo período de extração (Tabela 5.10) são examinadas. Neste caso, para todos os experimentos, a taxa de extração no período (regido pela difusão do soluto intrapartícula) é maior quando se utiliza 5% de etanol (peso) como co-solvente em relação ao uso de isopropanol. Comparando-se a diferença entre as taxas de extração dos primeiro e segundo períodos para ambos solventes, observa-se que as taxas de extração do segundo período quando se utiliza etanol, são 110% maiores (em média) em relação ao uso de isopropanol (na mesma concentração em massa). Ao comparar-se as taxas de extração do primeiro período, quando se utiliza o etanol, os valores são em média 67% maiores. Desta forma, percebe-se que a velocidade de difusão do isopropanol na matriz é menor, dificultando a extração da cafeína, em relação ao uso de etanol como co-solvente.

Ao analisar-se as taxa de extração para o segundo período entre as duas concentrações de etanol (5 e 10%), nota-se que as maiores taxas foram obtidas quando se utilizou 5% de etanol como co-solvente, sendo, em média, 17% maiores quando comparadas com o uso de 10% de etanol, devido possivelmente a um aumento de viscosidade do fluido com o aumento da quantidade de etanol, diminuindo o poder de penetração do solvente, desta forma mesmo com a maior quantidade de hidroxilas no sistema, nota-se uma sensível diminuição das taxas de extração no segundo período com o aumento da quantidade de co-solvente.

Através dos dados, apresentados na Tabela 5.9, é possível observar que as taxas de extração do primeiro período, quando se utiliza 10% de etanol como co-solvente, são, em média, 60% maiores quando comparadas com as curvas de extração com o uso de 5% etanol como co-solvente e 2,7 vezes maiores quando se utiliza isopropanol como co-solvente. Se forem comparados os valores das taxas de extração, a partir das sementes de guaraná, com os valores verificados para a solubilidade de cafeína pura, observa-se que, em média, para as extrações utilizando-se 10% etanol como co-solvente, a solubilidade (fração mássica) é 30 vezes maior do que a taxa de extração média para o primeiro período (nas mesmas condições de temperatura e pressão). Para o uso de 5% de etanol como co-solvente, as solubilidades são, em média, 25 vezes maiores do que as taxa de extração para as mesmas pressões e temperaturas. Para o uso de isopropanol (5%), as solubilidades da

caféina são, em média, 30 vezes maiores em relação à média das taxas de extração do primeiro período. Isto pode ser atribuído a dois fatores principais: i) a resistência à transferência de massa causada pela adsorção da caféina na matriz de guaraná, e ii) a extração de outras substâncias presente na matriz de guaraná juntamente com a caféina.

Para citar um exemplo da resistência a transferência de massa devido a presença da matriz vegetal, no caso da extração de gordura de cacau a partir de sementes de cacau, Saldaña e colaboradores (2001) encontraram que as solubilidades da gordura pura são em média 70% maiores do que as taxas de extração do primeiro período nas mesmas condições experimentais. Neste caso, a extração de outros produtos juntamente com a gordura foi mínima, já que esta corresponde por 60% (em peso) da massa seca das sementes, podendo-se atribuir a diferença entre as solubilidade e taxas de extração observadas, principalmente, à maior resistência à transferência de massa, da gordura adsorvida na matriz vegetal para o seio do fluido supercrítico.

5.2.3. Efeitos de Temperatura e Pressão

As curvas de extração de caféina a partir das sementes de guaraná torradas e moídas, para um mesmo co-solvente e uma mesma pressão, estão apresentadas nas Figuras 5.13 a 5.15, as demais combinações (outros co-solventes e outras pressões estudadas neste trabalho) estão apresentadas nas Figuras B.10 a B.18 no Apêndice B - Resultados experimentais.

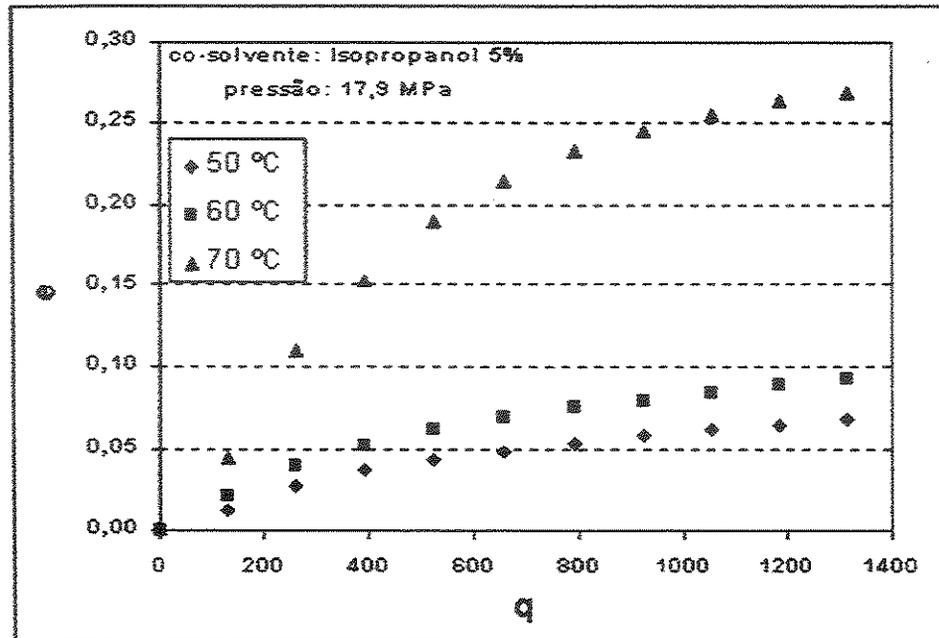


Figura 5.13- Curva de extração da cafeína utilizando dióxido de carbono supercrítico e 5% de isopropanol a 17,9 MPa e três temperaturas.

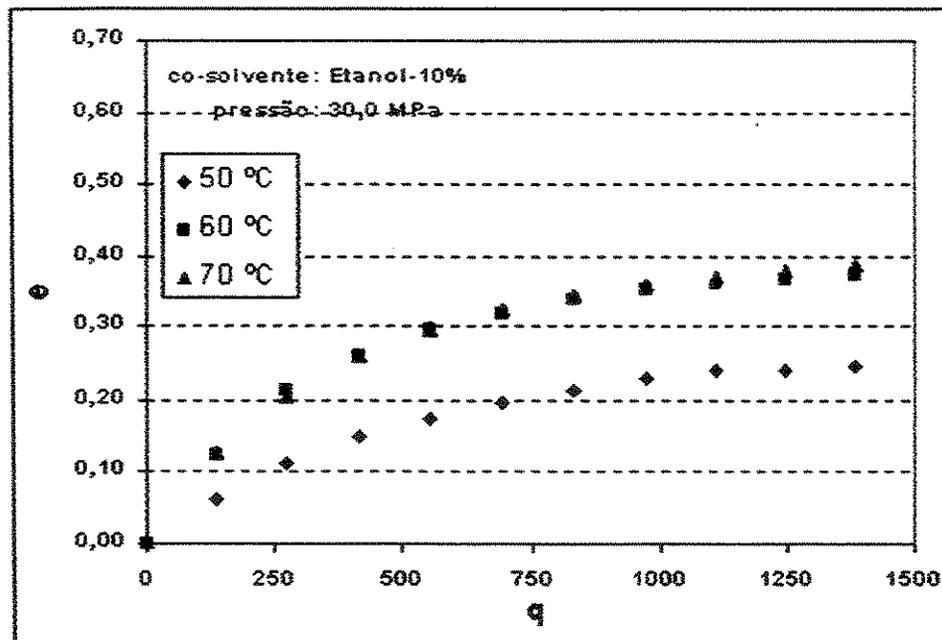


Figura 5.14- Curva de extração da cafeína utilizando dióxido de carbono supercrítico e 10% de etanol a 30,0 MPa e três temperaturas.

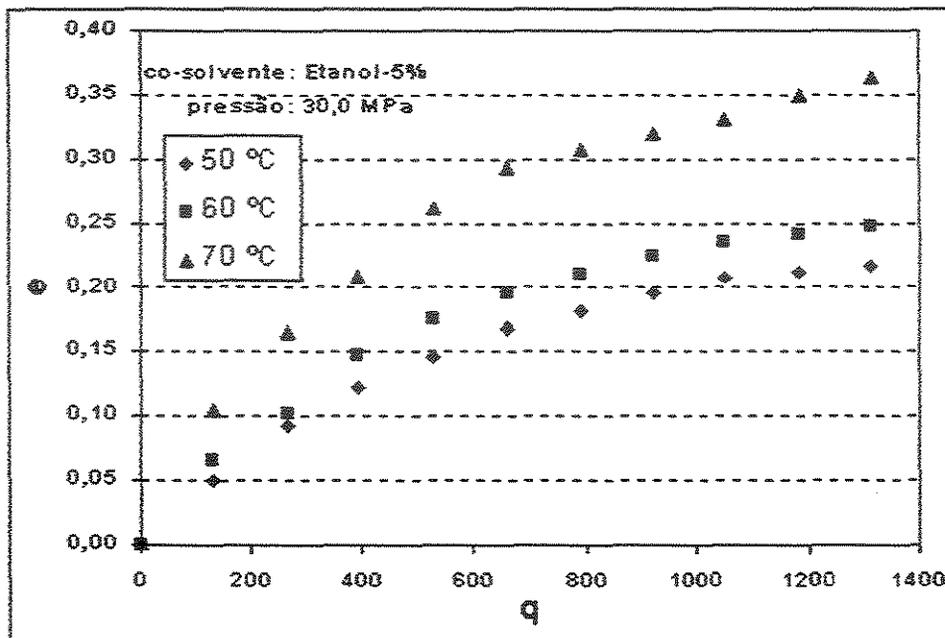


Figura 5.15- Curva de extração da cafeína utilizando dióxido de carbono supercrítico e 5% de etanol a 30,0 MPa e três temperaturas.

Através dos resultados apresentados nas Figuras 5.13 a 5.15 e nas Figuras B.10 a B.18, verifica-se que, em geral, a quantidade de cafeína extraída aumenta com o aumento de temperatura e que este aumento é mais pronunciado nas pressões mais baixas.

Nas Figuras 5.16, 5.17 e 5.18 estão apresentadas as isobáricas das taxas de extração do primeiro período em função da temperatura para as misturas supercríticas utilizadas neste trabalho.

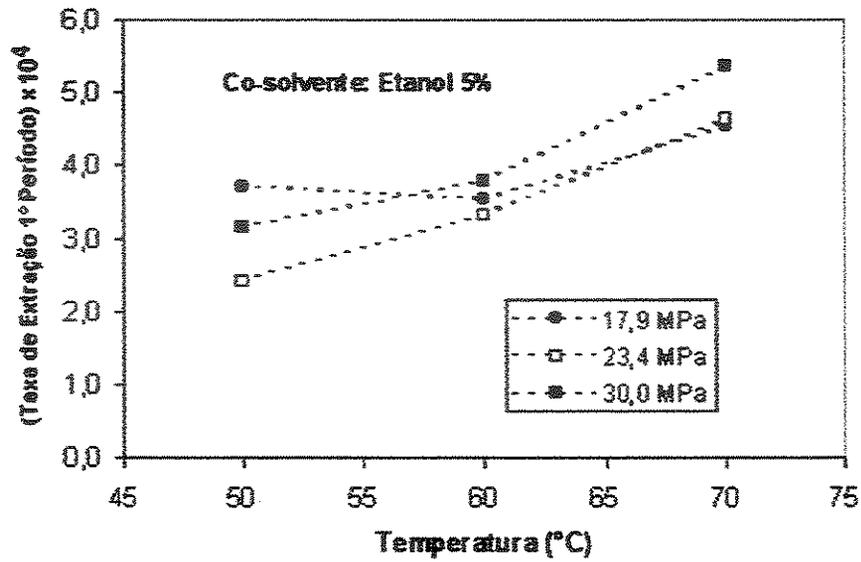


Figura 5.16- Isobáricas de taxas de extração (primeiro período) de cafeína com $\text{CO}_2\text{-SC}$ e 5% de etanol como co-solvente, em função da temperatura.

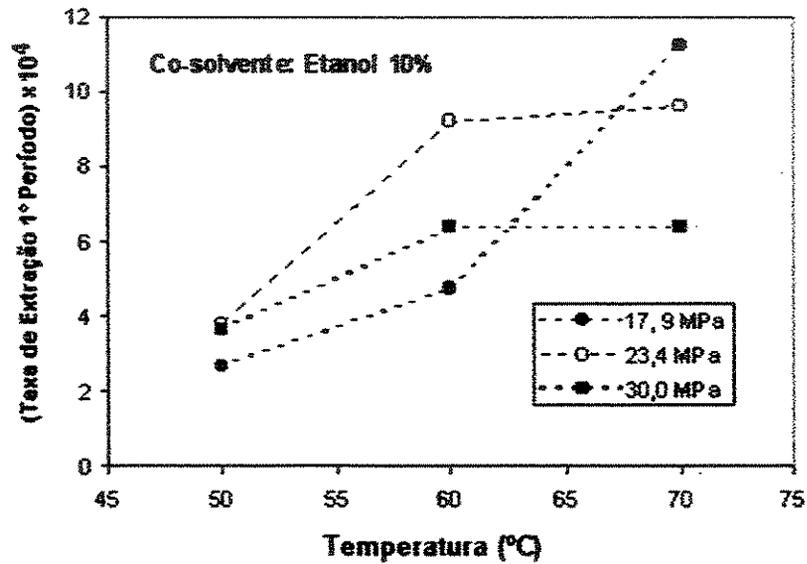


Figura 5.17. Isobáricas de taxas de extração (primeiro período) de cafeína com $\text{CO}_2\text{-SC}$ e 10% de etanol como co-solvente, em função da temperatura.

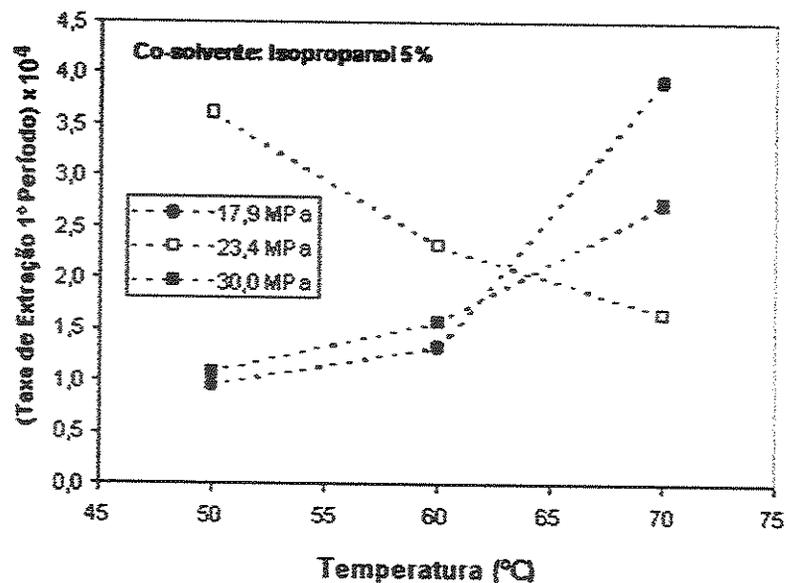


Figura 5.18. Isobáricas de taxas de extração (primeiro período) de cafeína com CO₂-SC e 5% de isopropanol como co-solvente, em função da temperatura.

Através dos resultados apresentados nas Figuras 5.16, 5.17 e 5.18, verifica-se que o aumento de temperatura aumenta de maneira significativa as taxas de extração, com exceção das extrações feitas na pressão intermediária (23,5 MPa) utilizando-se isopropanol como co-solvente.

Ao analisar-se os dados de solubilidade de cafeína pura (sessão 5.1 deste Capítulo), observa-se que para as três misturas, na pressão de 17,9 MPa, há uma diminuição da solubilidade de cafeína com o aumento de temperatura (região retrógrada). Inversamente a este fenômeno, as taxas de extração de cafeína, a partir das sementes de guaraná, aumentam com o aumento da temperatura nesta pressão para as três misturas estudadas. Este fenômeno pode ser explicado por dois motivos: a maior mobilidade das moléculas do solvente com o aumento da temperatura, e conseqüentemente maior poder de penetração na matriz sólida e uma maior facilidade de dessorção da cafeína adsorvida na matriz sólida com o aumento da pressão de saturação.

Um exemplo deste fenômeno pode ser analisado comparando-se os dados obtidos por Saldaña (1997) para a extração de cafeína, a partir de grãos verdes de café, com dióxido de carbono supercrítico em pressões entre 10 e 28 MPa e temperaturas entre 313 e 343 K e para a solubilidade de cafeína pura, nas mesmas condições, em CO₂-SC, pode-se observar

que, apesar de a autora obter uma pressão de cruzamento superior para o sistema cafeína pura/CO₂-SC, em torno de 19,7 MPa, as quantidades de cafeína obtidas nos extratos (a partir das sementes moídas) aumentam com o aumento da temperatura em pressões maiores que 10 MPa (região retrógrada do sistema cafeína pura/CO₂-SC). Os resultados obtidos por esta autora estão em concordância com os resultados obtidos para a extração de cafeína a partir das sementes de guaraná.

Trabalhos na literatura têm relatado que o aumento de temperatura favorece a dessorção de solutos de diferentes matrizes para a fase supercrítica. Bjorklund *et al.* (1999), estudando a dessorção de BCPs (bifenis policlorinados) em solos contaminados, concluíram que a elevação de 40 para 150°C aumenta significativamente a extração destes compostos com CO₂-SC, devido à superação de uma barreira energética dos processos de dessorção com o aumento da temperatura.

As curvas de extração de cafeína a partir das sementes de guaraná torradas e moídas, em um mesmo co-solvente a uma mesma temperatura, estão apresentadas nas Figuras 5.19 a 5.21, as demais combinações (outros co-solventes e outras temperaturas) estão apresentadas nas Figuras B.19 a B.27 no Apêndice B - Resultados experimentais.

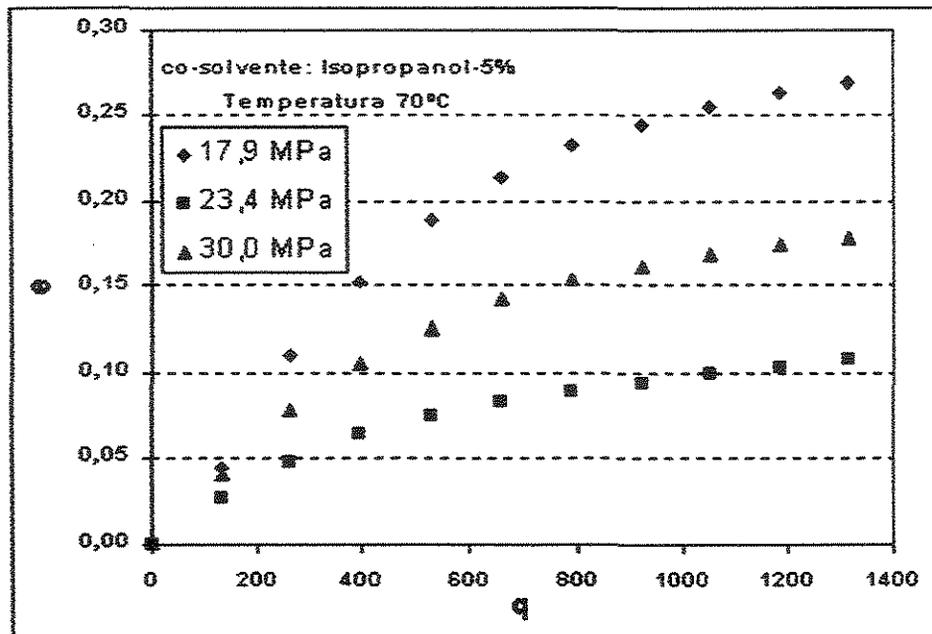


Figura 5.19- Curva de extração de cafeína a partir de sementes de guaraná utilizando dióxido de carbono supercrítico e 5% de isopropanol a 70°C e três pressões.

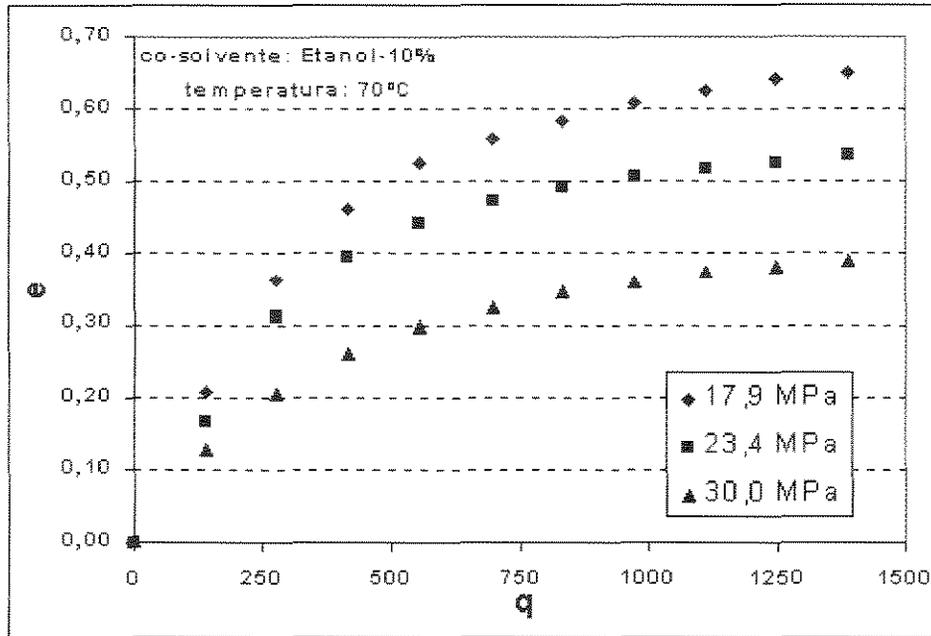


Figura 5.20- Curva de extração de cafeína a partir de sementes de guaraná utilizando dióxido de carbono supercrítico e 10% de etanol a 70°C e três pressões.

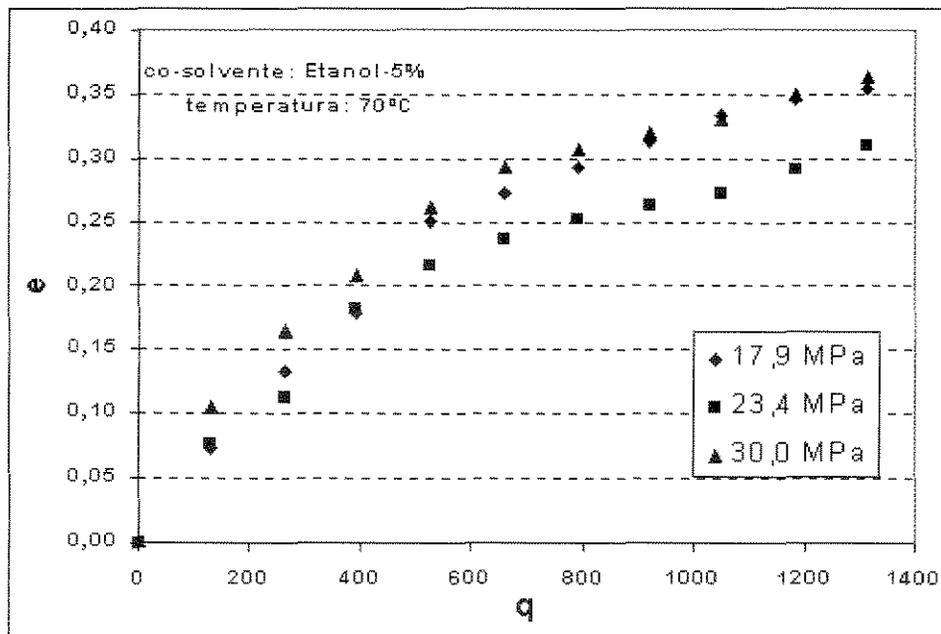


Figura 5.21- Curva de extração de cafeína a partir de sementes de guaraná utilizando dióxido de carbono supercrítico e 5% de etanol a 70°C e três pressões.

Com base nos resultados apresentados nas Figuras 5.19 a 5.21 e nas Figuras B.19 a B.27 é observado que a quantidade de cafeína extraída, em média, aumenta sensivelmente com a diminuição da pressão em uma mesma temperatura. Este efeito é mais pronunciado

nas maiores temperaturas. Nas Figuras 5.22 a 5.24 estão apresentadas as superfícies de resposta da quantidade de cafeína extraída (rendimentos) em função da temperatura e pressão para as extrações com dióxido de carbono supercrítico em função de co-solvente utilizado.

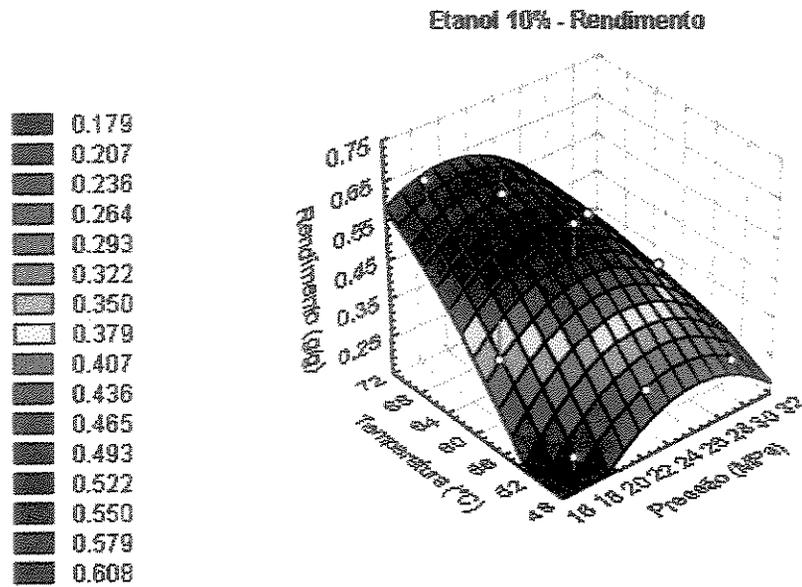


Figura 5.22- Superfície de resposta dos rendimentos em função da temperatura e pressão para os experimento feitos com CO₂-SC e 10% de etanol (em peso) como co-solvente.

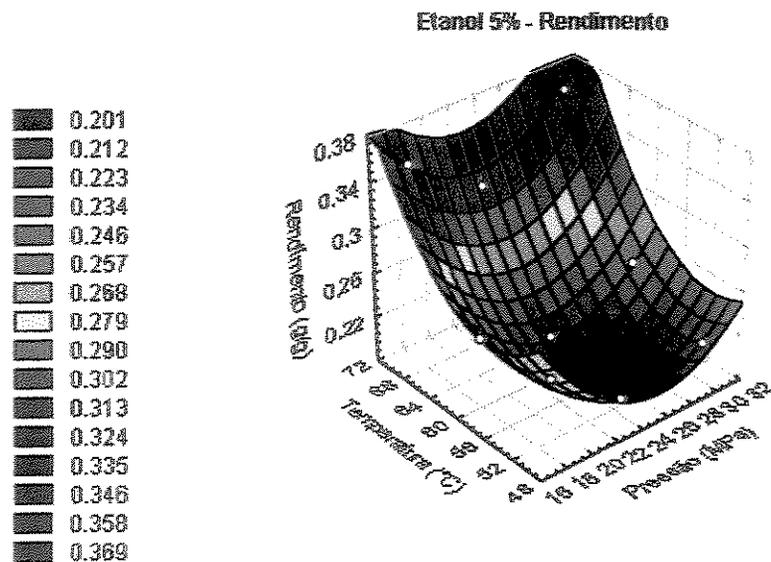


Figura 5.23- Superfície de resposta dos rendimentos em função da temperatura e pressão para os experimento feitos com CO₂-SC e 5% de etanol (em peso) como co-solvente.

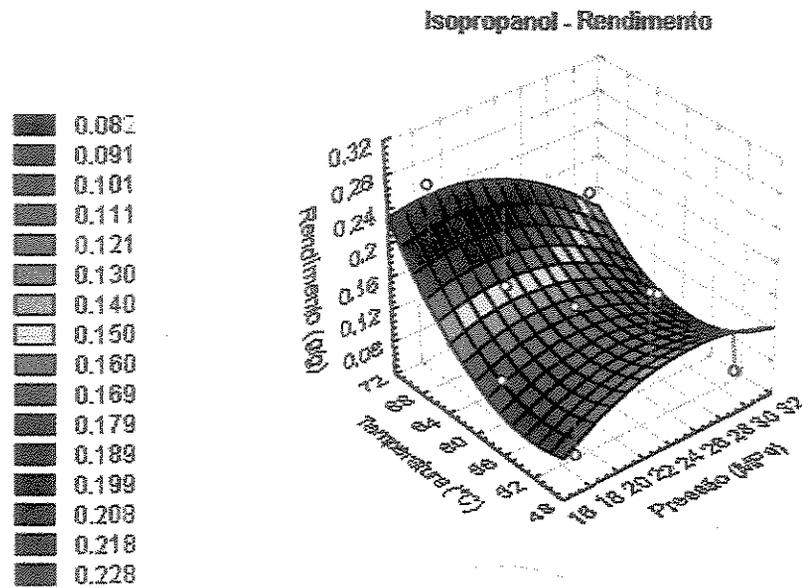


Figura 5.24- Superfície de resposta dos rendimentos em função da temperatura e pressão para os experimentos feitos com CO₂-SC e 5% de isopropanol(em peso) como co-solvente.

Através destes resultados, pode-se verificar a tendência do aumento da quantidade de cafeína extraída com o aumento de temperatura e a diminuição da pressão. As Superfícies de Resposta para as taxas do primeiro e do segundo período de extração em função da temperatura e da pressão, apresentam as mesmas tendências de acordo com o co-solvente utilizado e estão apresentadas nas Figuras B.28 a B.33 do Apêndice B - Resultados Experimentais.

Estudos a cerca de extrações de diversos componentes (em baixas concentrações) de matrizes sólidas, têm sido publicados, como por exemplo extração de óleos essenciais com dióxido de carbono supercrítico (Baysal e Starmans, 1999); extração de óleo rico em vitamina E com CO₂-SC e Propano-SC (Hadolin *et al.*, 2001) ou extração de pesticidas da madeira com CO₂-SC (Nguyen *et al.*, 2000). Nestes trabalhos é possível observar uma tendência de aumento da quantidade de extração do material de interesse com a diminuição da pressão, como ocorreram nos dados obtidos neste trabalho. Este fato pode estar associado à seletividade do solvente supercrítico para a extração de cafeína em cada condição de processo. Nos dados publicados por Baysal e Starmans (1999), a cerca da extração de dois componentes (óleos essenciais), limoneno e carvone a partir sementes de *Carum carvi L.*, existe um exemplo ilustrativo da influência da seletividade na extração com

fluido supercríticos. As extrações foram feitas em quatro pressões (75, 125, 150 e 300 bar) e quatro temperaturas (32, 45, 60 e 75 °C). A melhor recuperação dos óleos essenciais ocorreu nas condições de processo a 125 bar e 32 °C, em pressões maiores outros óleos (C16 e C18) também foram extraídos diminuindo a quantidade extraída dos óleos de interesse.

Saldaña (1997), estudando a extração de cafeína a partir de grãos verdes moídos de café com dióxido de carbono supercrítico em pressões entre 10 e 28 MPa e temperaturas entre 313 e 343 K, determinou que as maiores quantidades de cafeína encontradas nos extratos, foram obtidas nos experimentos feitos à pressão de 14 MPa, estas quantidades diminuíram para pressões menores e também diminuíram significativamente com o aumento da pressão, para as três temperaturas estudadas. Em contrapartida a extração de massa total aumentou com o aumento da pressão, indicando uma grande perda de seletividade para a cafeína com o aumento da pressão. Em pressões mais altas componentes como o óleo de café foram extraídos preferencialmente. O aparelho utilizado nestes experimentos é o mesmo utilizado neste trabalho. Os resultados apresentados neste trabalho, para a extração de cafeína a partir das sementes moídas de guaraná com CO₂-SC e co-solventes, apresentam a mesma tendência para a extração da cafeína a partir das sementes de café moídas relatada por Saldaña (1997).

Lucien e Foster (2000) indicam que um efeito muito importante, quando se trabalha com a extração supercrítica de sólidos, é a co-solvência entre estas substâncias, e que as interações intermoleculares entre os sólidos pode alterar, de forma significativa, a solubilidade e a seletividade nos processos de extração com solventes supercríticos. Um bom exemplo disto, é a solubilidade do ácido benzóico e do naftaleno em dióxido de carbono supercrítico. Kurnik e Reid (1982) reportaram que a solubilidade do ácido benzóico aumenta até 280% e a solubilidade do naftaleno aumenta até 107%, em CO₂-SC, quando misturados em comparação às solubilidades destes componentes puros nas mesmas condições de pressão e temperatura em CO₂-SC.

Outros trabalhos também indicam que o aumento da solubilidade em sistemas contendo misturas de sólidos está associado a fortes interações soluto-soluto, particularmente em situações em que estes solutos possam formar pontes de hidrogênio (Lucien e Foster, 1996).

Lucien e Foster (2000), estudando os efeitos de co-solvência entre sólidos solubilizados com CO₂-SC, determinaram que este efeito de co-solvência diminui com a pressão para muitos sistemas estudados, como por exemplo para o 2,6-DMN, em presença de 2,7-DMN ou naftaleno e presença do fenantreno. Desta forma, os maiores ganhos na solubilidade destes sólidos, devido ao efeito de co-solvência, foram em pressões ao redor de 100 bar, dentre às condições estudadas (100 a 300 bar).

Através da análise dos resultados obtidos e dos dados encontrados na literatura, fica clara a complexidade das interações entre os diversos componentes dos produtos naturais, quando se trata de misturas de sólidos. Neste trabalho, para melhor avaliar os mecanismos de extração de cafeína a partir de sementes de guaraná torradas e moídas, onde as interações entre os diversos componentes da matriz vegetal influenciam nas taxas de extração, a determinação das taxas de extração de um segundo componente foi realizada. Este procedimento teve a finalidade de tentar entender como os componentes presentes na matriz natural possam estar interagindo. Através da metodologia proposta por Swain e Hillis (1959), as curvas de extração de fenóis totais, que compreendem as substâncias fenólicas não voláteis (taninos) e os polifenóis (como a D-cachetina) presentes nas sementes de guaraná, foram determinadas, conforme descrito no Capítulo 4.

5.3. Determinação do teor de fenóis totais nos extratos obtidos a partir das sementes de guaraná (*Paullinia cupana*) utilizando dióxido de carbono supercrítico e co-solventes.

5.3.1. Efeitos de Co-solvente

As curvas de extração de fenóis totais, a partir das sementes de guaraná torradas e moídas, para um mesmo co-solvente e uma mesma pressão, estão apresentadas nas Figuras 5.25 a 5.27. As demais combinações (outros co-solventes e outras pressões estudadas neste trabalho) estão apresentadas nas Figuras B.34 a B.42 no Apêndice B - Resultados experimentais.

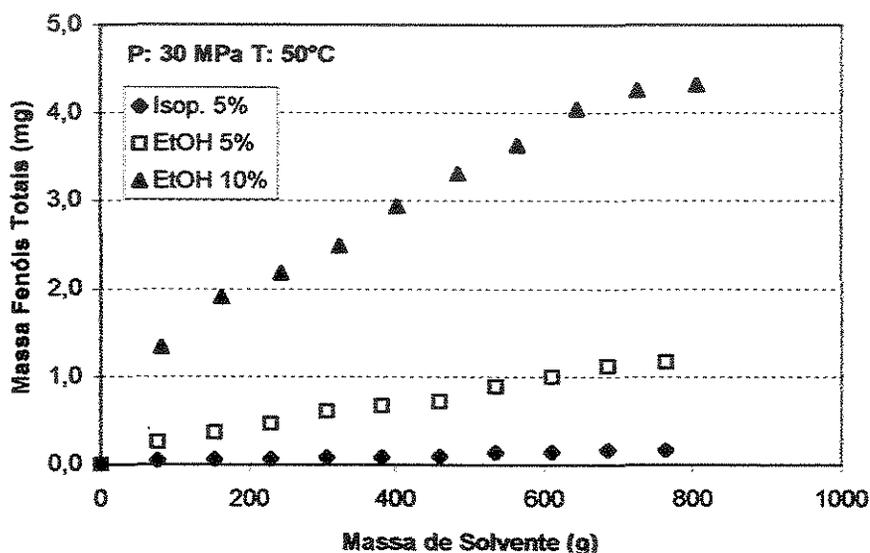


Figura 5.25- Curva de extração de fenóis totais, a partir de sementes de guaraná, utilizando dióxido de carbono supercrítico e co-solventes, a 50°C e 30 MPa. Os valores estão em relação às quantidades de fenol usadas como padrões.

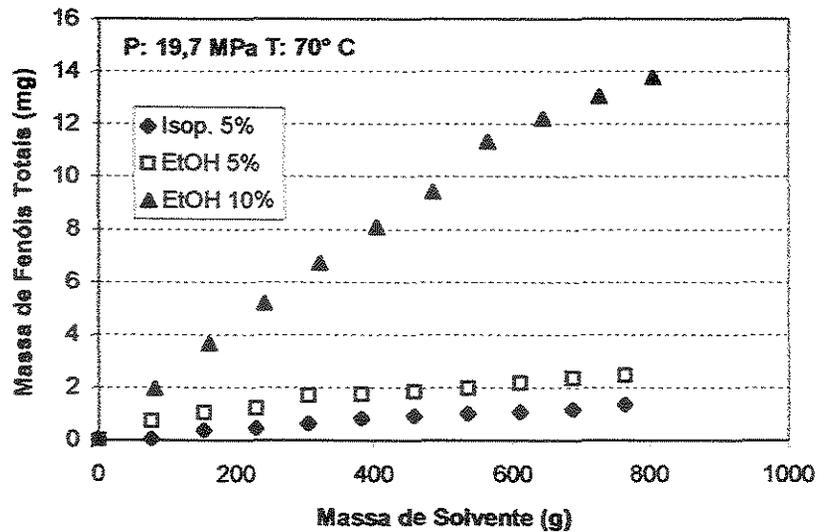


Figura 5.26- Curva de extração de fenóis totais, a partir de sementes de guaraná, utilizando dióxido de carbono supercrítico e co-solventes, a 70°C e 19,7 MPa. Os valores estão em relação às quantidades de fenol usadas como padrões.

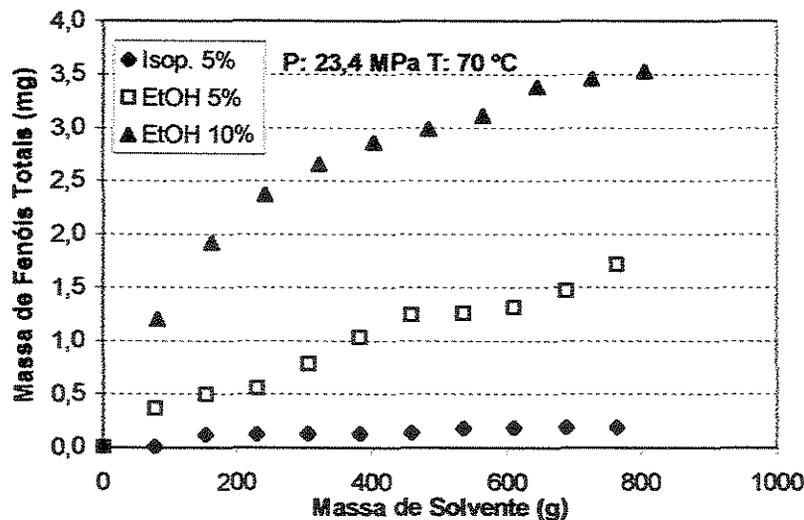


Figura 5.27- Curva de extração de fenóis totais, a partir de sementes de guaraná, utilizando dióxido de carbono supercrítico e co-solventes, a 70°C e 23,4 MPa. Os valores estão em relação às quantidades de fenol usadas como padrões.

Através dos resultados apresentados nas Figuras 5.25, 5.26 e 5.27, pode-se observar que, semelhante ao encontrado para a cafeína, a quantidade de fenóis totais aumenta com o incremento de co-solvente. Quando se comparam os resultados para as

misturas supercríticas contendo isopropanol e contendo etanol, na mesma proporção em massa, é verificado que a quantidade de fenóis aumenta com o uso de etanol como co-solvente. Isto pode ser explicado por efeitos semelhantes aos que se aplicam as extrações de cafeína, como por exemplo, a formação de pontes de hidrogênio entre soluto e os co-solventes. Outro efeito, devido à adição de co-solvente, é o aumento das interações físicas entre soluto e o solvente em razão do aumento da densidade de mistura.

Para avaliar a preferência dos solventes utilizados entre os dois solutos analisados, pode-se definir um parâmetro, a seletividade, definido pela Equação 5.1 (Lucien e Foster, 2000).

$$\alpha = \gamma_1/\gamma_2 \quad (5.1)$$

Onde α é a seletividade, γ_1 é a quantidade total de fenóis (g) extraídos em cada ensaio e γ_2 é a quantidade total de cafeína (g) extraída nas mesmas condições de temperatura e pressão.

A Tabela 5.11 apresenta as resultados da quantidade de fenóis totais extraídos pela quantidade de cafeína extraída em cada experimento.

Tabela 5.11: Seletividade dos fenóis em relação à cafeína para os co-solventes utilizados.

	17,9 MPa			23,4 MPa			30,0 MPa			Média
	50 °C	60 °C	70 °C	50 °C	60 °C	70 °C	50 °C	60 °C	70 °C	
Isop. 5%	0,040	0,025	0,009	0,008	0,004	0,003	0,004	0,004	0,003	0,011
EtOH 5%	0,008	0,003	0,012	0,006	0,004	0,010	0,009	0,009	0,012	0,008
EtOH 10%	0,041	0,022	0,037	0,030	0,026	0,011	0,030	0,017	0,023	0,027

Através dos resultados apresentados na Tabela 5.11, pode-se observar que, o aumento da quantidade de co-solvente, aumenta a proporção de fenóis extraídos juntamente com a cafeína. Desta forma, considerando os dois componentes analisados, o incremento da quantidade de co-solvente, apesar de aumentar a quantidade de cafeína extraída, aumenta em uma maior taxa a extração de fenóis, diminuindo a seletividade para cafeína.

5.3.2. Efeitos de Temperatura e Pressão

As curvas de extração de fenóis totais, a partir das sementes de guaraná torradas e moídas, para um mesmo co-solvente e uma mesma pressão, estão apresentadas nas Figuras 5.28 a 5.30, nas mesmas condições apresentadas nas Figuras 5.13. a 5.15 para a extração de cafeína. As demais combinações (outros co-solventes e outras pressões estudadas neste trabalho) estão apresentadas nas Figuras B.52 a B.60 no Apêndice B - Resultados experimentais.

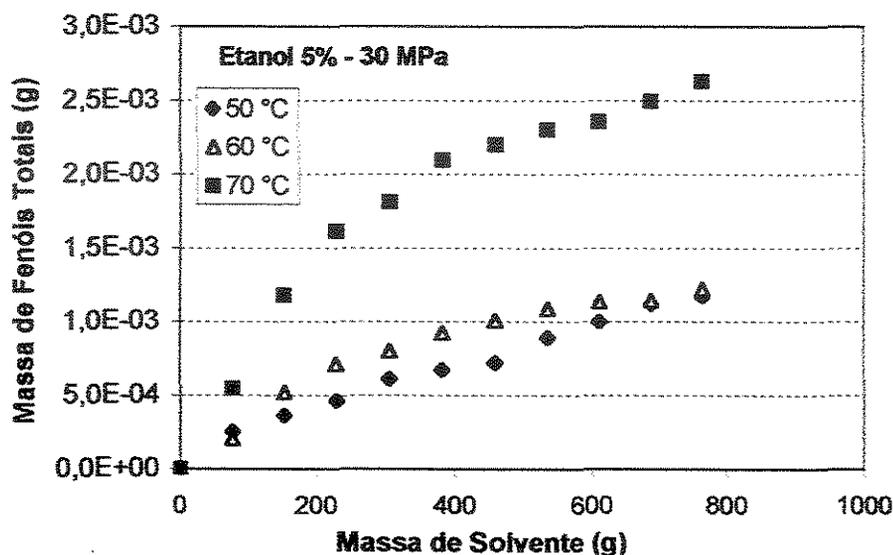


Figura 5.28- Curva de extração de fenóis totais, a partir de sementes de guaraná, utilizando dióxido de carbono supercrítico e etanol (5% em massa) como co-solvente, a 30 MPa em função da temperatura. Os valores estão em relação às quantidades de fenol usadas como padrões.

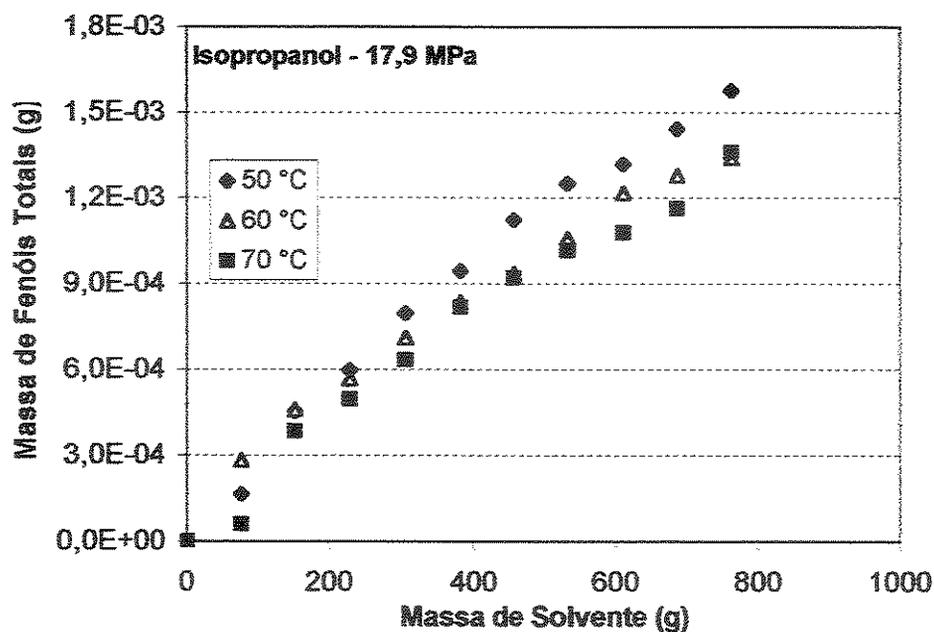


Figura 5.29- Curva de extração de fenóis totais, a partir de sementes de guaraná, utilizando dióxido de carbono supercrítico e isopropanol (5% em massa) como co-solvente, a 17,9 MPa em função da temperatura. Os valores estão em relação às quantidades de fenol usadas como padrões.

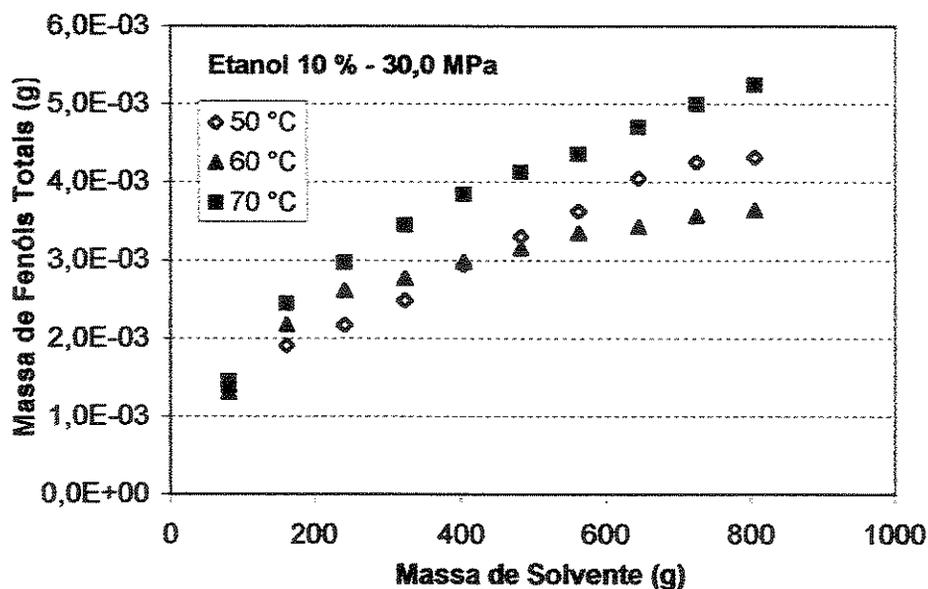


Figura 5.30- Curva de extração de fenóis totais, a partir de sementes de guaraná, utilizando dióxido de carbono supercrítico e etanol (10% em massa) como co-solvente, a 30 MPa em função da temperatura. Os valores estão em relação às quantidades de fenol usadas como padrões.

As curvas de extração de fenóis totais das sementes de guaraná torradas e moídas, em um mesmo co-solvente e uma mesma temperatura, estão apresentadas nas Figuras 5.31 a 5.33, as demais combinações (outros co-solventes e outras temperaturas) estão apresentadas nas Figuras B.43 a B.51 no Apêndice B - Resultados experimentais.

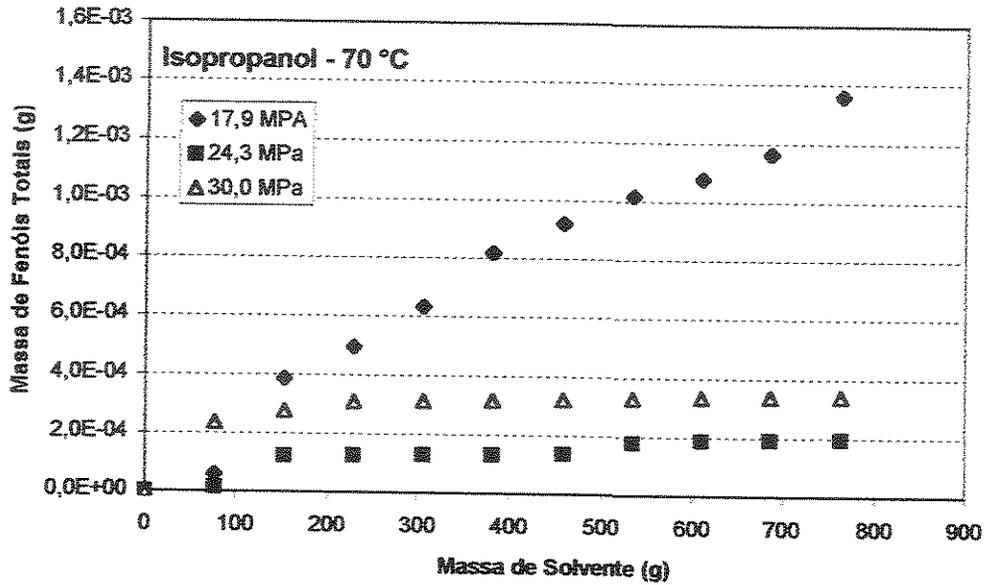


Figura 5.31- Curva de extração de fenóis totais, a partir de sementes de guaraná, utilizando dióxido de carbono supercrítico e 5% de isopropanol a 70°C em função da pressão.

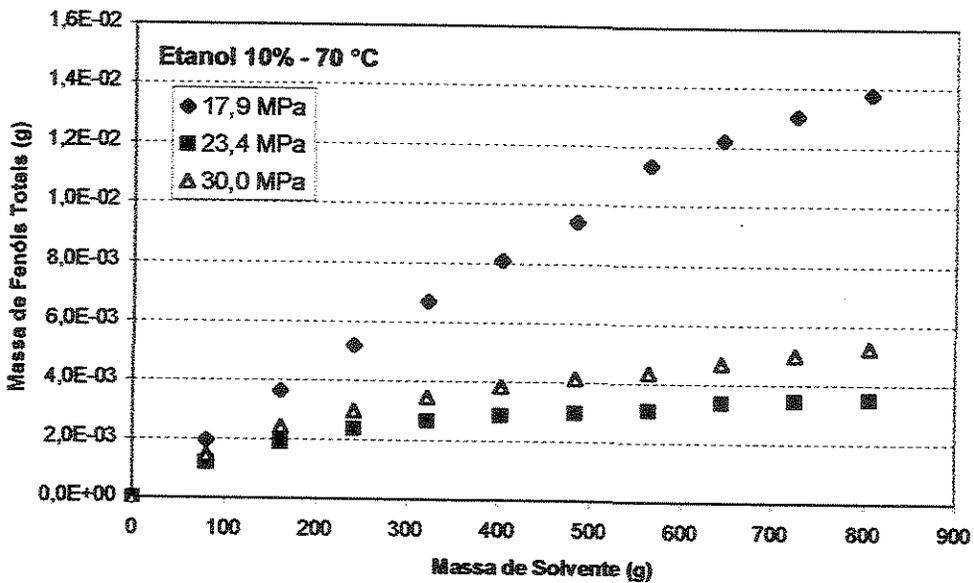


Figura 5.32- Curva de extração de fenóis totais, a partir de sementes de guaraná, utilizando dióxido de carbono supercrítico e 10% de etanol a 70°C em função da pressão.

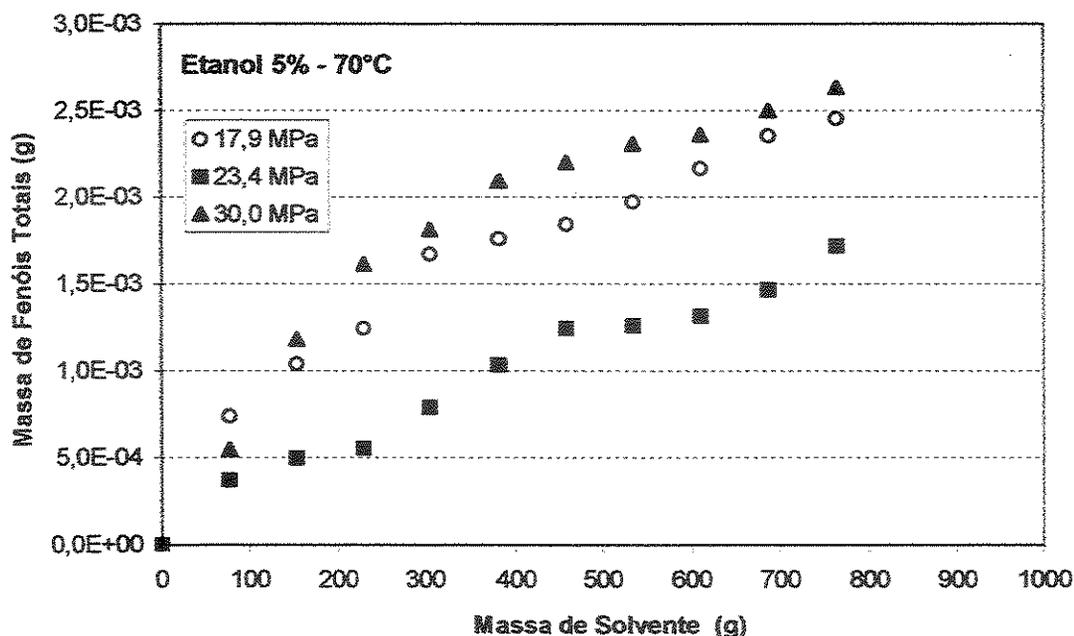


Figura 5.33- Curva de extração de fenóis totais, a partir de sementes de guaraná, utilizando dióxido de carbono supercrítico e 5% de etanol a 70°C em função da pressão.

Através dos dados apresentados nas Figuras 5.28 a 5.33 e das curvas de extração de cafeína apresentadas nas Figuras 5.13 a 5.15 e 5.19 a 5.21 nota-se que as curvas de extração de fenóis totais apresentam os mesmos comportamentos, em relação à pressão e à temperatura, verificados para as curvas de extração de cafeína. As taxas de extração de fenóis totais, de uma forma geral, aumentam com o aumento da temperatura e com a diminuição da pressão.

Os resultados obtidos neste trabalho indicam que existe a possibilidade da ocorrência de efeitos de co-solvência entre os dois componentes analisados e, também, que estes efeitos possam ser mais pronunciado nas pressões mais baixas, como proposto por Lucien e Foster (2000). O efeito de co-solvência e o aumento das taxas de extração da cafeína e dos fenóis com o aumento da temperatura em razão de uma maior facilidade de desorção dos sólidos presentes na matriz vegetal, podem explicar as maiores taxas de extração de ambos componentes a 70 °C e 17,9 MPa.

Comparando-se os resultados obtidos da solubilidade de cafeína pura nas misturas supercríticas com os resultados obtidos para a extração da cafeína e dos fenóis presentes na matriz de guaraná, pode-se observar que as interações entre a cafeína, a matriz sólida e os

demais componentes são determinantes no que diz respeito às taxas de extração e seletividades do alcalóide.

Os efeitos das variáveis termodinâmicas em misturas multicomponentes de matrizes vegetais, onde a complexidade não é somente retratada pelo maior número de componentes envolvidos, mas também pela presença da matriz na qual se encontram componentes em estado livre e estruturado quimicamente com outros componentes, tornam complexa a análise dos fenômenos que determinam as taxas de extração e seletividades dos componentes.

Capítulo 6

CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES

Neste capítulo são descritas as principais conclusões obtidas neste projeto de pesquisa e também estão delineadas as sugestões para futuros trabalhos que possam contribuir às respostas das questões levantadas no decorrer desta pesquisa.

6.1. Conclusões

❖ Através dos dados obtidos para a solubilidade de cafeína pura, em misturas contendo dióxido de carbono supercrítico e co-solventes, observa-se que:

- A solubilidade da cafeína aumenta com o aumento da pressão em uma mesma temperatura para todas as isotermas estudadas, devido ao aumento da densidade e consequente incremento das interações físicas soluto-solvente.
- A solubilidade da cafeína aumenta com o aumento da quantidade de co-solventes alcoólicos adicionada ao dióxido de carbono supercrítico, em razão do aumento das interações químicas, com por exemplo a formação de pontes de hidrogênio entre o soluto e o solvente.
- Nas pressões mais elevadas, a solubilidade da cafeína aumenta com o aumento da temperatura. Nas pressões mais baixas, a solubilidade da cafeína diminui com o aumento da temperatura, caracterizando o aparecimento de uma região de comportamento retrógrado, próximo aos pontos críticos das misturas. A Pressão de Cruzamento Superior, que caracteriza o final da região de comportamento retrógrado, aumenta com o aumento da quantidade de co-solvente nas misturas supercríticas, devido ao deslocamento do ponto crítico de mistura com o aumento da quantidade de co-solvente.
- O uso do etanol como co-solvente é mais eficiente para aumentar a solubilidade da cafeína, quando comparado com o uso da mesma quantidade (em massa) de isopropanol como co-solvente. Este fato pode ser atribuído a dois possíveis

fatores: i) a maior quantidade de hidroxilas presentes, possibilitando uma maior interação química soluto/solvente, no sistema etanol/CO₂/caféina em comparação ao sistema isopropanol/CO₂/caféina e ii) ao maior impedimento estérico para a formação do complexo de solvatação soluto-solvente da molécula de isopropanol em relação ao etanol.

- O efeito de co-solvente, representado pela razão entre a solubilidade do soluto no fluido supercrítico contendo co-solvente e a solubilidade do soluto no solvente supercrítico puro nas mesmas condições de temperatura e pressão, diminui com o aumento da pressão nas misturas contendo 10% de etanol. Este pode ser atribuído a maior proximidade do ponto crítico de mistura nas menores pressões e consequentemente a um aumento do tamanho do *cluster* de solvatação, o que aumenta as forças de interação soluto-solvente.

❖ Através dos dados obtidos para a extração de caféina, a partir das sementes torradas e moídas de guaraná, com misturas contendo dióxido de carbono supercrítico e co-solventes, observa-se que:

- Todas as curvas de extração obtidas, da quantidade de caféina extraída em função da quantidade de solvente supercrítico utilizado, apresentam três regiões distintas: A região do primeiro período de extração, caracterizada por uma taxa de extração mais alta, quando o soluto facilmente acessível (na superfície das partículas) é extraído; a região de desaceleração da taxa de extração e, finalmente, a região do segundo período de extração, caracterizada por taxas menores de extração (uma ordem de grandeza menor), controlada pela difusão no interior das partículas da matriz sólida.
- O diâmetro das partículas da matriz sólida influencia na duração de cada período de extração. Os maiores rendimentos foram obtidos para as curvas que apresentaram maior duração do primeiro período de extração. Os rendimentos das extrações aumentaram com a diminuição do diâmetro de partícula e consequente aumento da área superficial do leito (maior fração de soluto acessível), porém para diâmetros de partículas menores que 180 µm, a taxa de extração diminui com o

decréscimo do diâmetro de partícula. Este fato pode ser atribuído à formação de agregados destas partículas finas, o que aumenta a resistência à transferência de massa.

- Semelhante aos resultados obtidos para a solubilidade de cafeína pura, os rendimentos das extrações de cafeína, a partir das sementes de guaraná, aumentaram com o incremento da quantidade de co-solvente. Quando são comparadas as misturas contendo a mesma quantidade de etanol e isopropanol, o uso do etanol é mais eficiente na extração da cafeína, pelas mesmas razões apresentadas anteriormente para a solubilidade de cafeína pura.
- Através das curvas de extração obtidas, para os três co-solventes utilizados, os rendimentos da extração da cafeína, bem como as taxas do primeiro e do segundo período de extração, aumentam com o incremento da temperatura e com a diminuição da pressão. Nas condições operacionais consideradas neste trabalho, este fato pode ser relacionado com os fenômenos de transferência de massa no leito e com a seletividade das misturas supercríticas para a extração da cafeína em relação a outros componentes presentes na matriz de guaraná.
- O maior rendimento para a extração da cafeína foi obtido quando se utilizou pressão de 17,9 MPa, temperatura de 70 °C, 10% de etanol como co-solvente e diâmetro de partícula de 180 µm.

❖ Através da determinação do teor de fenóis totais contido nos extratos dos experimentos de extração, observa-se que:

- As curvas de extração de fenóis totais apresentaram os mesmos comportamentos identificados para a extração da cafeína. Os rendimentos aumentaram com o aumento da temperatura, com a diminuição da pressão e com o aumento da quantidade de co-solvente utilizado.
- Em relação ao tipo de co-solvente, o uso de etanol como co-solvente é mais eficiente para a extração de fenóis a partir das sementes torradas e moídas de

guaraná, quando comparado com a mesma quantidade de isopropanol como co-solvente.

- O incremento da quantidade de co-solvente diminui a seletividade para a extração de cafeína em relação à quantidade de fenóis totais presente nos extratos.

6.2. Recomendações

❖ Em face da complexidade da extração de substâncias a partir de sistemas complexos multicomponentes com fluidos supercrítico, o desenvolvimento de novos trabalhos que possam contemplar os mecanismos que influenciam nas taxas de extração destes componentes são necessários.

❖ Na extração de componentes sólidos, encontrados em baixas concentrações nos produtos vegetais, como é o caso da extração de cafeína a partir de matrizes como os grãos de café (Saldaña, 1997), as folhas de mate (Saldaña, 2000) e sementes de guaraná, mecanismos como a dessorção dos componentes da matriz são determinantes no curso da extração, seletividades e rendimentos alcançados. Outros efeitos, no que diz respeito à interações entre os componentes e os fluidos supercríticos (solvente/co-solvente) e interações em os diversos componentes presentes na matriz vegetal, influenciam no curso da extração.

❖ Para uma melhor avaliação e entendimento destes sistemas complexos, estudos que visem o desacoplamento destes efeitos podem ser efetuados:

- No caso da extração de solutos a partir das sementes moídas de guaraná, sistemas modelos podem ser montados para explorar as interações entre os componentes e os fluidos supercríticos, como por exemplo: cafeína, taninos e outros componentes presentes nas sementes de guaraná. Uma avaliação completa sobre as solubilidades destes compostos, quando em mistura, pode ser de grande valia para a determinação da extração destes compostos a partir do produto natural.

- Um outro estudo importante, deve ser feito sobre as interações soluto-matriz sólida, como proposto por Bjorklund *et al.* (1998), para a extração da cledivipina suportada em diversas matrizes sólidas. No caso do guaraná pode-se avaliar as interações entre a cafeína e constituintes da estrutura das sementes de guaraná como a celulose, fibras vegetais e amido.

❖ Na literatura, poucos trabalhos têm sido publicados a respeito de misturas multicomponentes. Em contrapartida um número maior de estudos sobre a solubilidade de misturas binárias de sólidos podem ser encontrados, apontando a importância das interações entre os sólidos no processo de extração utilizando fluidos supercríticos. Um estudo sistemático com sistemas multicomponentes poderá vir a ser de grande importância para a predição de comportamentos nos processo de extração de misturas complexas de produtos naturais com fluido supercrítico.

❖ Só com o conhecimento dos mecanismos das interações soluto-soluto; soluto-solvente; soluto-co-solvente e soluto-matriz vegetal seria possível o desenvolvimento de modelos matemáticos capazes de prever comportamentos da extração de sólidos em misturas multicomponentes a partir de produtos naturais.

BIBLIOGRAFIA

- ANGUS, S. B. A.; DEREUCK, K.M. (eds). International Thermodynamic Tables of the Fluid State: Carbon Dioxide. Pergamon Press. Oxford, Inglaterra, 1976.
- ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução - CNNPA nº 12, de 1978 D.O. de 24/07/1978. Guaraná. http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/12_78.pdf. v. 31/05/2004.
- ARONOVITCH, R.B. Considerações sobre o guaranazeiro; guaraná (*Paullinia sorbilis* - *Paullinia cupana*) sapindacea do Brasil. *R. Farm. Bioquim. Amaz.*, Belém, 2(2):20-1, jan./fev. 1969.
- ASHIHARA, H.; CROZIER, A. Caffeine: a well known but little mentioned compound in plant science. *TRENDS in Plant Science*, 6(9), 407-413, 2001.
- ATROCH, A. Guaraná: clones para uma produção maior. *Pesquisa Fapesp – Linha de Produção*, 59, 2000. <http://www.fapesp.br/linha59.htm>
- AZEVEDO, A.B.A.; KOPCAK, U.; MOHAMED, R.S. Supercritical fluid extraction of cupuaçu fat from fermented seeds. 4th Brazilian Meeting on Supercritical Fluids – EBFS 2001. Salvador, october 9 - 11, 2001.
- BAYSAL, T.; STARMANS, D. A. J. Supercritical carbon dioxide extraction of carvone and limonene from caraway seed. *Journal of Supercritical Fluids*, 14, 225-234, 1999.
- BECKSTROM-STERBERG, S. M.; JAMES, A. D. The Phytochemical Database <http://ars-genome.cornell.edu/cgi-in/WebAce/webace?db=phytochemdb>. (Versão: Júlio de 1994).
- BENTLEY, K. W. The Chemistry of Natural Products; A Series of texts on the constitution of natural products. The Alkaloids, Volume I-II, 2ª Edição, EUA, 1966.

-
- BERNA, A.; CHÁFER, A.; MONTÓN, J.B. High-Pressure Solubility Data of the System Reveratrol (3) + Ethanol (2) + CO₂ (1). *Journal of Supercritical Fluids*, 19, 133-139, 2001.
- BJÖRKLUND, E.; JÄREMO, M.; MATHIASON, L.; JÖNSSON, J.A.; KARLSSON, L. Illustration of Important Mechanisms Controlling Mass Transfer in Supercritical Fluid Extraction. *Analitica Chimica Acta*, 368, 117-128, 1998.
- BJÖRKLUND, E.; BØWADT, S.; M.; MATHIASON, L.; HAWTHORNE, S.B. Determining sorption/desorption behavior on sediments using selective supercritical fluid extraction. Desorption from historically contaminated samples. *Environ. Sci. Technol.*, 33, 2193-2203, 1999.
- BOTHE, H.; CAMMENGA, H.K. Phase transition and thermodynamic properties of anhydrous caffeine. *Journal of Thermal Analysis*, 16, 267-275, 1979.
- BRENNECKE, J.F.; TOMASKO, D.L.; PESHKIN, J.; ECKERT, C.A. Fluorescence Spectroscopy Studies of Dilute Supercritical Solutions. *Ind. Eng. Chem. Res.*, 29, 1682, 1990.
- BRUNETTI, M.L.; DAGHETTA, A.; ZANDERIGHI, A. Tecnologie di Estrazione con Fluidi Supercritici. *Industrie Alimentari*, Julio-Agosto, p. 593-603, 1985.
- CHIMOWITZ, E. H. AND PENNISI, K. J. Process Synthesis Concepts for Supercritical Gas Extraction in the Crossover Region. *AIChE Journal*, 32(10), 1665-1676, 1986.
- CLIFFORD, T. *Fundamentals of Supercritical Fluids*. Published by the Oxford University Press, Inglaterra, 1998.
- COCERO, M.J.; GARCIA, J. Mathematical Model of Supercritical Extraction Applied to Oil Seeds Extraction by CO₂ + Saturated Alcohol – I Desorption Model. *Journal of Supercritical Fluids*, 20, 229-243, 2001a.
- COCERO, M.J.; GARCIA, J. Mathematical Model of Supercritical Extraction Applied to Oil Seeds Extraction by CO₂ + Saturated Alcohol – II Shortcut Methods. *Journal of Supercritical Fluids*, 20, 245-255, 2001b.

- DE LOOS, T. W., POOT, W., DIEPEN, G. A. M. Fluid phase equilibrium in the system polyethylene+ethylene I. Systems of linear polyethylene+ethylene at high pressure. *Macromolecules* 16(1), 111-117, 1983.
- DEBENEDETTI, P. G.; MOHAMED, R. S. Attractive, Weakly Attractive and Repulsive Near-Critical Systems. *J. Chem. Phys.*, 90, 4528-4536, 1988.
- DEBENEDETTI, P. G.; PESTCHE, I. B.; MOHAMED, R. S. Clustering in Supercritical Mixtures: Theory, Applications and Simulations. *Fluid Phase Equilibria*, 52, 347-356, 1989.
- DOBBS, J.M.; WONG, J.M.; JOHNSTON, K.P. Nonpolar co-solvents for solubility enhancement in supercritical fluids. *J. Chem. Eng. Data*, 31, 303-308, 1986.
- DUKE, JAMES A. Handbook of phytochemical constituents of GRAS herbs and other economic plants. CRC Press, Boca Raton, Flórida, EUA, 1992.
- EBELING, H.; FRANCK, E.U. Spectroscopic determination of caffeine solubility in supercritical carbon dioxide. *Ber. Bunsenges Phys. Chem.*, 88, 862-865, 1984.
- ESPINOLA, E.B.; DIAS, R.F.; MATTEI, R.; CARLINI, E.A. Pharmacological activity of guaraná (*Paullinia cupana* Mart.) in laboratory animals. *Journal of Ethnopharmacology*, 55, 223-239, 1997.
- EVANS, S.M.; GRIFFITHS, R.R. Caffeine withdrawal: a parametric analysis of caffeine dosing conditions. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 289(1), 285-294, 1999.
- FIEAM – Federação da Indústria do Estado do Amazonas. Investimentos no Amazonas – Guaraná. <http://www.fieam.org.br/invest/guarana.htm>. (Versão junho de 2002)
- FLOTTER, E., DE LOOS, T.W., ARONS, J.D. High pressure solid-fluid and vapour-liquid equilibria in the system (methane plus tetracosane), *Fluid Phase Equilibria* 127(1-2), 129-146, 1997.
- FOSTER, N.R.; GURDIAL, G.S.; YUN, J.S.L. Significance of the crossover pressure in solid supercritical fluid phase-equilibria. *Ind. Eng. Chem. Res.*, 30(2): 235-248, 1991.

- GONZÁLEZ, F. H. D. Introdução a Endocrinologia Reprodutiva Veterinária - características dos hormônios. (2002). www.ufrgs.br/favet/bioquimica/posgrad/
- GRIFFITHS, R.R.; WOODSON, P.P. Caffeine physical dependence: a review of human and laboratory animal studies. *Psychopharmacology*, 94(4), 437-451, 1988.
- GURDIAL, G.S.; FOSTER, N.R.; YUN, S.L.J. The Critical Loci of Binary Polar and Non-Polar Organic Compounds-CO₂ System at Low Solute Concentration. Presented at the Second International Conference on Supercritical Fluids, Boston, MA, 1991a.
- GURDIAL, G.S.; FOSTER, N.R.; YUN, S.L.J.; TING, S.S.T. P-T-x Diagrams in the Critical Region of Binary Polar and Non-Polar Organic Compounds-CO₂ System at Low Solute Concentration. Presented at the Nineteenth Australasian Chemical Engineering Conference (CHEMECA) '91, Newcastle, New South Wales, 1991b.
- GURDIAL, G.S.; MACNAUGHTON, S.J.; TOMASKO, D.L.; FOSTER, N.R. Influence of Chemical Modifiers on the Solubility of o- and m-Hydroxybenzoic Acid in Supercritical CO₂. *Ind. Chem. Eng. Res.* 32, 1482, 1993.
- HADOLIM, M.; SKERGET, M.; KNEZ, Z.; BAUMAN, D. High pressure extraction of vitamin E-rich oil from *Silybum marianum*. *Food Chemistry*, 74, 335-364, 2001.
- HEDRICK, J.L., MULCAHEY, L.J. AND TAYLOR, L.T. Fundamental Review: Supercritical Fluid Extraction. *Mikrochim Acta*, 108, 115-132, 1992.
- HENMAN, A. Vida Natural: O guaraná. Global Editora e Distribuidora Ltda., Rio de Janeiro, 1986, 77 p.
- HOMMA, A. "Biopirataria na Amazônia: Ainda É Tempo Para Salvar?" Apresentado na Audiência Pública do dia 16 de setembro de 1997, na Câmara dos Deputados da república Federativa do Brasil.
- HONG, T., ZHILAN, M., LIJUN, L. Alkaloid extraction from plants with liquid membranes. *Water Treatment*, 5, 214-221, 1990.
- HUGHES, J.R. Caffeine withdrawal, dependence, and abuse. In: Widiger, T.A. et al. DSM-IV Sourcebook. American Psychiatric Association, Washington, DC, EUA, 1994.

-
- IBGE. Levantamento sistemático da produção agrícola – Guaraná. 1994-1998
<http://www.ibge.gov.br/>. Versão out/2001
- JOHANNSEN, M. AND BRUNNER, G. Solubility of the Xanthines Caffeine, Theophylline and Theobromine in Supercritical Carbon Dioxide. *Fluid Phase Equilibria*, v. 95, p. 215-226, 1994.
- KE, J.; MAO, C.; ZHONG, M.; HAN, B.; YAN, H. Solubilities of Salicylic Acids in Supercritical Carbon Dioxide with Ethanol Cosolvent. *The Journal of Supercritical Fluids*, 9, 82-87, 1996.
- KING, C. J. The Utility of Chemical Engineering Principles in Coffe Processing Technology. in Colloque International Sur La Chimie Des Cafés Verts, Torréfiés et Leurs Dérivés. *Association Scientifique Internacionale du café*, P 237-250 Paris, França, 1980.
- KOPCAK, U.; DE AZEVEDO, A.B.A.; MOHAMED, R.S. Mathematical modeling of supercritical extraction of fat from cupuaçu seeds. 4th Brazilian Meeting on Supercritical Fluids – EBFS 2001. Salvador, october 9 - 11, 2001.
- KRUKONIS, V.J.; KURNIK, R.T. Solubility of the solid aromatic isomers in carbon dioxide. *J. Chem. Eng. Data*, 30, 247, 1985.
- KURNIK, R.T., HOLLA, S.J. AND REID, R.C. Solubility of solids in supercritical carbon dioxide and ethylene. *Journal of Chem. Eng. Data* 26(1), 47-51, 1981.
- KURNIK, R.T.; REID, R.C. Solubility of solids mixtures in supercritical fluids. *Fluid Phase Equilibria*, 8, 93, 1982.
- LACK, E.; SEIDLITZ, H. Decaffeination commercial scale of coffee and tea using supercritical CO₂. In King, M.B. e Bott, T.R.. *Extraction of Natural Products Using Near-Critical Solvents*. School of Chemical Engineering, University of Birmingham, Bodmin, Grã-Bretanha, 1993, pp. 101-140.

- LENTZ, H., GEHRIG, M., AND SCHULMEYER, J. Dynamic solubility measurements of caffeine in carbon dioxide and in carbon dioxide saturated with water. *Phys. B*, v. 139/140, 1986, p. 70-72.
- LI, S.; HARTLAND, S. Influence of Co-Solvents on Solubility and Selectivity in Extraction of Xanthines and Cocoa Butter from cocoa beans with Supercritical Carbon. *J. Supercritical Fluids*, 5, 7-12, 1992.
- LI, S., VARADARAJAN, G.S. AND HARTLAND S.A., Solubilities of Theobromine and Caffeine in Supercritical Carbon Dioxide: Correlation with Density-based Models, *Fluid Phase Equilibria*, 68, 263-280, 1991.
- LIBERMANN, H.; WURTMAN, R.J.; EMDE, G.G.; ROBERTS, C.; COVIELLA, I.L.G. The effects of low doses of caffeine on human performance and mood. *Psychopharmacology*, 308-312, 1987.
- LIEDTKE, U.; LENTZ, H. The solubility of caffeine in ammonia, *Ber. Bunsenges Phys. Chem.*, 88, 921, 1984.
- LUCIEN, F. P.; FOSTER, N. R. Solubilities of solid mixtures in supercritical carbon dioxide: a review. *Journal of Supercritical Fluids*, 17(2), 111-134, 2000.
- LUCIEN, F. P.; FOSTER, N. R. Influence of matrix composition on the solubility of hydroxybenzoic acid isomers in supercritical carbon dioxide. *Ind. Eng. Chem. Res.*, 35, 4686, 1996.
- MARTIN, A.; PARUTA, A. N.; ADJEI, A. Extended Hildebrand solubility approach: methylxantines in mixed solvents. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 70(10), 1115-1120, 1981.
- MATTEL, R.; DIAS, R.F.; ESPINOLA, E.B.; CARLINI, E.A.; BARROS, S.B. Guaraná (*Paullinia cupana*): toxic behavioral effects in laboratory animals and antioxidants activity in vitro. *J Ethnopharmacol.*, 60(2), 111-116. 1998
- McHUGH, M.A.; KRUKONIS, V. J. *Supercritical Fluid Extraction: Principles and Practice*. Butterworths Publishers, Boston, EUA, 1986, pp. 69-78.

-
- McKILLOP, A. An Introduction to the Chemistry of the Alkaloids. Butterworths Editores, Londres, Inglaterra, 1970, pp. 1- 41.
- MEHR, C.B.; BISWAL, R.N.; COLLINS, J.L. Supercritical carbon dioxide extraction of caffeine from guaraná. *The Journal of Supercritical Fluids*, 9, 185-191, 1996.
- MENDONÇA, C.J.S. Alcalóides pirrolizidínicos em plantas de brasileiras de interesse alimentar e medicinal: identificação e toxicologia. Tese de Doutorado, FEA-UNICAMP, 2001.
- NEVES, B. M. *Solubilidade do Colesterol e do Óleo de Manteiga em Dióxido de Carbono Supercrítico*, Tese de Mestrado, Engenharia Química, Unicamp, 1996.
- NGUYEN, A. M.; MARRIOTT, P.J.; HUGHES, J. Supercritical-fluid extraction of synthetic pyrethroids from wool. *J. Biochem. Biophys. Methods*, 43, 411-429, 2000.
- PELLETIER, S. W. Research in the Chemistry of Diterpenoid Alkaloids. *Pure and Applied Chemistry*, 69(1), 119-124, 1997.
- PETERS, C. J. Phase Behaviour of binary mixtures of ethane + n-eicosane and statistical mechanical treatment of fluid phases. PhD thesis, Delft University, Holanda, 1986.
- PHELPS, C. L.; WAL, C. M.; SMART, N.G. Past, Present and Possible Future Applications of Supercritical Fluid Extraction Technology. *J. Chem. Ed.*, 73, 1671, 1996.
- PIETSCH, A. AND EGGERS, R. The mixer-setter principle as a separation unit in supercritical fluid processes. *Jornal of Supercritical Fluids*, 1999, 14, 163-171.
- QMCWEB, número 22, 2000: Artigo sobre a cafeína. Disponível em: <http://www.quimica.matrix.com.br/artigos/cafeina.html>.
- REDE DE ATENÇÃO AO ABUSO DE DROGAS. A cafeína. <http://www.prodham.sp.gov.br/sms/drogas/cafeina.htm>. (Versão 2000)
- RIESELDMANN, B.; ROSENBAUM, F.; ROSCHER, S.; SCHNEIDER, V. Fatal caffeine intoxication. *Forensic Science International*, 103, S49-S52, 1999.

- RIZVI, S.S.H.; BENADO, A.L.; ZOLLWEG, J.A.; DANIELS, J.A. Supercritical Fluid Extraction: Fundamental Principles e Modelling Methods. *Food Technology*, February, 55-65, 1986.
- ROGERS, P. J.; DERNONCOURT, C. Regular caffeine consumption: A balance of adverse and beneficial effects for mood and psychomotor performance. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 59(4), 1039-1045, 1998.
- SALDAÑA, M. D. A. Extração de cafeína, trigonelina e ácido clorogênico de café com CO₂ supercrítico. Dissertação de Mestrado, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, Brasil, 1997.
- SALDAÑA, M. D. A. Extração de alcalóides de produtos naturais com fluidos supercrítico. Tese de Doutorado, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, Brasil, 2002.
- SALDAÑA, M. D. A., MAZZAFERA, P. AND MOHAMED, R. S. Extraction of caffeine, trigonelline and chlorogenic acid from brazilian coffee beans with supercritical fluids, The 4th International Symposium on Supercritical Fluids, May 11-14, Sendai, Japan, 1997, p. 219-222.
- SALDAÑA, M.D.A.; KOPCAK, U.; MOHAMED, R.S. Extraction of cocoa butter from cocoa beans using supercritical CO₂ and ethane: experiment and model. 4th Brazilian Meeting on Supercritical Fluids – EBFS 2001. Salvador, october 9 - 11, 2001.
- SALDAÑA, M.D.A.; ZETZL, C.; MOHAMED, R.S.; BRUNNER, G. Decaffeination of guaraná seeds in a microextraction column using water-saturated CO₂. *Journal of Supercritical Fluids*, 22, 119-127, 2002.
- SANDLER, S. Chemical and Engineering Thermodynamics. Jonh Wiley & Sons (Ed.), 2^a edição, NY, USA, 1989, p. 139.
- SCHAEFFER, S.T.; ZALKOW, L.H.; TEJA, A.S. Solubility of monocrolatine in supercritical carbon dioxide and carbon dioxide-ethanol mixtures. *Fluid Phase Equilibria*, 43, 45-46, 1988.

-
- SCHERECK, J. O. *Organic Chemistry Concepts and Applications*. The C.V. Mosby Company copyright, EUA, 259-327, 1975.
- SIVETZ, M. Coffee and its influence on Consumers: Physiological Effects and Caffeine. IN: Sivets, M. and Desroisier, N.W. Eds. *Coffee Technology*. Westport, AVI publishing. 1979; pp. 575-621
- SOCANTAYPE, F. H.; Remoção do Colesterol e Fracionamento do Óleo de Manteiga com Etano Supercrítico; Tese de Mestrado; Engenharia Química; Unicamp; 1996.
- SOVOVÁ, H. R.; KUCERA, J.; JEZ, J. Rate of the vegetable oil extraction with supercritical CO₂-II. Extraction of grape oil. *Chemical Engineering Science*, 49(3), 415-420, 1994.
- SOVOVÁ, H. Rate of the vegetable oil extraction with supercritical CO₂-I. Modeling of extraction curves. *Chemical Engineering Science*, 49(3), 409-414, 1994.
- STAHL, E. AND SCHILZ, W. Mikroanalytische Untersuchungen zur Löslichkeit in überkritischem Kohlendioxid. *Talanta*, 26, 675-679, 1979.
- STRAIN, E.C.; MUMFORD, G.K.; SILVERMAN, K.; GRIFFITHS, R.R. Caffeine dependence syndrome. Evidence from case histories and experimental evaluations. *JAMA*, 272(13), 1043-1048, 1994.
- SWAIN, T.; HILLIS, W.E. The phenolic constituents of *Prunus domestica*. I. The quantitative analysis of phenolic constituents. *J. Sci. Food Agric.* 10, 63-68, 1959.
- TEZEL, H. A.; HORTAÇSU, Ö. Multi-Component Models for Seed and Essential Oil Extractions. *Journal of Supercritical Fluids*, 19, 3-17, 2000.
- THE GUARANÁ HOME PAGE. O Guaraná. Versão 2001
<http://www.cpaembrapa.br/produto/guarana/docs/oque.html>.
- TING, S.S.T.; MACNAUGHTON, S.J.; TOMASKO, D.L. AND FOSTER, N.R. Solubility of Naproxen in Supercritical Carbon Dioxide with and without Cosolvents. *Ind. Eng. Chem. Res.* 32, 1471-1481, 1993 a.

- TING, S.S.T.; TOMASKO, D.L.; MACNAUGHTON, S.J.; FOSTER, N.R. Chemical-Physical Interpretation of Cosolvents Effects in Supercritical Fluids. *Ind. Eng. Chem. Res.* 32, 1482-1487, 1993 b.
- TUCKER, S. C. Solvent Density Inhomogeneities in Supercritical Fluids. *Chemical Reviews*, 99(2), 391, 1999.
- VAN LEER, R.A.; PAULAITIS, M.E. Solubilities of phenol and chlorinated phenols in supercritical carbon dioxide. *J. Chem. Eng. Data*, 25, 257, 1980.
- WINGROVE, A. S.; CARET, R.L. Química Orgânica. Editora Harla, 2ª Edição, Cap. 26, 1992, p.1306.
- YONKER, C. R.; SMITH, R. D. Solubilities of caffeine and theophylline in supercritical ammonia, *Fluid Phase Equilibria*, 22, 175-183. 1985.
- ZHONG, M.; HAN, B.; YAN, H.; PENG, D. Effect of ethanol and n-octane on solubility of stearic acid in the supercritical CO₂. *Fluid phase equilibria*, 134, 175-183, 1997.
- ZOSEL, K.; Descaffeinating Coffee; French Patent 2.079.261; December 17; 1971.

Apêndice A

A LENDA DO GUARANÁ

O antropólogo social Antony Henman, em seu livro "O GUARANÁ; sua cultura, propriedades, formas de preparação e uso", descreve a versão mais completa da história mítica do guaraná que foi publicada em 1954 por Nunes Pereira, em seu livro "Os Índios Maués":

A Lenda do Guaraná (O surgimento da tribo dos Maués)

"Antigamente, contam, existiam três irmãos: Ocumáató, Icuamã e Onhiámuáçabê. Onhiámuáçabê era dona do Noçoquem, um lugar encantado no qual ela havia plantado uma castanheira. A jovem não tinha marido; porém todos os animais da selva queria viver com ela. Os irmãos, ao mesmo tempo, a queriam sempre em sua companhia, porque era ela quem conhecia todas as plantas para preparar os remédios que precisavam. Uma cobrinha, conversando com outros animais, certa vez, disse que Onhiámuáçabê acabaria sendo sua espiliabê (esposa). Foi então espalhar pelo caminho por onde ela passava todos os dias um perfume que alegrava e seduzia. Quando Onhiámuáçabê passou pelo caminho, aspirando o perfume disse:

- Que perfume agradável!

A cobrinha, que estava próxima, disse a si mesma:

- Eu não dizia? Ela gosta de mim!

E, correndo, foi estirar-se mais adiante para esperar a moça. Ao passar ao seu lado, tocou-a, levemente, numa das pernas. E só isto bastou para que a moça ficasse prenhe, porque antigamente, uma mulher, para que isso acontecesse, bastava ser olhada por alguém, homem, animal, ou árvore, que a desejasse esposa. Porém os irmãos de Onhiámuáçabê não queriam que ela se casasse com gente, animal, ou árvore e que tivesse filhos, porque era ela quem conhecia todas as plantas para preparar os remédios. Por isto, quando a moça apareceu prenhe, os irmãos ficaram furiosos e falaram, falaram e falaram, dizendo que não queriam vê-la com filho.

Chegou o dia do nascimento da criança. A moça, depois do parto, no barracão feito por ela mesma, lavou a criança e tratou de criá-la. Era um menino bonito e forte; e cresceu forte e bonito até a idade de faté (falar). Logo que pôde falar, o menino desejou comer as mesmas frutas de que os tios gostavam. A moça contou ao filho que, antes de o sentir nas entranhas, plantara no Noçoquem uma castanheira, para que ele comesse os frutos, mas que os irmãos, expulsando-a da companhia deles, se apoderaram de Noçoquem e não o deixarão comer castanhas, além disso, os irmãos da moça tinham entregue o sítio à guarda da Cotia, da Arara e do Piriquito.

O menino, porém, continuou a pedir a Onhiámuáçabê, mãe dele, que lhe desse a comer as mesmas frutas que os seus tios comiam. Um dia então, Onhiámuáçabê, a moça, resolveu levar o filho ao Noçoquem para comer as castanhas. Assim, quando a Cotia, viu no chão, debaixo da castanheira, as cinzas de uma fogueira, onde haviam assado castanhas ela correu e foi contar o que vira aos irmãos da moça. Um deles disse que talvez a Cotia se enganasse, o outro disse que não podia ser verdade. Discutiram. E, afinal, resolveram mandar o Macaquinho-da-boca-roxa tomar conta da castanheira, para ver se aparecia gente por ali.

O menino que havia comido muitas castanhas e cada vez mais as cobiçava, já conhecendo o caminho do Noçoquem, tornou a ir lá no dia seguinte. Ora, os guardas no Noçoquem, que tinham ordens de matar a quem ali encontrasse, viram o menino subir às pressas na castanheira. E, estando próximos, bem próximos, ocultos por outras árvores, tudo observando, correram e foram esperá-lo debaixo da castanheira, armados com uma cordinha para decepar a cabeça do comedor de castanhas.

Dando pela falta do filho, a mulher já se havia posto a caminho para buscar ele, quando lhe ouviu os gritos. Correu na direção do filho, mas já o encontrou decepado nas mãos dos guardas. Arrancando cabelos, chorando e gritando sobre o cadáver do filho, a moça Onhiámuáçabê disse:

- Está bem, meu filho. Foram os seus tios que mandaram te matar. Eles pensavam que tu é um coitadinho, mas não ficarás.

Arrancou-lhe primeiro o olho esquerdo e plantou-o. A planta, porém, que nasceu desse olho não prestava; era a do falso guaraná. Arrancou-lhe, depois, o olho direito e

plantou-o. Desse olho nasceu o guaraná verdadeiro. E continuando a conversar com o filho, como se o sentisse vivo, foi anunciando:

- Tu, meu filho, tu serás a maior força da Natureza; tu farás o bem a todos os homens; tu serás grandes; tu livrarás os homens de uma moléstia e os curarás de outras.

Em seguida juntou todos os pedaços do corpo do filho. Mascou, mascou as folhas de uma planta mágica, lavou com sua saliva e o suco dessa planta o cadáver do filho e o enterrou. Cercou-lhe a sepultura com estacas e deixou um dos seus guardas de inteira confiança, vigiando-a. Recomendou a esse guarda, que era o Caraxué, que a fosse avisar, assim que ouvisse qualquer barulho saído da sepultura, pois ela saberia quem era. Passado alguns dias, o Caraxué, ouvindo barulho na sepultura, correu, e foi avisar Onhiámuáčabê. A moça veio, abriu o buraco da sepultura e de dentro dela saiu o macaco Quatá. Onhiámuáčabê soprou sobre o macaco Quatá e amaldiçoou-o: andaria sem repouso pelos matos. Fechou de novo a sepultura e lançou-lhe em cima o sumo das folhas da planta mágica com que lavara o cadáver. Dias depois o Caraxué foi avisá-la de que ouvira um barulho na sepultura do menino. A moça veio, abriu a sepultura e dele saiu o cachorro-domato, Caiarara. Ela soprou sobre ele e o amaldiçoou, para que ninguém o comesse. Fechou de novo a sepultura e foi embora. Dias depois o Caraxué foi avisar que ouvira barulho, de novo, dentro da sepultura. Onhiámuáčabê foi até lá; abriu o buraco da sepultura e dele saiu o porco Queixada, levando os dentes que deveriam caber a todos os maués e a todos os homens. Onhiámuáčabê expulsou também o porco Queixada. (à proporção que saía um bicho da sepultura do menino e era expulso, a planta do guaraná ia crescendo, crescendo. Passado alguns dias o Caraxué ouviu outro barulho na sepultura e foi avisar Onhiámuáčabê. Ela veio de novo, abriu a sepultura e dali saiu uma criança que foi o primeiro maué, origem da tribo. Esse menino era o filho de Onhiámuáčabê, que ressuscitara. Onhiámuáčabê agarrou-o, sentando-o nos joelhos. E pôs-lhe um dente na boca, feito de terra. Por isso nós, os maués, procedemos do cadáver e o nosso dente apodrece. A mulher foi lavando tudo, tudo, devagarinho, os pés, a barriga, os braços, o peito, a cabeça do menino com o sumo das folhas da planta mágica, que mastigara. Quando ela estava, entretida, fazendo isso com o filho, os seus irmãos chegaram, de repente e a obrigaram a deixar de lavar-lhe o corpo. Este é o motivo porque os maués não mudam de pele, como a cobra".

Apêndice B

RESULTADOS EXPERIMENTAIS

Neste apêndice estão apresentados todos os resultados experimentais obtidos neste projeto de pesquisa para a extração de componentes da matriz sólida de sementes torradas e moídas de guaraná com o uso de fluidos supercríticos. Inicialmente estão apresentados os resultados obtidos para a extração da cafeína, em seguida os resultados da determinação do teor de fenóis totais nos extratos são apresentados.

B.1. Extração da cafeína a partir das sementes de guaraná (*Paullinia cupana*) torradas e moídas, utilizando dióxido de carbono supercrítico - Tabelas de rendimento.

Tabela B.1- Rendimentos acumulados, obtidos para a extração de cafeína com dióxido de carbono supercrítico e 5% (em peso) de isopropanol como co-solvente, em função da quantidade de solvente utilizado. Massa inicial de cafeína nas corridas: 0,5784 g.

	Massa de solvente (g)	17,9 MPa			23,4,9 MPa			30,0 MPa		
		50 °C	60 °C	70 °C	50 °C	60 °C	70 °C	50 °C	60 °C	70 °C
1	76,0	0,013	0,021	0,045	0,064	0,046	0,027	0,017	0,025	0,041
2	152,1	0,027	0,039	0,110	0,109	0,072	0,049	0,032	0,045	0,078
3	228,1	0,037	0,052	0,153	0,141	0,090	0,064	0,042	0,061	0,106
4	304,1	0,044	0,062	0,189	0,160	0,104	0,076	0,050	0,073	0,125
5	380,2	0,049	0,069	0,214	0,175	0,114	0,083	0,056	0,082	0,142
6	456,2	0,054	0,076	0,233	0,188	0,121	0,089	0,060	0,089	0,154
7	532,2	0,058	0,080	0,245	0,197	0,127	0,094	0,064	0,096	0,163
8	608,3	0,062	0,085	0,256	0,206	0,133	0,100	0,067	0,101	0,170
9	684,3	0,065	0,089	0,264	0,212	0,136	0,104	0,069	0,104	0,176
10	760,3	0,068	0,092	0,270	0,217	0,141	0,108	0,073	0,106	0,178

Tabela B.2- Rendimentos acumulados, obtidos para a extração de cafeína com dióxido de carbono supercrítico e 5% (em peso) de etanol como co-solvente, em função da quantidade de solvente utilizado. Massa inicial de cafeína nas corridas: 0,5784 g.

	Massa de solvente (g)	17,9 MPa			23,4 MPa			30,0 MPa		
		50 °C	60 °C	70 °C	50 °C	60 °C	70 °C	50 °C	60 °C	70 °C
1	76,0	0,052	0,067	0,074	0,020	0,059	0,077	0,050	0,066	0,104
2	152,1	0,111	0,104	0,134	0,056	0,102	0,112	0,093	0,101	0,165
3	228,1	0,145	0,138	0,177	0,094	0,130	0,181	0,123	0,148	0,209
4	304,1	0,172	0,169	0,251	0,131	0,148	0,216	0,146	0,174	0,262
5	380,2	0,193	0,191	0,272	0,150	0,159	0,237	0,167	0,195	0,293
6	456,2	0,207	0,206	0,294	0,166	0,179	0,253	0,181	0,210	0,308
7	532,2	0,218	0,218	0,314	0,178	0,187	0,264	0,195	0,225	0,319
8	608,3	0,232	0,225	0,333	0,189	0,195	0,272	0,207	0,235	0,331
9	684,3	0,243	0,236	0,347	0,197	0,207	0,291	0,211	0,242	0,349
10	760,3	0,251	0,241	0,355	0,201	0,214	0,311	0,216	0,248	0,365

Tabela B.3- Rendimentos acumulados, obtidos para a extração de cafeína com dióxido de carbono supercrítico e 10% (em peso) de etanol como co-solvente, em função da quantidade de solvente utilizado. Massa inicial de cafeína nas corridas: 0,5874 g.

	Massa de solvente (g)	17,9 MPa			23,4,9 MPa			30,0 MPa		
		50 °C	60 °C	70 °C	50 °C	60 °C	70 °C	50 °C	60 °C	70 °C
1	80.3	0,050	0,085	0,209	0,061	0,163	0,166	0,062	0,125	0,127
2	152.1	0,080	0,145	0,361	0,116	0,297	0,310	0,113	0,213	0,206
3	240.8	0,110	0,195	0,462	0,157	0,377	0,395	0,149	0,262	0,262
4	321.0	0,131	0,229	0,526	0,185	0,457	0,441	0,176	0,296	0,298
5	401.3	0,146	0,252	0,557	0,207	0,495	0,472	0,198	0,318	0,323
6	481.5	0,158	0,271	0,582	0,224	0,523	0,491	0,215	0,337	0,344
7	561.8	0,173	0,285	0,608	0,238	0,542	0,506	0,231	0,351	0,359
8	642.1	0,180	0,296	0,625	0,261	0,555	0,517	0,241	0,360	0,371
9	722.3	0,189	0,306	0,643	0,270	0,566	0,525	0,242	0,368	0,381
10	802.6	0,196	0,314	0,650	0,277	0,576	0,536	0,247	0,374	0,389

B.2. Extração da cafeína a partir das sementes de guaraná (Paullinia cupana) torradas e moídas, utilizando dióxido de carbono supercrítico - Curvas de Extração em Função do Co-solvente.

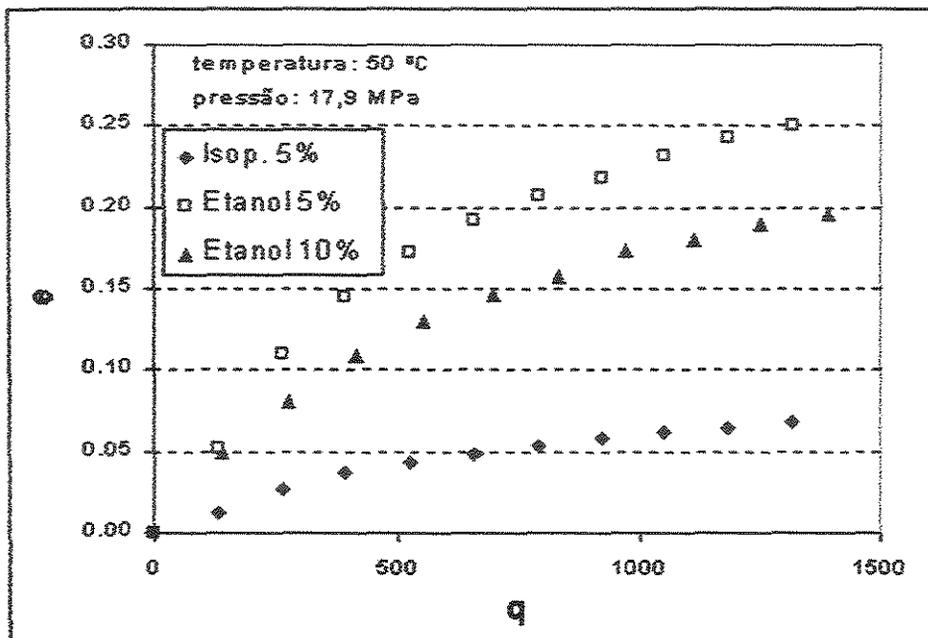


Figura B.1- Curvas de extração da cafeína utilizando dióxido de carbono supercrítico e co-solventes. Condições Experimentais: 50 °C e 17,9 MPa.

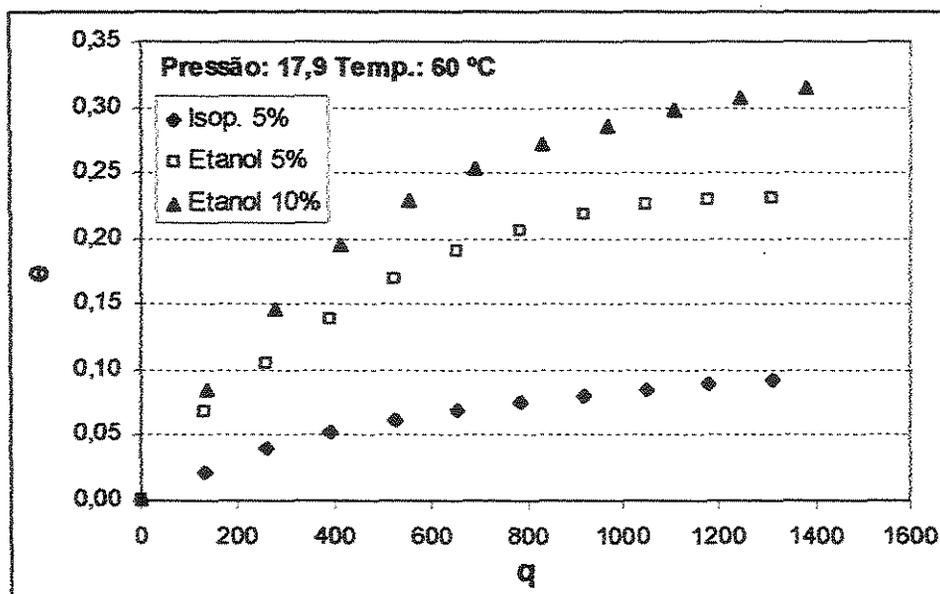


Figura B.2- Curvas de extração da cafeína utilizando dióxido de carbono supercrítico e co-solventes. Condições Experimentais: 60 °C e 17,9 MPa.

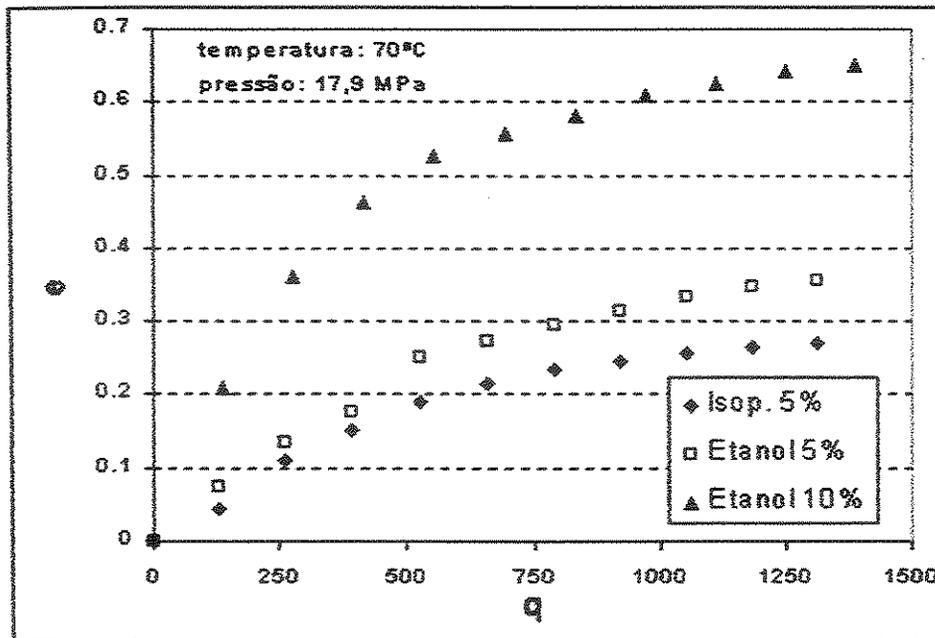


Figura B.3- Curvas de extração da cafeína utilizando dióxido de carbono supercrítico e co-solventes. Condições Experimentais: 70 °C e 17,9 MPa.

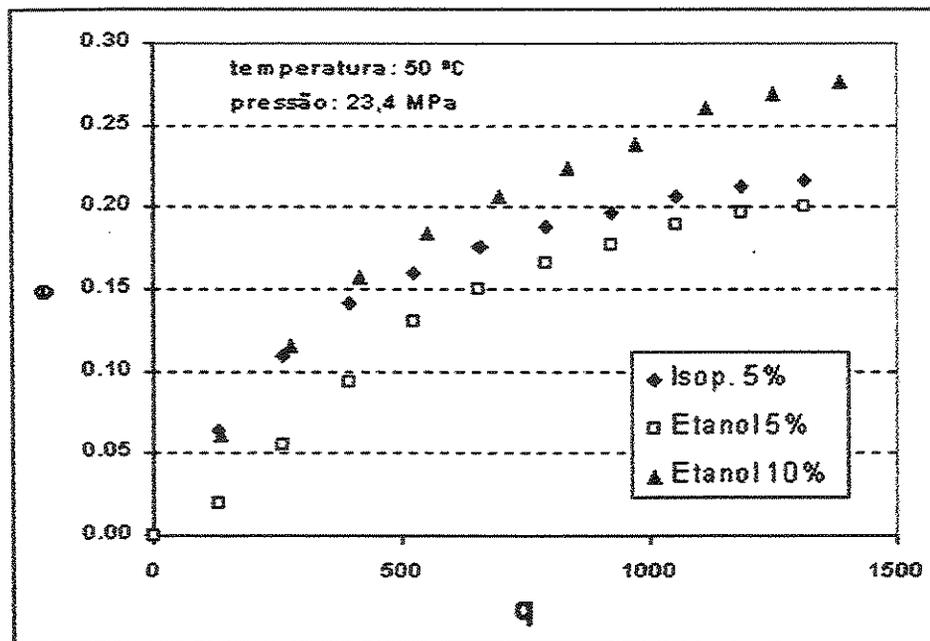


Figura B.4- Curvas de extração da cafeína utilizando dióxido de carbono supercrítico e co-solventes. Condições Experimentais: 50 °C e 23,4 MPa.

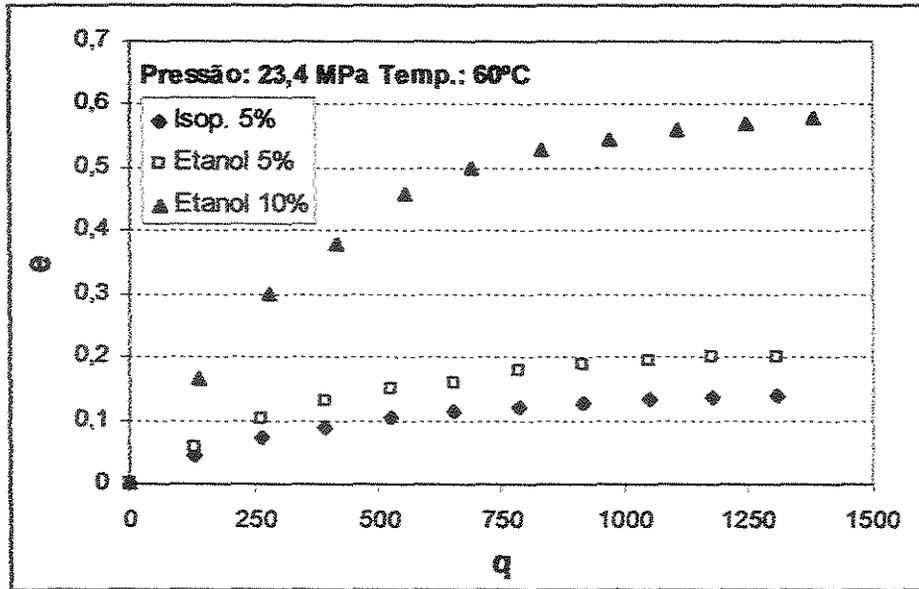


Figura B.5- Curvas de extração da cafeína utilizando dióxido de carbono supercrítico e co-solventes. Condições Experimentais: 60 °C e 23,4 MPa.

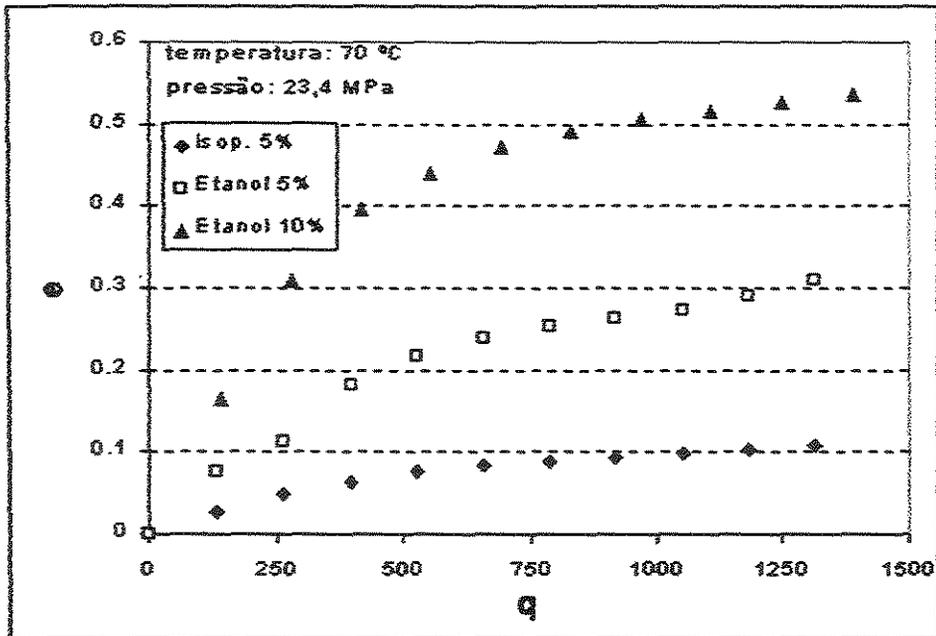


Figura B.6 - Curvas de extração da cafeína utilizando dióxido de carbono supercrítico e co-solventes. Condições Experimentais: 70 °C e 23,4 MPa.

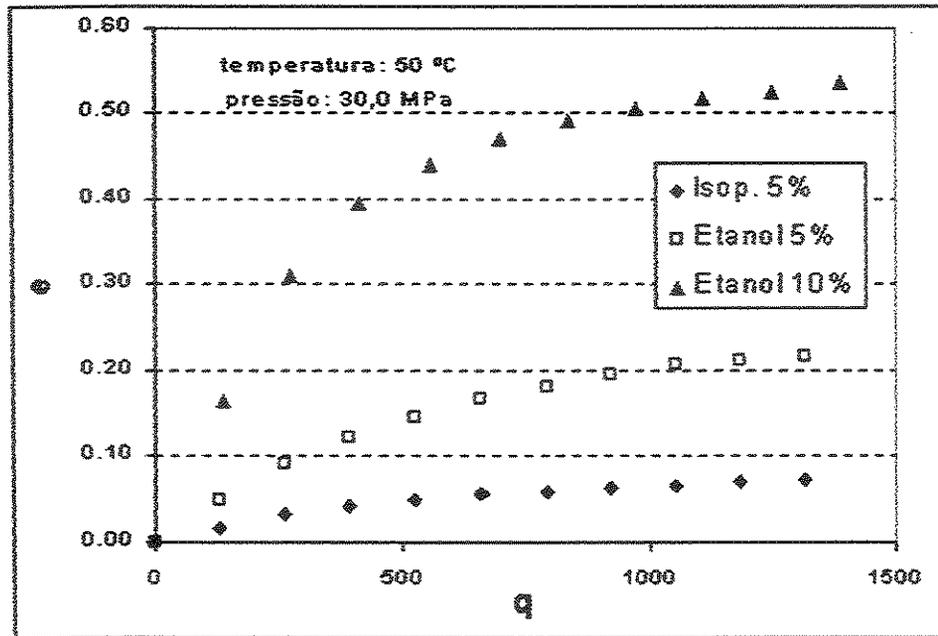


Figura B.7 - Curvas de extração da cafeína utilizando dióxido de carbono supercrítico e co-solventes. Condições Experimentais: 50 °C e 30,0 MPa.

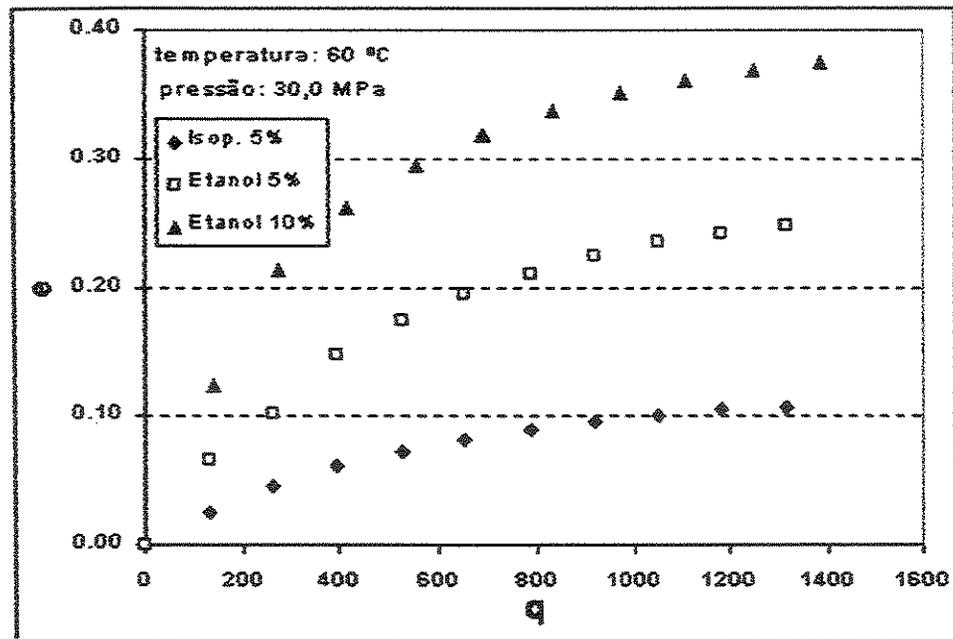


Figura B.8 - Curvas de extração da cafeína utilizando dióxido de carbono supercrítico e co-solventes. Condições Experimentais: 60 °C e 30,0 MPa.

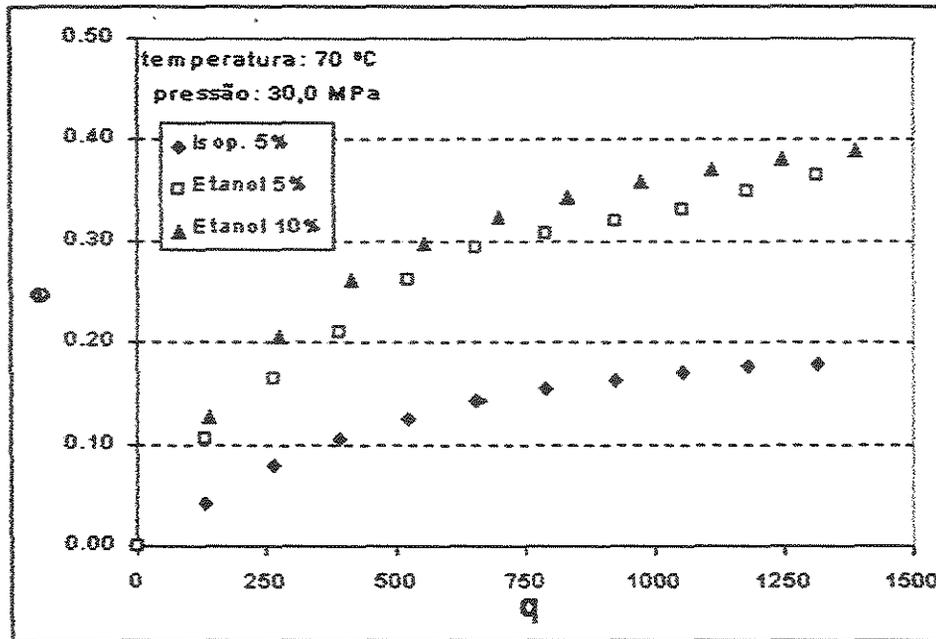


Figura B.9 - Curvas de extração da cafeína utilizando dióxido de carbono supercrítico e co-solventes. Condições Experimentais: 70 °C e 30,0 MPa.

B.3. Extração da cafeína a partir das sementes de guaraná (*Paullinia cupana*) torradas e moídas, utilizando dióxido de carbono supercrítico - Curvas de Extração em Função da Temperatura.

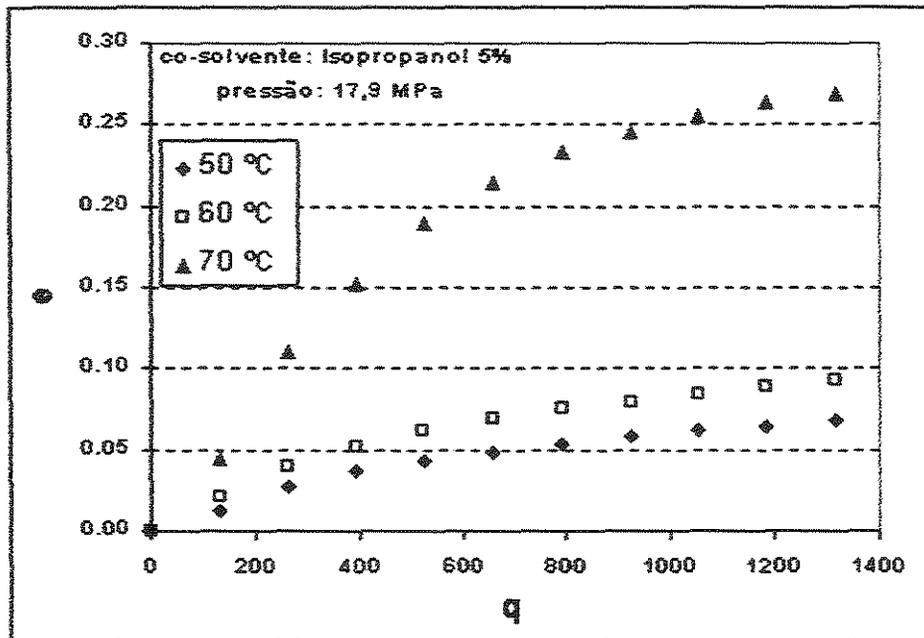


Figura B.10- Curvas de extração da cafeína utilizando dióxido de carbono supercrítico e 5% de isopropanol como co-solvente a 17,9 MPa.

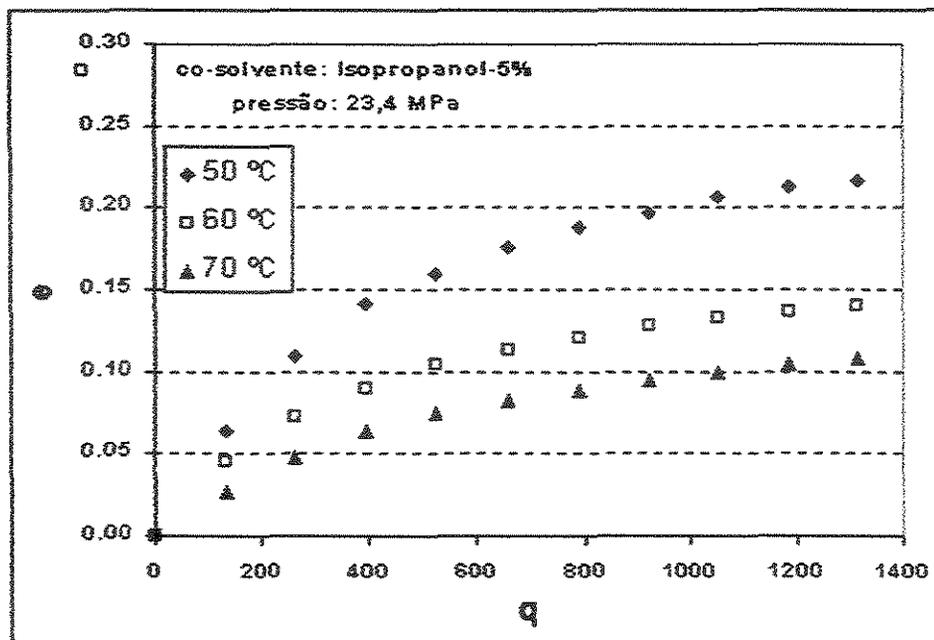


Figura B.11- Curvas de extração da cafeína utilizando dióxido de carbono supercrítico e 5% de isopropanol como co-solvente a 23,4 MPa.

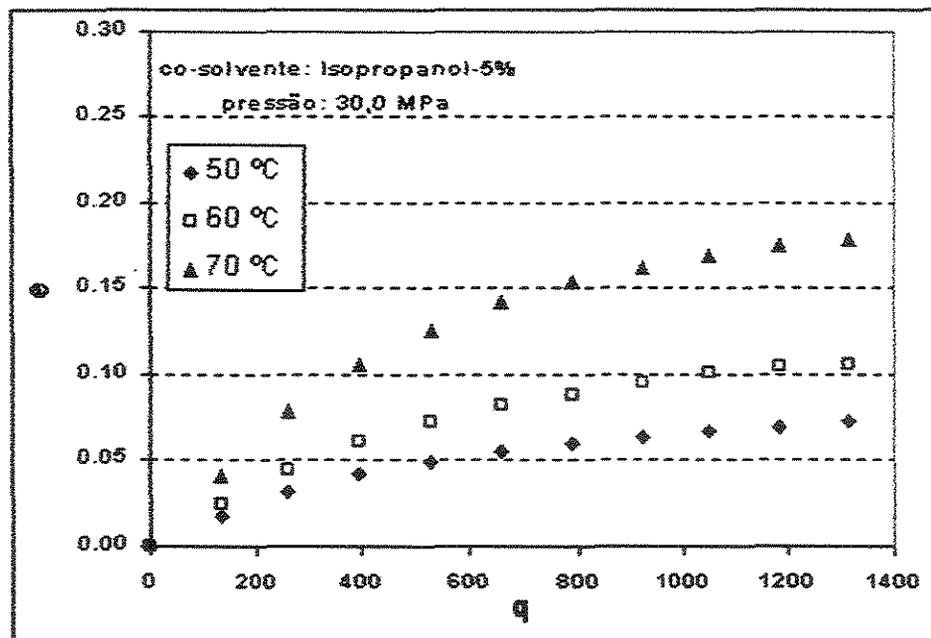


Figura B.12- Curvas de extração da cafeína utilizando dióxido de carbono supercrítico e 5% de isopropanol como co-solvente a 30,0 MPa.

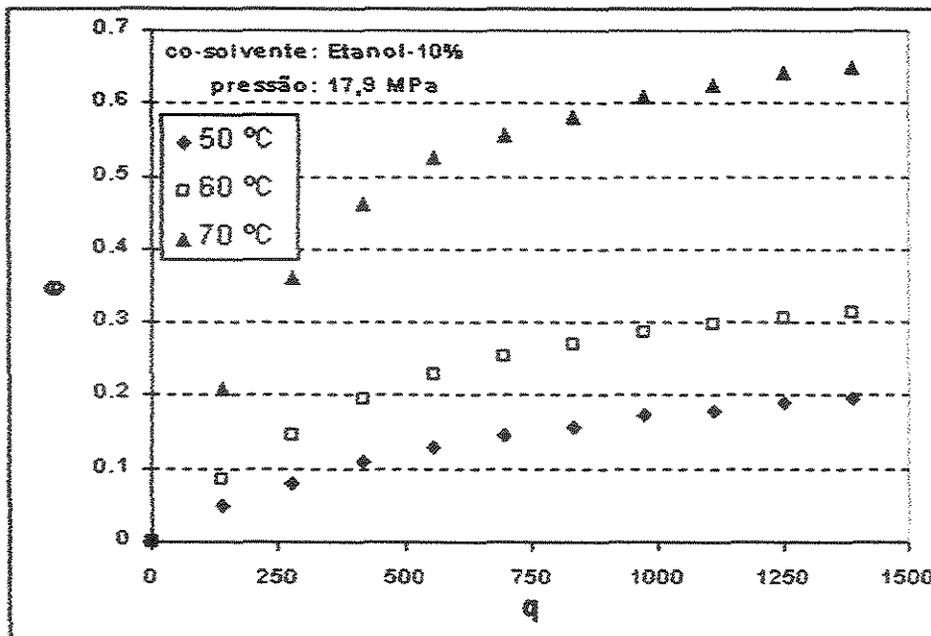


Figura B.13- Curvas de extração da cafeína utilizando dióxido de carbono supercrítico e 10% de etanol como co-solvente a 17,9 MPa

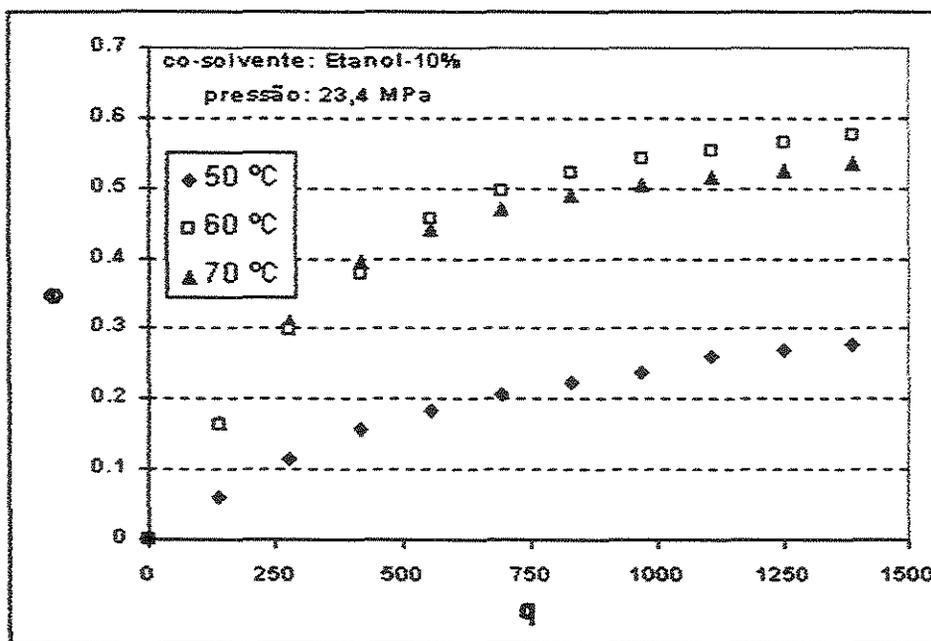


Figura B.14- Curvas de extração da cafeína utilizando dióxido de carbono supercrítico e 10% de etanol como co-solvente a 23,4 MPa.

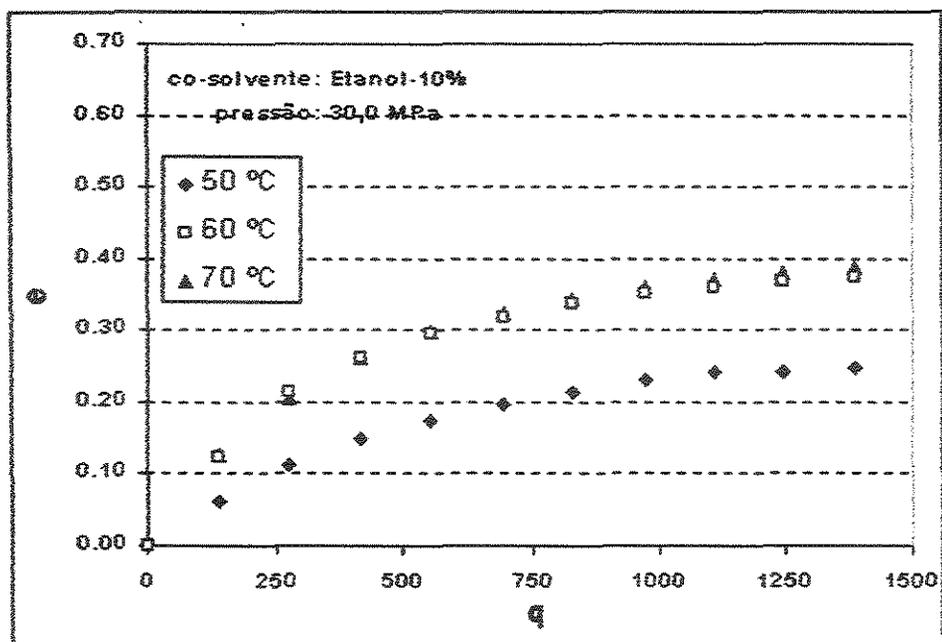


Figura B.15- Curvas de extração da cafeína utilizando dióxido de carbono supercrítico e 10% de etanol como co-solvente a 30,0 MPa.

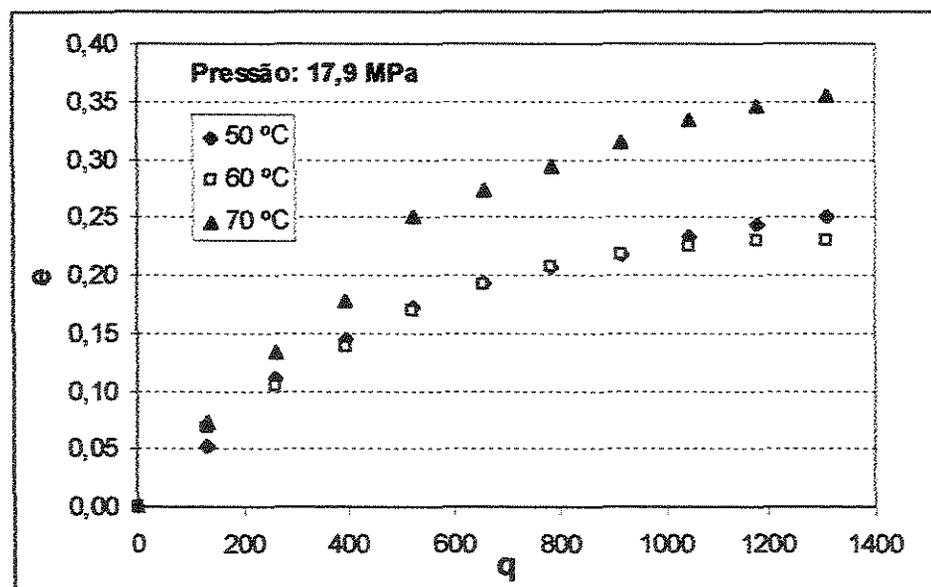


Figura B.16- Curvas de extração da cafeína utilizando dióxido de carbono supercrítico e 5% de etanol como co-solvente a 17,9 MPa.

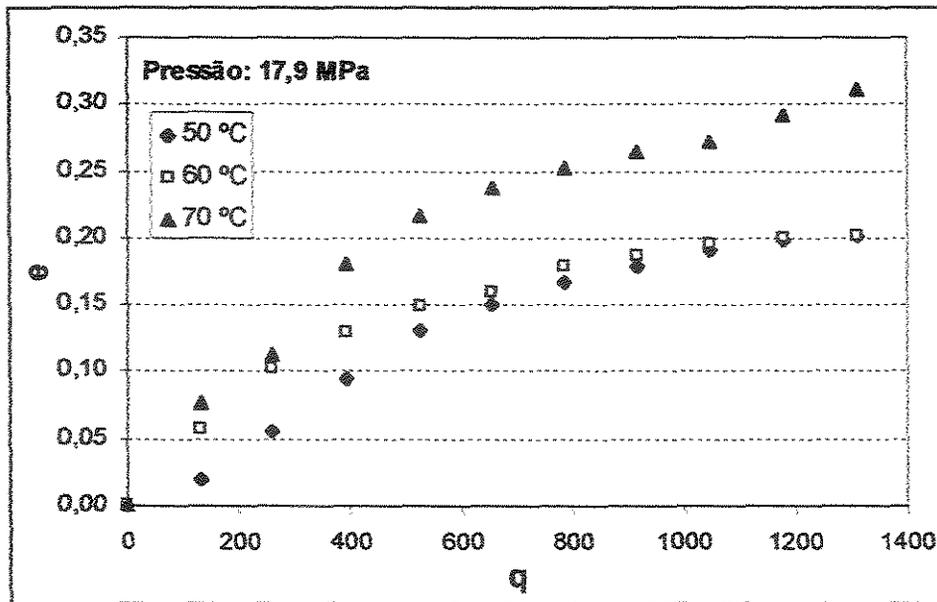


Figura B.17- Curvas de extração da cafeína utilizando dióxido de carbono supercrítico e 5% de etanol como co-solvente a 23,4 MPa.

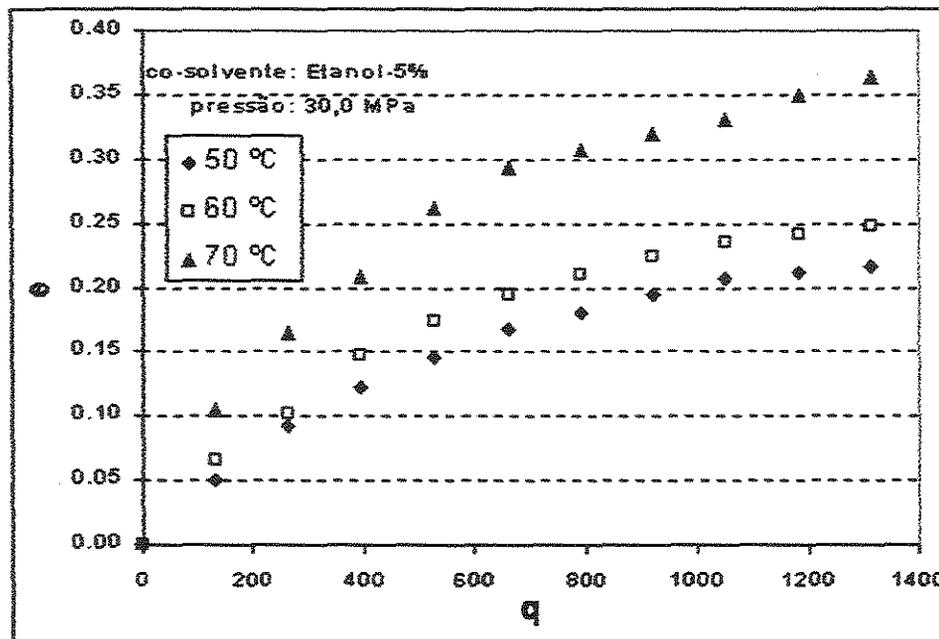


Figura B.18- Curvas de extração da cafeína utilizando dióxido de carbono supercrítico e 5% de etanol como co-solvente a 30,0 MPa.

B.4. Extração de cafeína a partir das sementes de guaraná (*Paullinia cupana*) torradas e moídas, utilizando dióxido de carbono supercrítico - Curvas de Extração em Função da Pressão.

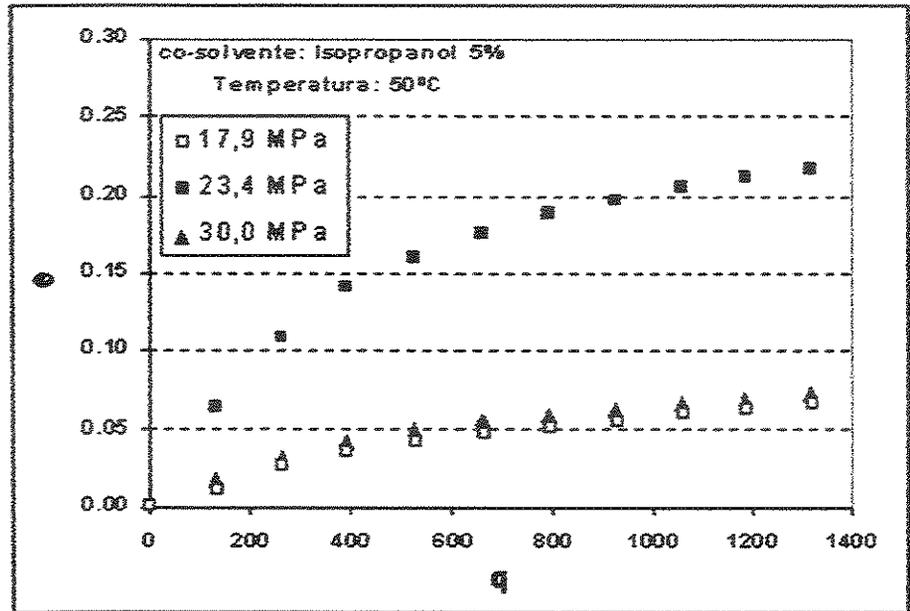


Figura B.19- Curvas de extração da cafeína utilizando dióxido de carbono supercrítico e 5% de isopropanol como co-solvente a 50 °C.

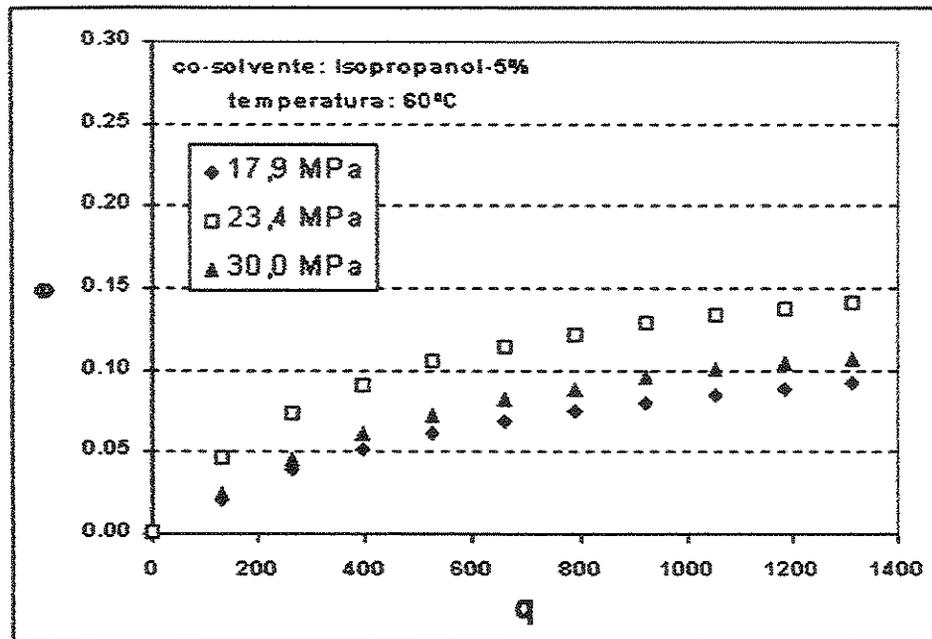


Figura B.20- Curvas de extração da cafeína utilizando dióxido de carbono supercrítico e 5% de isopropanol como co-solvente a 60 °C.

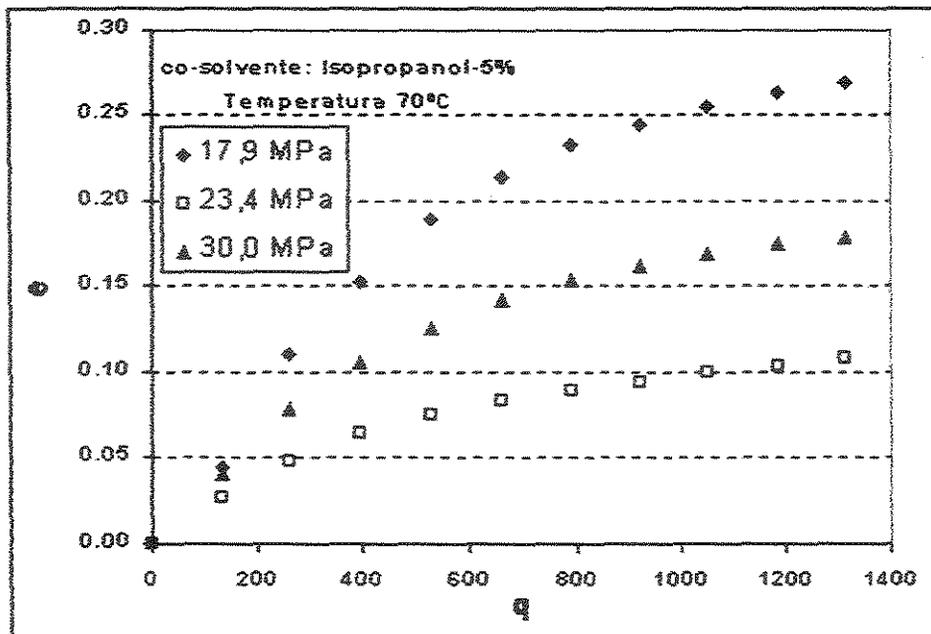


Figura B.21- Curvas de extração da cafeína utilizando dióxido de carbono supercrítico e 5% de isopropanol como co-solvente a 70 °C.

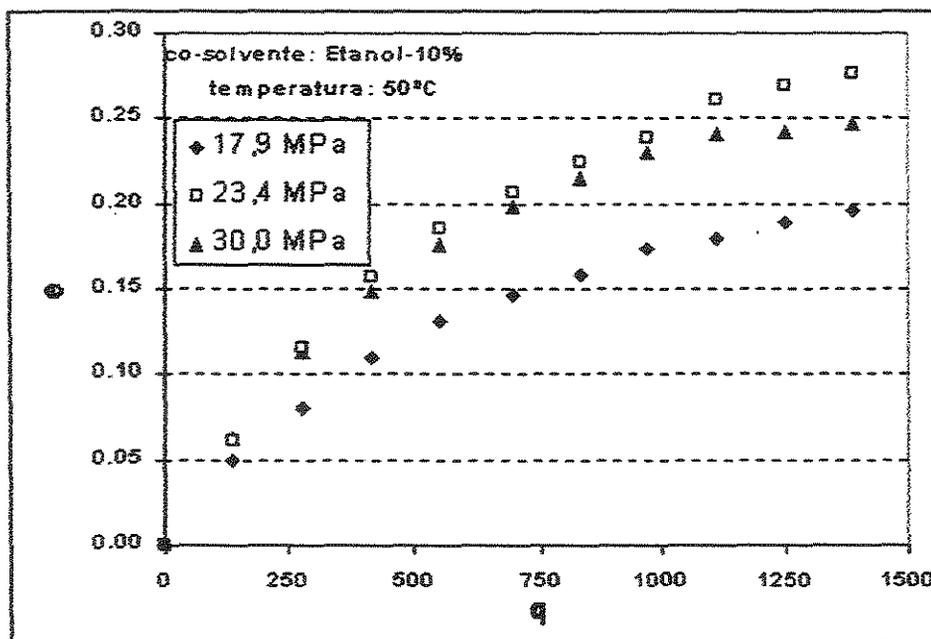


Figura B.22- Curvas de extração da cafeína utilizando dióxido de carbono supercrítico e 10% de etanol como co-solvente a 50 °C.

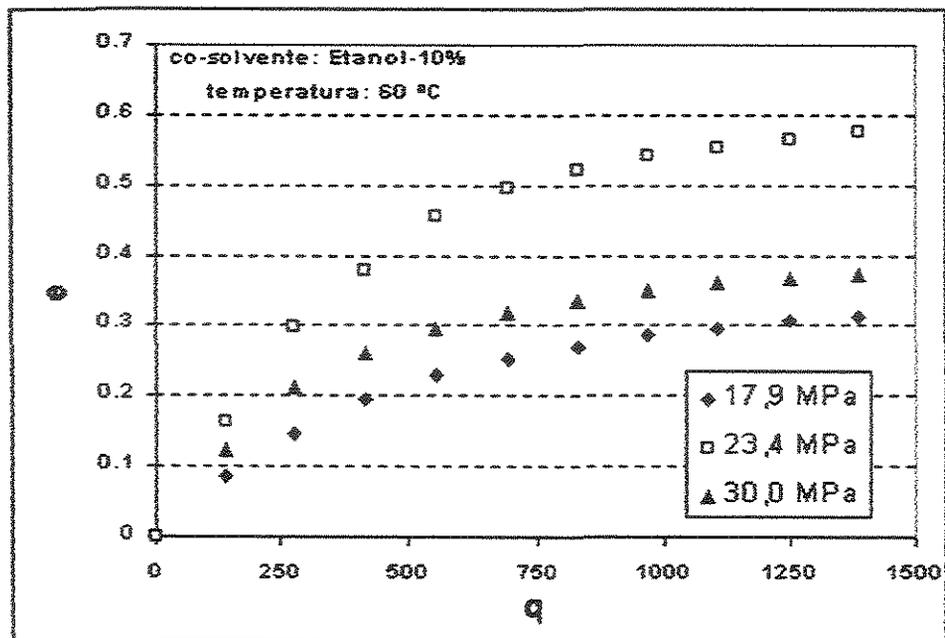


Figura B.23- Curvas de extração da cafeína utilizando dióxido de carbono supercrítico e 10% de etanol como co-solvente a 60 °C.

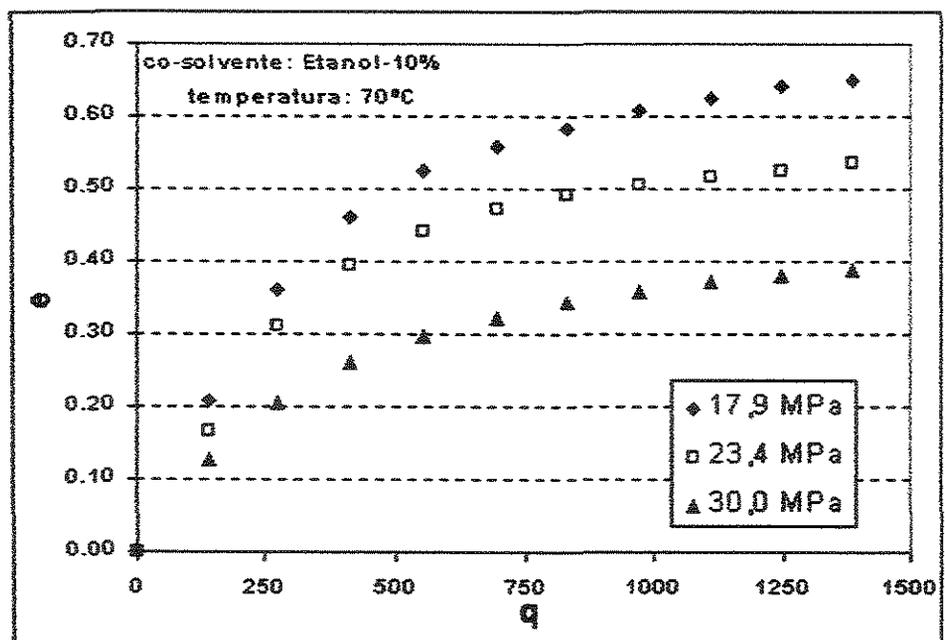


Figura B.24- Curvas de extração da cafeína utilizando dióxido de carbono supercrítico e 10% de etanol como co-solvente a 70 °C.

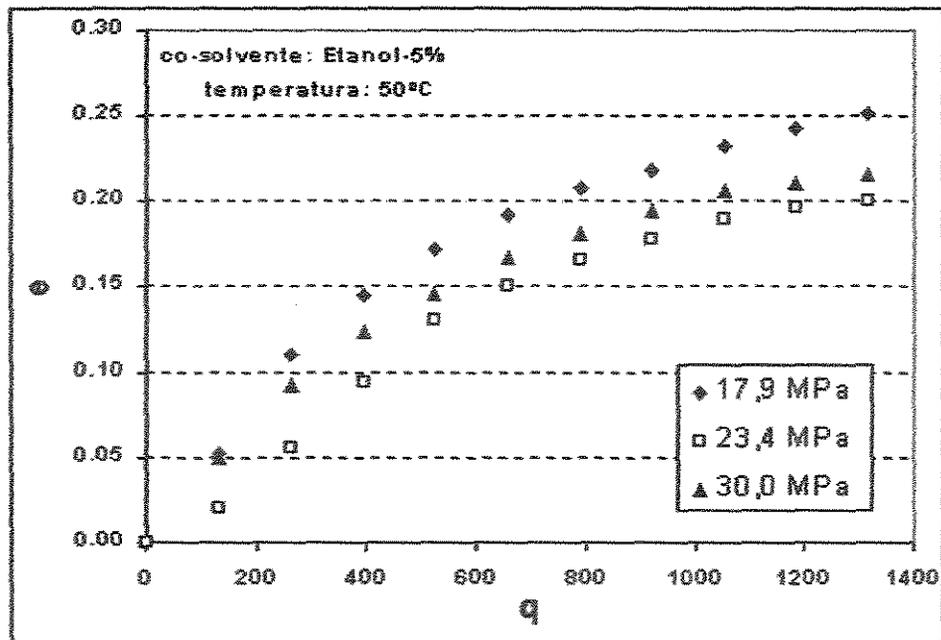


Figura B.25- Curvas de extração da cafeína utilizando dióxido de carbono supercrítico e 5% de etanol como co-solvente a 50 °C.

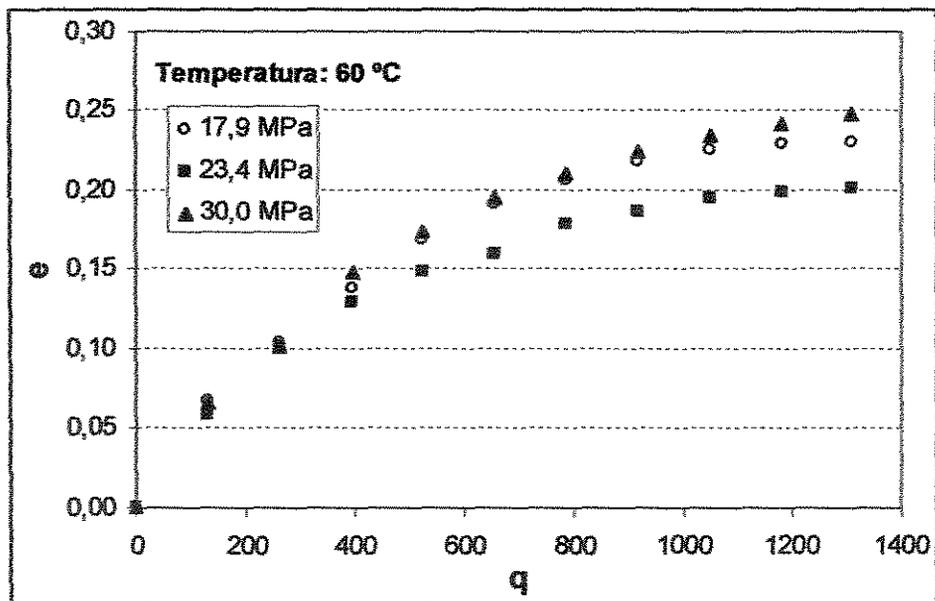


Figura B.26- Curvas de extração da cafeína utilizando dióxido de carbono supercrítico e 5% de etanol como co-solvente a 60 °C

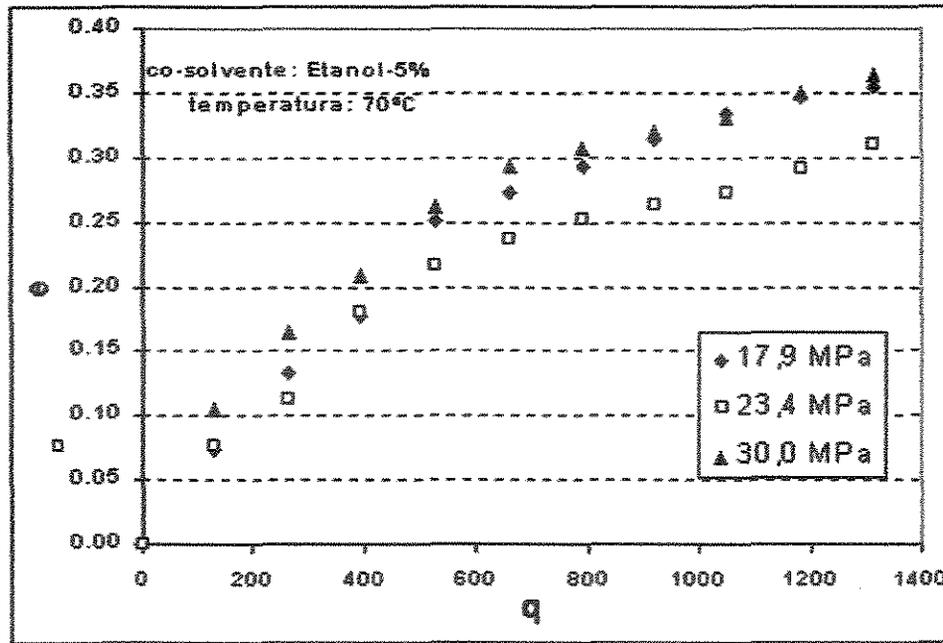


Figura B.27- Curvas de extração da cafeína utilizando dióxido de carbono supercrítico e 5% de etanol como co-solvente a 70 °C.

B.5. Superfícies de resposta da taxa de extração da cafeína a partir das sementes de guaraná (*Paullinia cupana*) torradas e moídas, utilizando dióxido de carbono supercrítico e co-solventes.

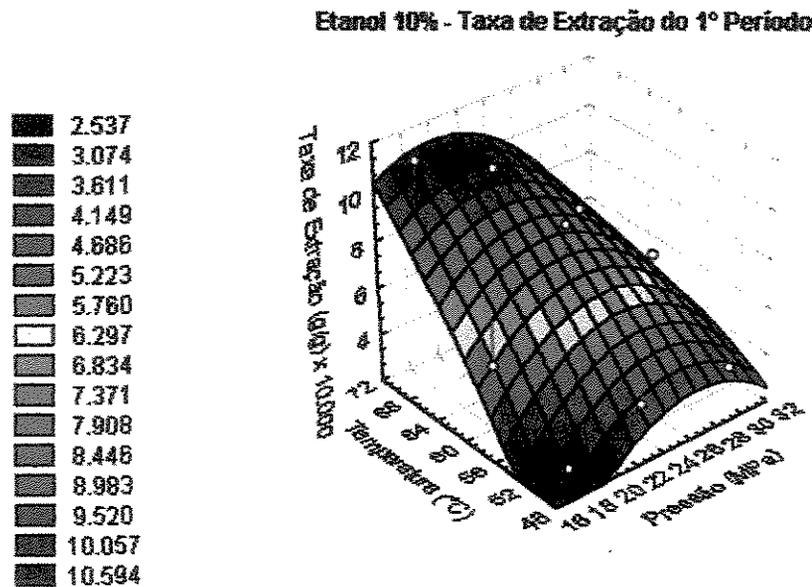


Figura B.28- Superfície de resposta da taxa de extração ($\times 10^4$) de cafeína (primeiro período) em função da temperatura e pressão para os experimentos feitos com CO_2 -SC e 10% de etanol como co-solvente.

Etanol 5% - Taxa de Extração do 1º Período

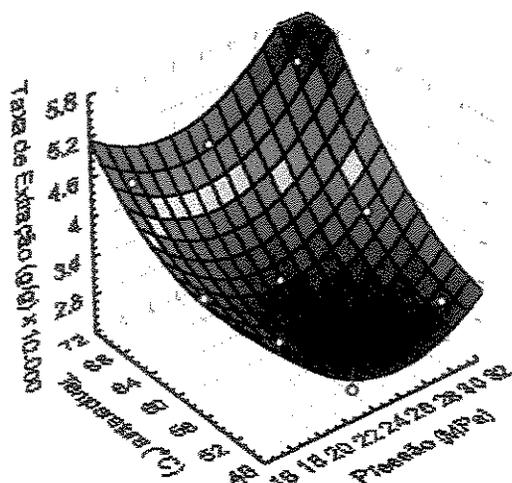
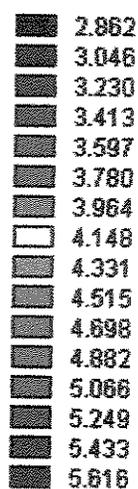


Figura B.29- Superfície de resposta da taxa de extração ($\times 10^4$) de cafeína (primeiro período) em função da temperatura e pressão para os experimentos feitos com $\text{CO}_2\text{-SC}$ e 5% de etanol como co-solvente.

Isopropanol - Taxa de Extração do 1º Período

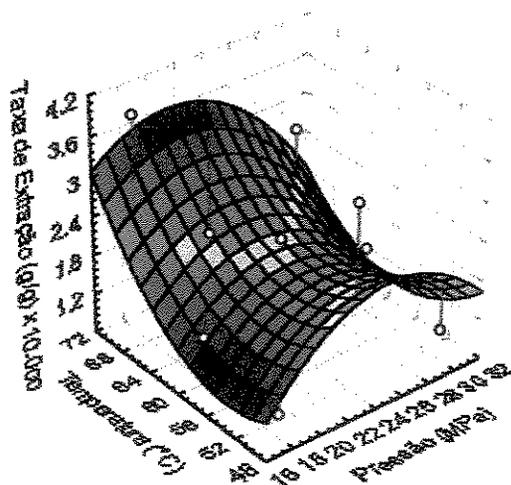
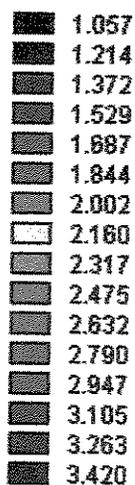


Figura B.30- Superfície de resposta da taxa de extração de cafeína ($\times 10^4$) (primeiro período) em função da temperatura e pressão para os experimento feitos com $\text{CO}_2\text{-SC}$ e 5% de isopropanol como co-solvente.

Etanol 10% - Taxa de Extração do 2º Período

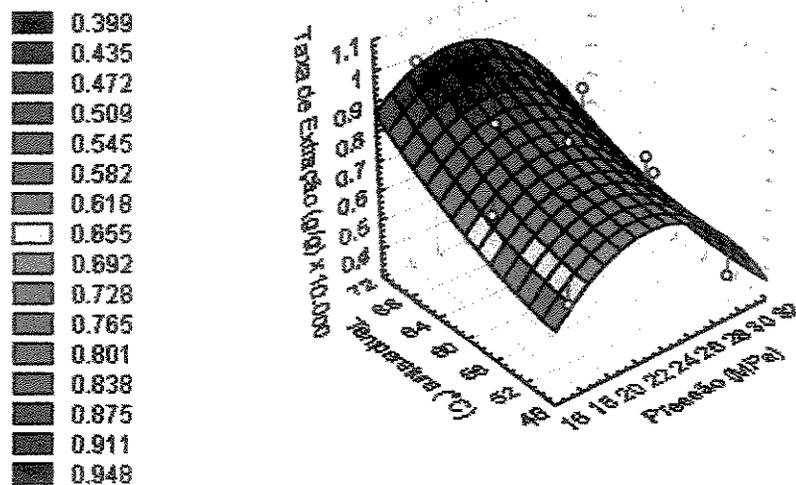


Figura B.31- Superfície de resposta da taxa de extração de cafeína ($\times 10^4$) (segundo período) em função da temperatura e pressão para os experimento feitos com dióxido de carbono supercrítico e 10% de etanol (em peso) como co-solvente.

Etanol 5% - Taxa de Extração do 2º Período

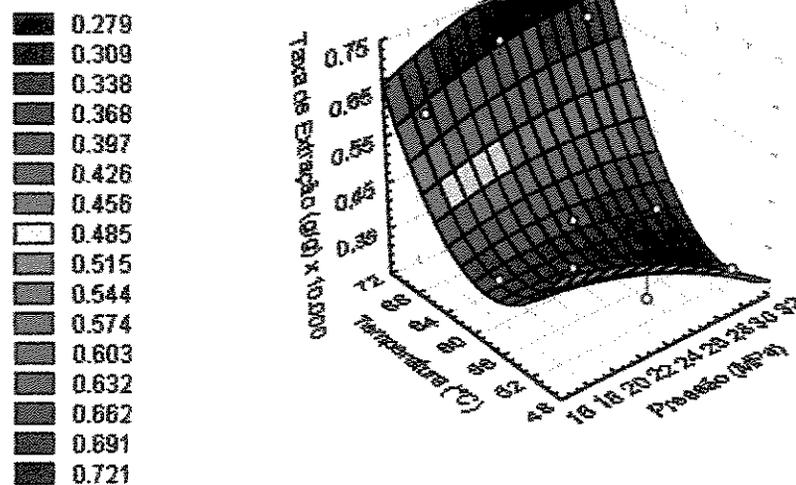


Figura B.32- Superfície de resposta da taxa de extração de cafeína ($\times 10^4$) (segundo período) em função da temperatura e pressão para os experimento feitos com dióxido de carbono supercrítico e 5% de etanol (em peso) como co-solvente.

Isopropanol - Taxa de Extração do 2º Período

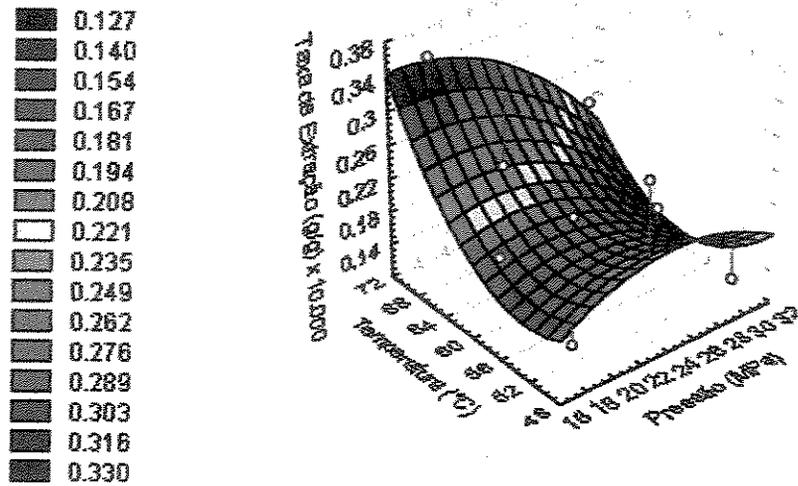


Figura B.33- Superfície de resposta da taxa de extração de cafeína ($\times 10^4$) (segundo período) em função da temperatura e pressão para os experimento feitos com dióxido de carbono supercrítico e 5% de isopropanol (em peso) como co-solvente.

B.6. Determinação do teor de fenóis totais a partir das sementes torradas e moídas de guaraná (*Paullinia cupana*) utilizando dióxido de carbono supercrítico - Tabelas de massa acumulada.

Tabela B.4- Massa acumulada (em mg) para a extração de fenóis totais com dióxido de carbono supercrítico e 5% (em peso) de isopropanol como co-solvente, em função da quantidade de solvente utilizado.

	Massa de solvente (g)	17,9 MPa			23,4,9 MPa			30,0 MPa		
		50 °C	60 °C	70 °C	50 °C	60 °C	70 °C	50 °C	60 °C	70 °C
1	76,0	0,164	0,284	0,060	0,181	0,072	0,014	0,051	0,145	0,236
2	152,1	0,455	0,460	0,385	0,320	0,084	0,123	0,055	0,149	0,277
3	228,1	0,597	0,568	0,496	0,402	0,128	0,128	0,065	0,157	0,308
4	304,1	0,797	0,711	0,633	0,474	0,142	0,130	0,087	0,161	0,313
5	380,2	0,944	0,836	0,816	0,631	0,147	0,132	0,089	0,164	0,315
6	456,2	1,122	0,937	0,920	0,737	0,149	0,137	0,096	0,207	0,323
7	532,2	1,252	1,057	1,016	0,780	0,152	0,181	0,140	0,222	0,330
8	608,3	1,320	1,219	1,079	0,896	0,212	0,188	0,147	0,229	0,335
9	684,3	1,443	1,279	1,163	0,935	0,263	0,193	0,166	0,231	0,337
10	760,3	1,578	1,342	1,361	0,963	0,289	0,195	0,169	0,234	0,339

Tabela B.5- Massa acumulada (em mg) para a extração de fenóis totais com dióxido de carbono supercrítico e 5% (em peso) de etanol como co-solvente, em função da quantidade de solvente utilizado.

	Massa de solvente (g)	17,9 MPa			23,4 MPa			30,0 MPa		
		50 °C	60 °C	70 °C	50 °C	60 °C	70 °C	50 °C	60 °C	70 °C
1	76,0	0,226	0,116	0,739	0,207	0,089	0,371	0,258	0,210	0,547
2	152,1	0,455	0,197	1,040	0,356	0,181	0,496	0,364	0,520	1,180
3	228,1	0,583	0,258	1,245	0,402	0,224	0,554	0,467	0,713	1,616
4	304,1	0,633	0,287	1,669	0,438	0,253	0,788	0,614	0,800	1,811
5	380,2	0,747	0,325	1,758	0,468	0,272	1,031	0,672	0,925	2,095
6	456,2	0,857	0,393	1,840	0,493	0,299	1,243	0,723	1,007	2,201
7	532,2	0,949	0,397	1,970	0,543	0,347	1,257	0,891	1,089	2,305
8	608,3	1,033	0,419	2,163	0,579	0,369	1,313	1,000	1,137	2,358
9	684,3	1,057	0,438	2,356	0,603	0,393	1,467	1,122	1,149	2,498
10	760,3	1,209	0,450	2,452	0,656	0,458	1,715	1,175	1,224	2,633

Tabela B.6- Massa acumulada (em mg) para a extração de fenóis totais com dióxido de carbono supercrítico e 10% (em peso) de etanol como co-solvente, em função da quantidade de solvente utilizado.

	Massa de solvente (g)	17,9 MPa			23,4,9 MPa			30,0 MPa		
		50 °C	60 °C	70 °C	50 °C	60 °C	70 °C	50 °C	60 °C	70 °C
1	80,3	1,852	1,033	1,946	1,226	1,640	1,202	1,334	1,315	1,452
2	152,1	2,630	1,965	3,654	2,346	2,866	1,917	1,912	2,180	2,442
3	240,8	3,408	2,575	5,183	3,319	4,157	2,370	2,177	2,608	2,967
4	321,0	3,581	2,832	6,713	3,805	5,202	2,661	2,486	2,772	3,459
5	401,3	3,789	2,999	8,088	4,087	6,407	2,859	2,941	2,984	3,846
6	481,5	4,020	3,172	9,420	4,249	7,204	2,984	3,307	3,160	4,126
7	561,8	4,186	3,285	11,34	4,526	7,693	3,112	3,632	3,348	4,367
8	642,1	4,468	3,362	12,22	4,701	8,326	3,384	4,046	3,432	4,706
9	722,3	4,586	3,478	13,06	4,829	8,526	3,454	4,253	3,569	5,003
10	802,6	4,716	4,008	13,79	4,875	8,866	3,526	4,321	3,644	5,248

B.7. Extração da fenóis totais a partir das sementes torradas e moídas de guaraná (*Paullinia cupana*), utilizando dióxido de carbono supercrítico - Curvas de extração em função do co-solvente utilizado.

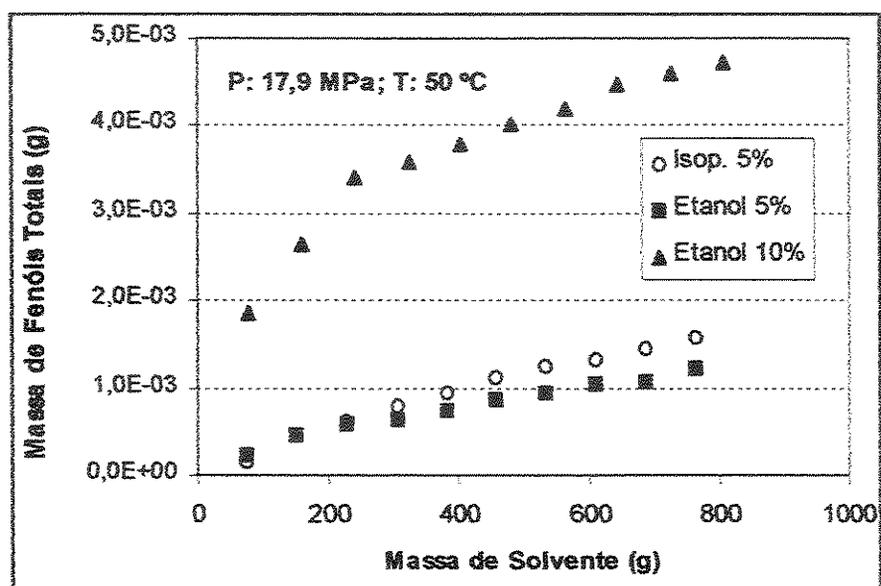


Figura B.34- Curvas de extração de fenóis totais utilizando dióxido de carbono supercrítico e co-solventes. Condições Experimentais: 50 °C e 17,9 MPa.

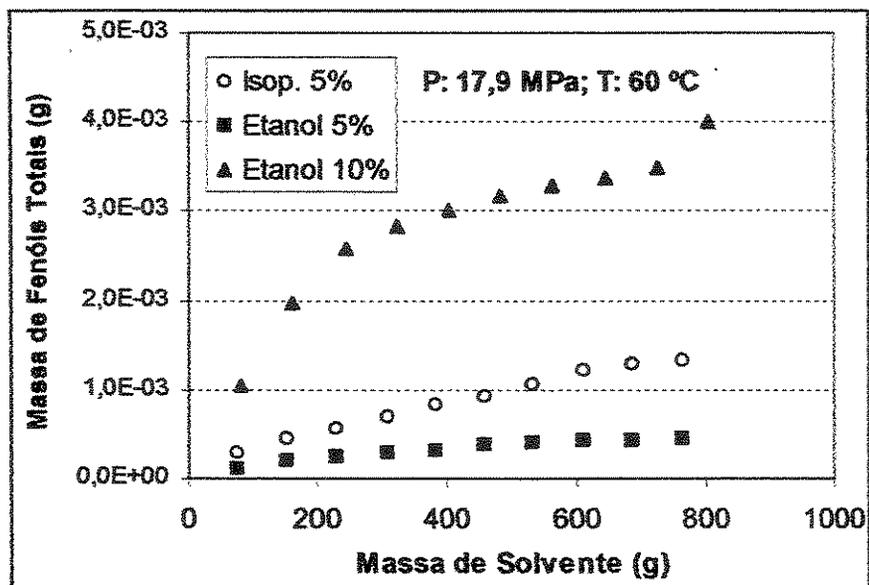


Figura B.35- Curvas de extração de fenóis totais utilizando dióxido de carbono supercrítico e co-solventes. Condições Experimentais: 60 °C e 17,9 MPa.

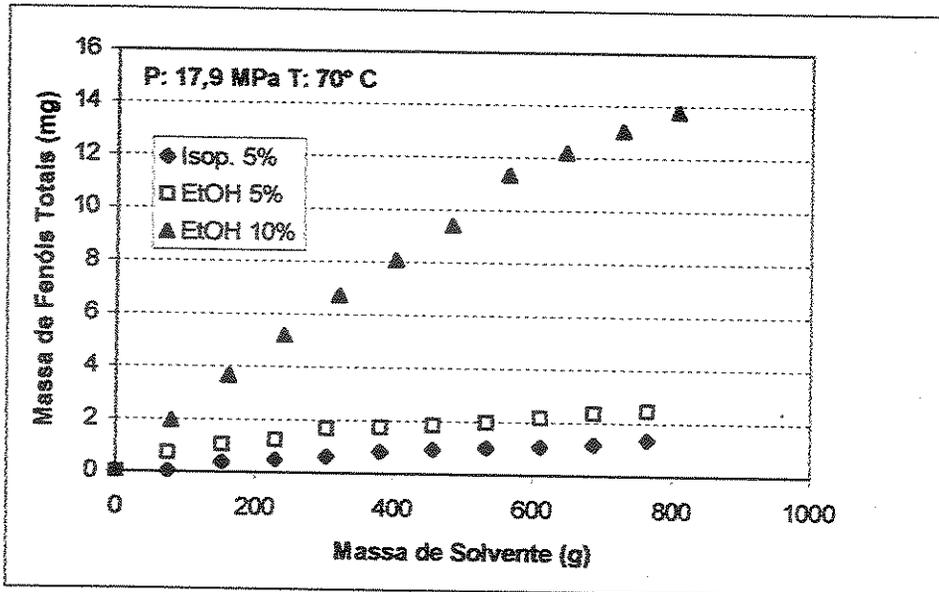


Figura B.36- Curvas de extração de fenóis totais utilizando dióxido de carbono supercrítico e co-solventes. Condições Experimentais: 70 °C e 17,9 MPa.

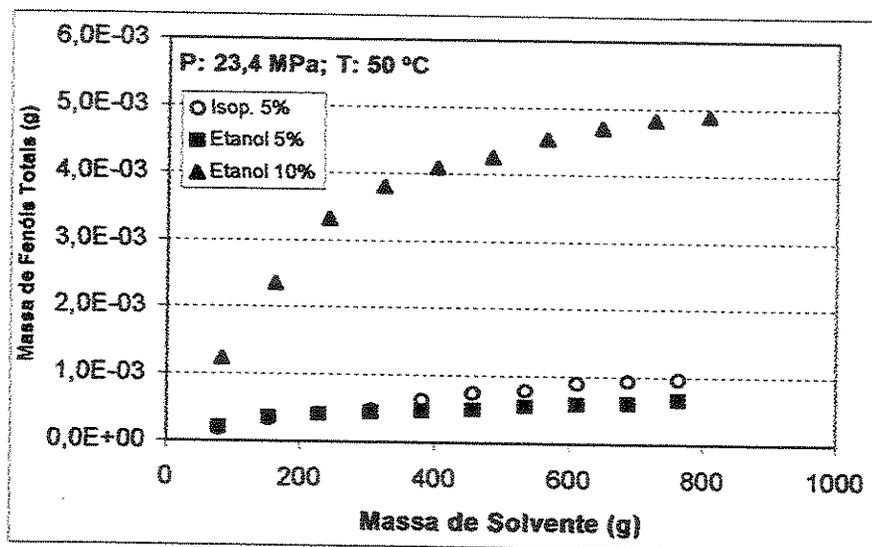


Figura B.37- Curvas de extração de fenóis totais utilizando dióxido de carbono supercrítico e co-solventes. Condições Experimentais: 50 °C e 23,4 MPa.

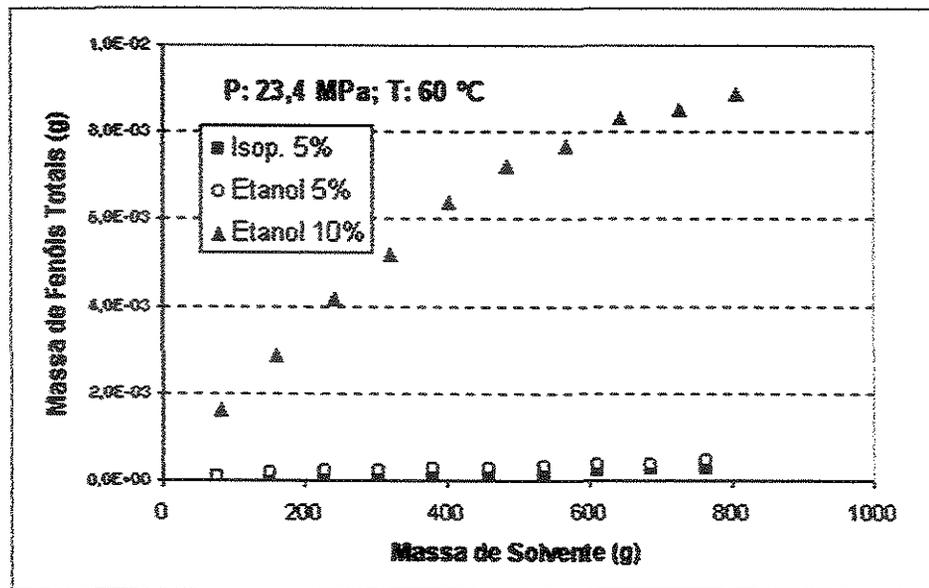


Figura B.38- Curvas de extração de fenóis totais utilizando dióxido de carbono supercrítico e co-solventes. Condições Experimentais: 60 °C e 23,4 MPa.

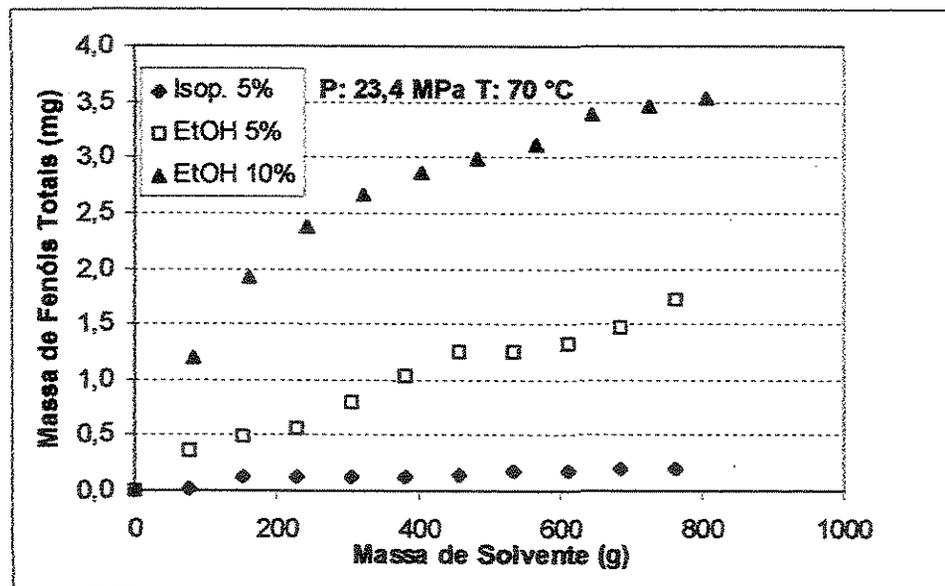


Figura B.39- Curvas de extração de fenóis totais utilizando dióxido de carbono supercrítico e co-solventes. Condições Experimentais: 70 °C e 23,4 MPa.

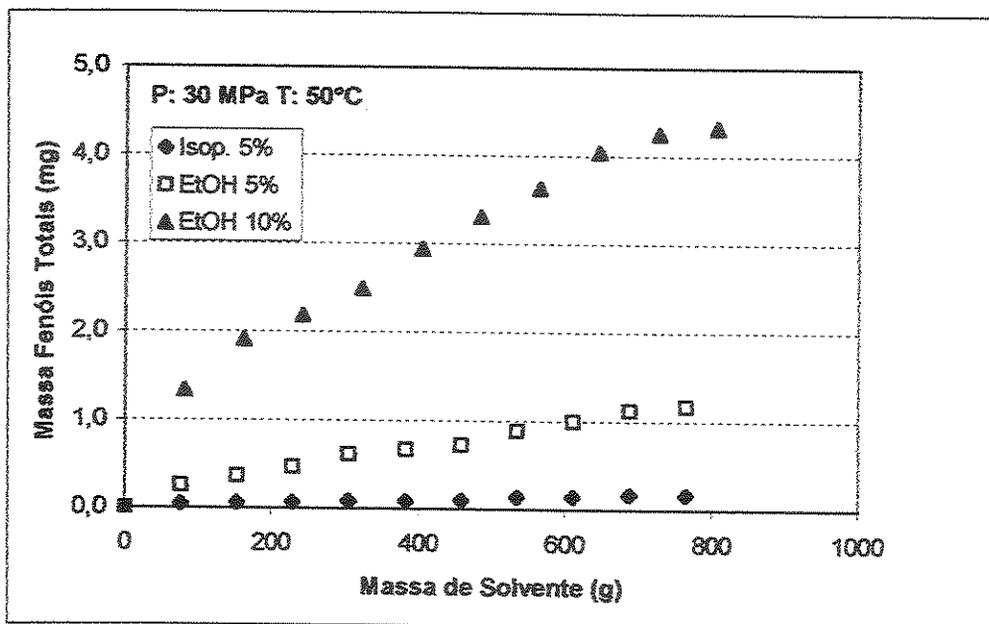


Figura B.40- Curvas de extração de fenóis totais utilizando dióxido de carbono supercrítico e co-solventes. Condições Experimentais: 50 °C e 30,0 MPa.

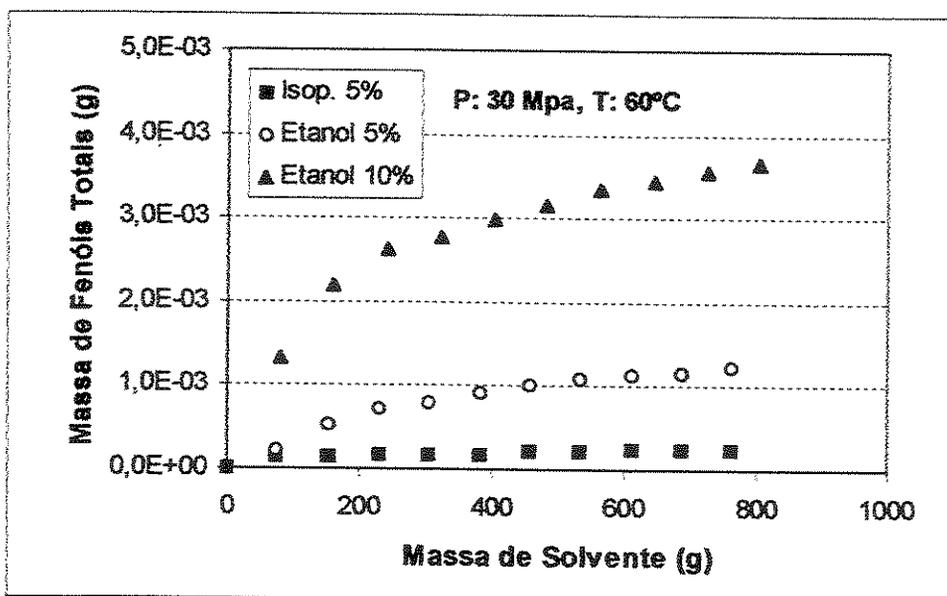


Figura B.41- Curvas de extração de fenóis totais utilizando dióxido de carbono supercrítico e co-solventes. Condições Experimentais: 60 °C e 30,0 MPa.

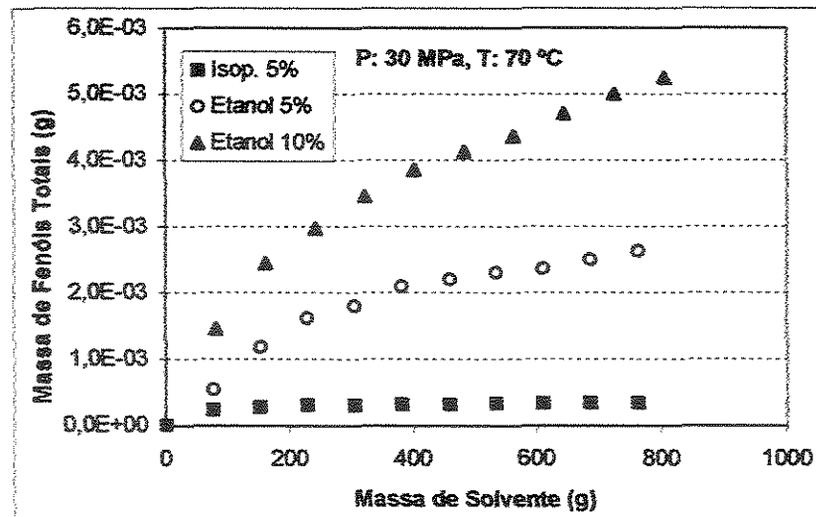


Figura B.42- Curvas de extração de fenóis totais utilizando dióxido de carbono supercrítico e co-solventes. Condições Experimentais: 70 °C e 30,0 MPa.

B.8. Extração da fenóis totais a partir das sementes torradas e moídas de guaraná (*Paullinia cupana*), utilizando dióxido de carbono supercrítico - Curvas de Extração em Função da Pressão.

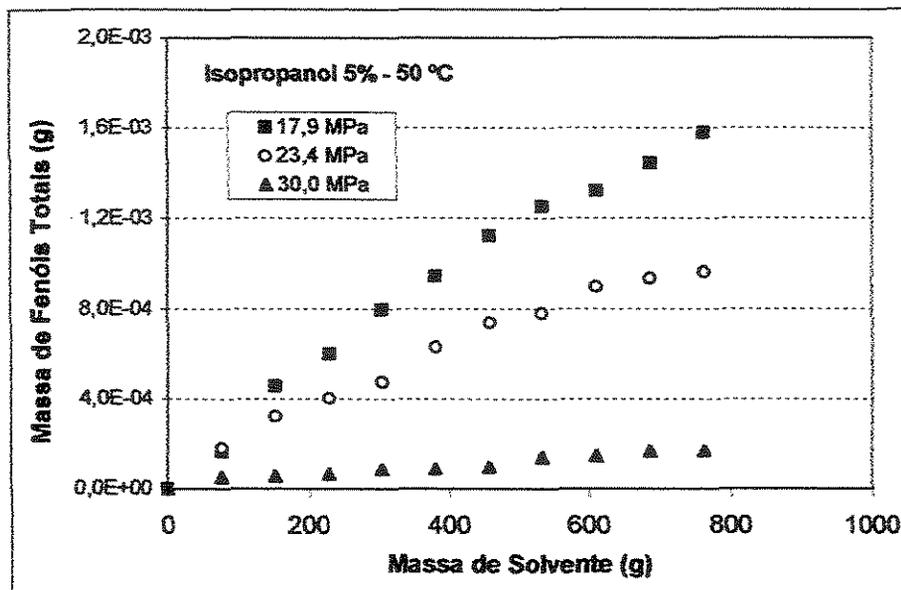


Figura B.43- Curvas de extração de fenóis totais utilizando dióxido de carbono supercrítico e 5% de isopropanol como co-solvente a 50 °C.

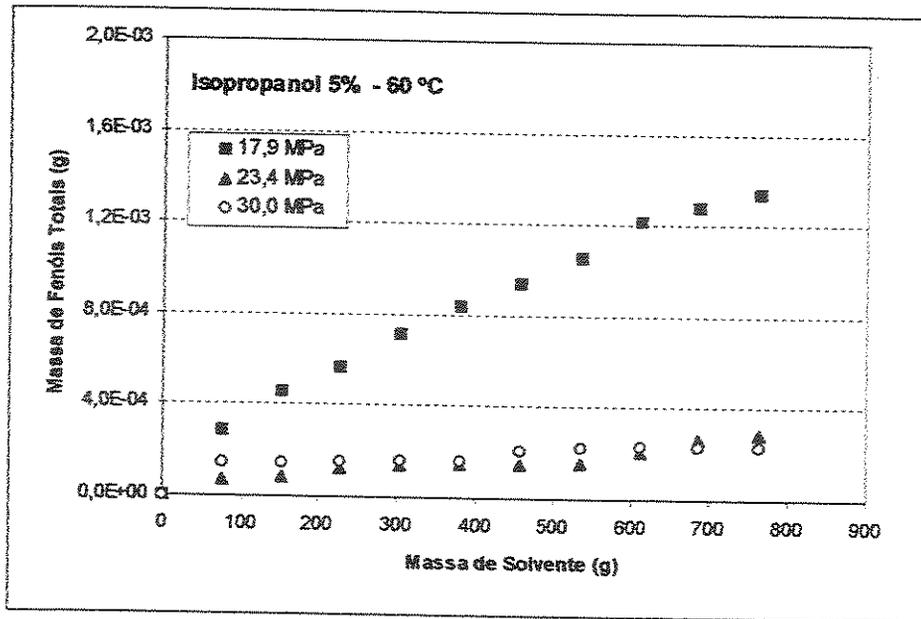


Figura B.44- Curvas de extração de fenóis totais utilizando dióxido de carbono supercrítico e 5% de isopropanol como co-solvente a 60 °C.

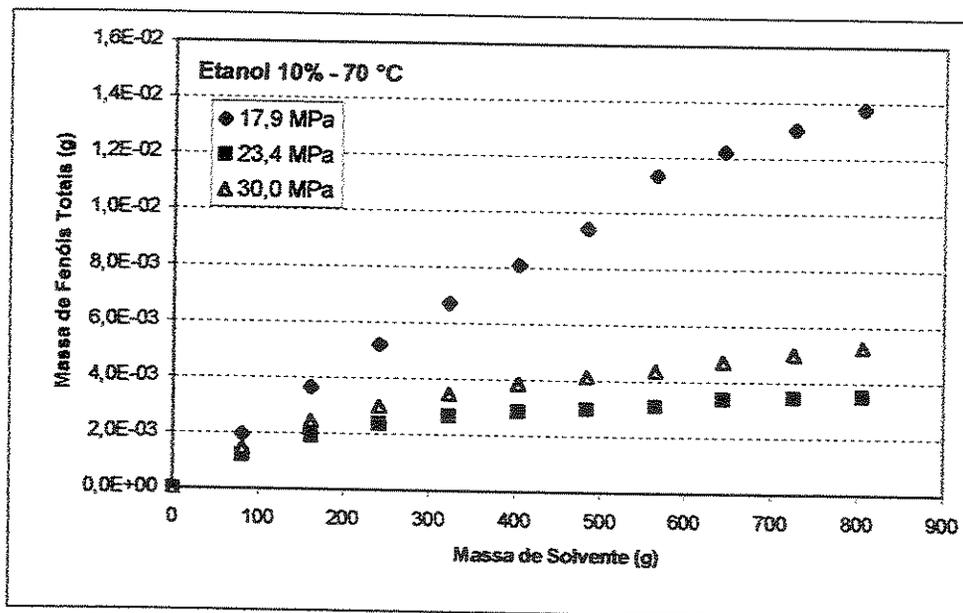


Figura B.45- Curvas de extração de fenóis totais utilizando dióxido de carbono supercrítico e 5% de isopropanol como co-solvente a 70 °C.

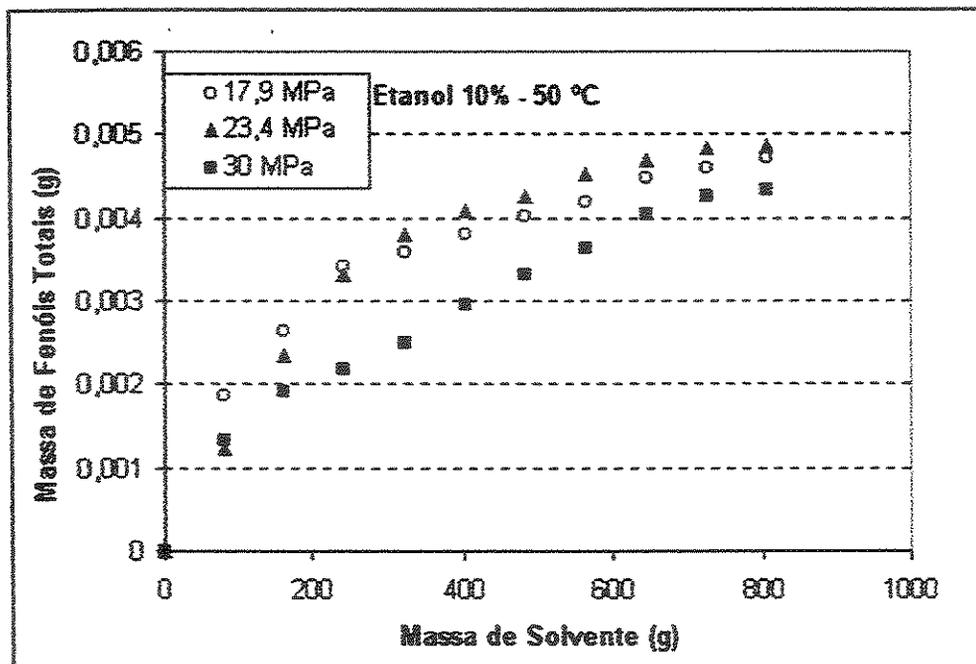


Figura B.46- Curvas de extração de fenóis totais utilizando dióxido de carbono supercrítico e 10% de etanol como co-solvente a 50 °C.

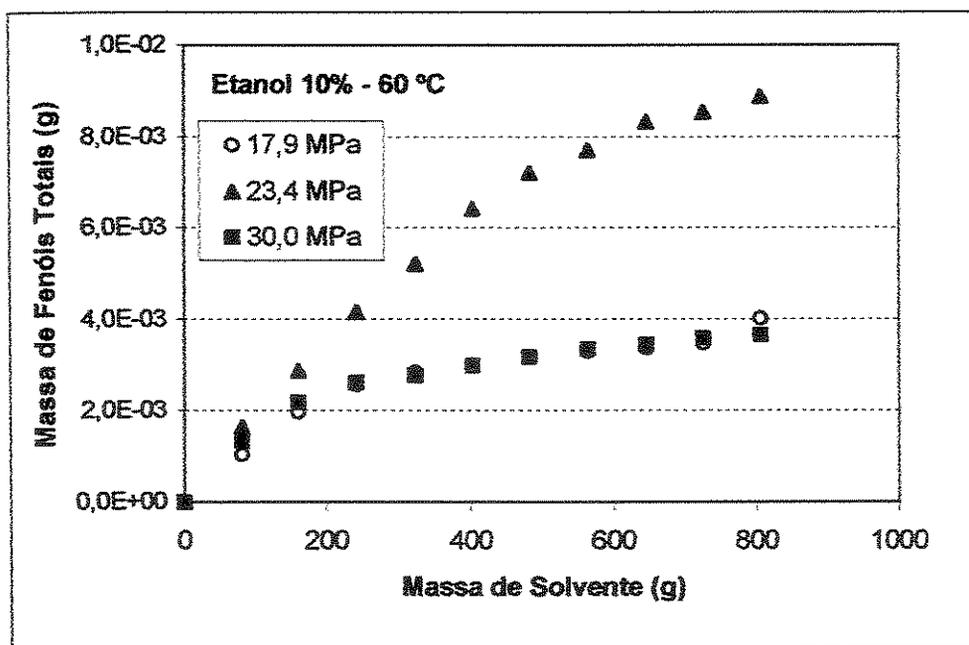


Figura B.47- Curvas de extração de fenóis totais utilizando dióxido de carbono supercrítico e 10% de etanol como co-solvente a 60 °C.

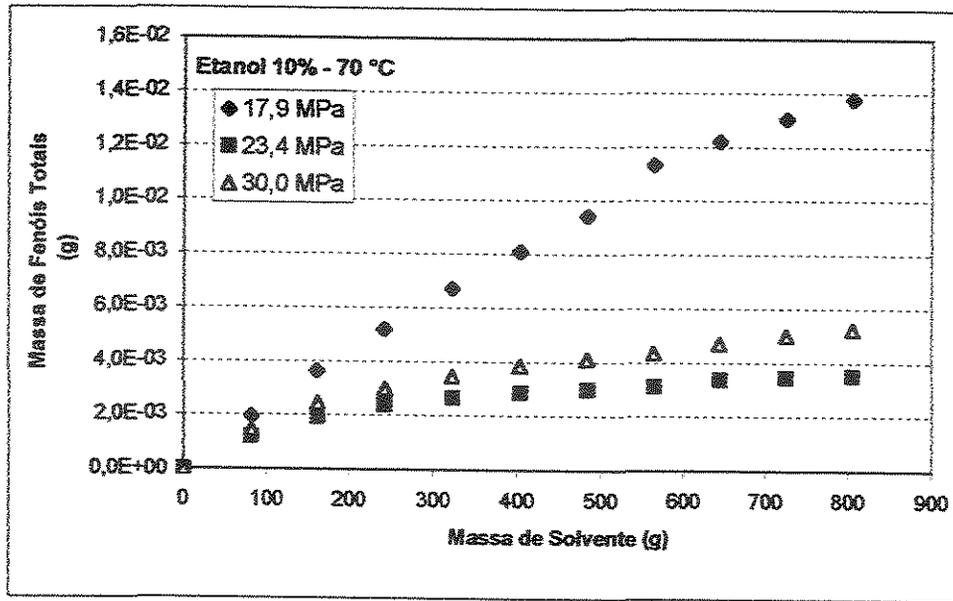


Figura B.48- Curvas de extração de fenóis totais utilizando dióxido de carbono supercrítico e 10% de etanol como co-solvente a 70 °C.

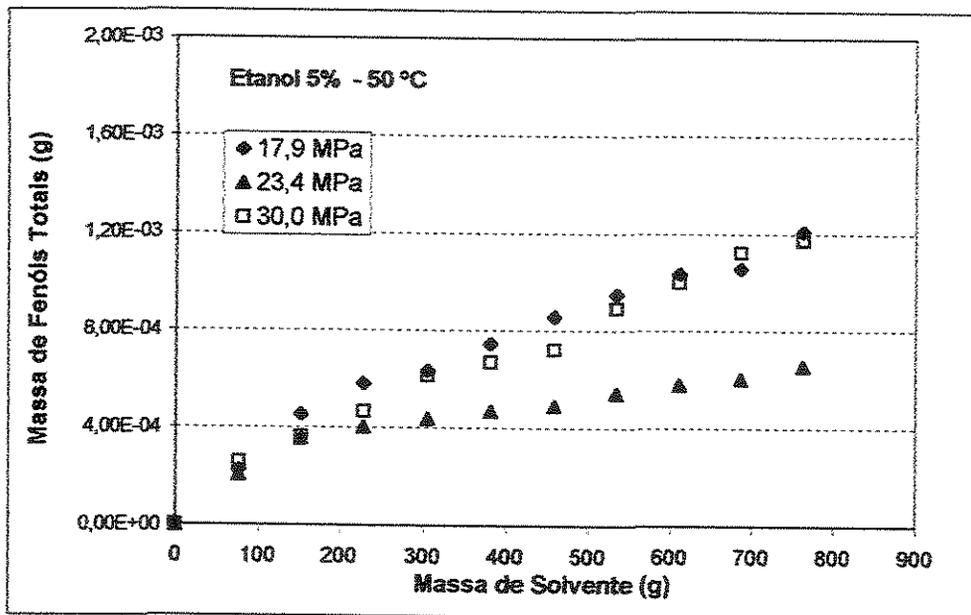


Figura B.49- Curvas de extração de fenóis totais utilizando dióxido de carbono supercrítico e 5% de etanol como co-solvente a 50 °C.

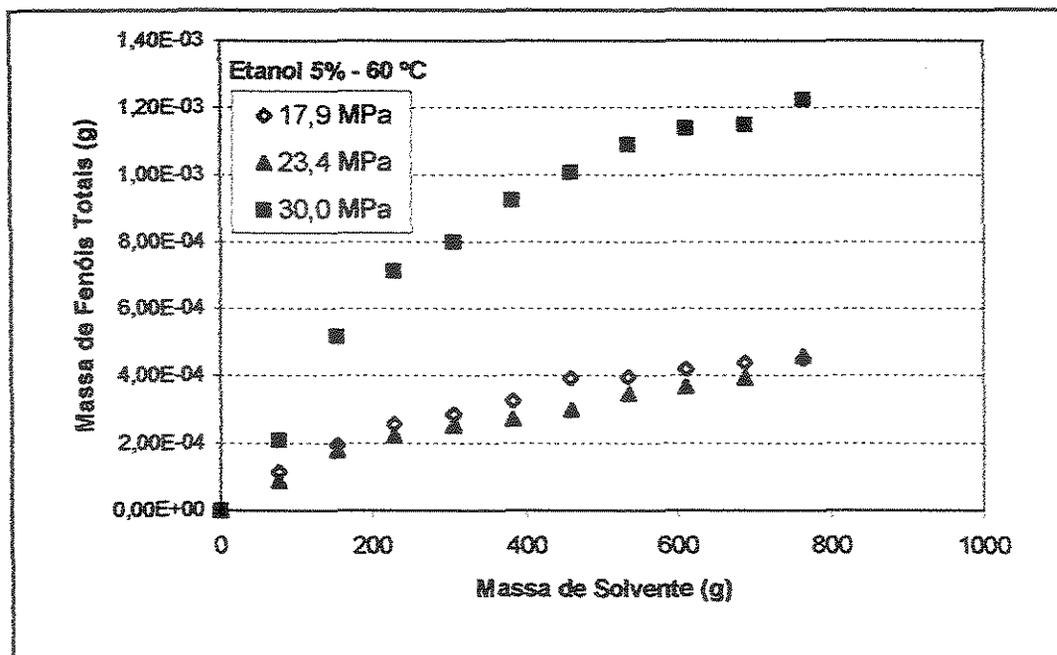


Figura B.50 - Curvas de extração de fenóis totais utilizando dióxido de carbono supercrítico e 5% de etanol como co-solvente a 60 °C.

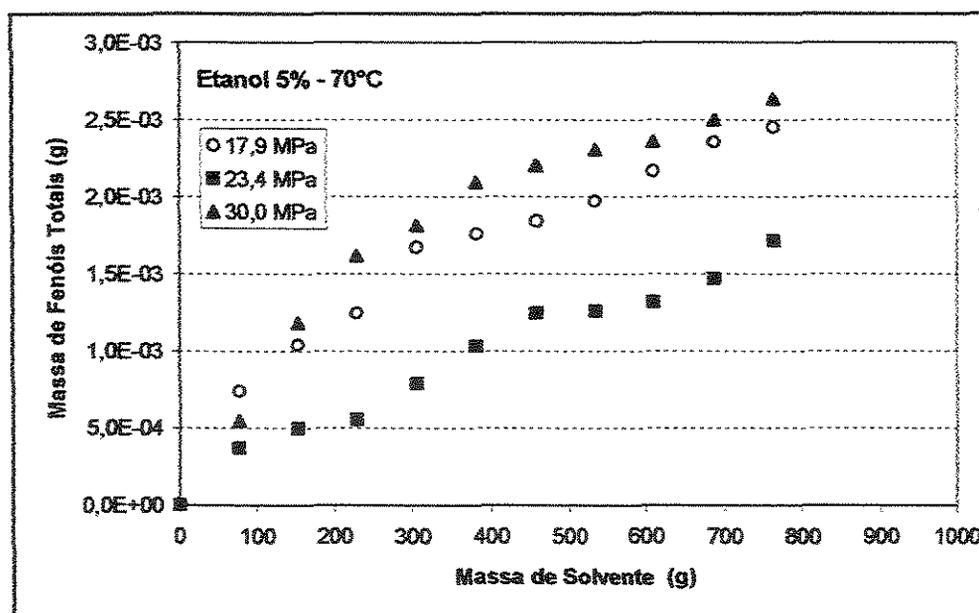


Figura B.51- Curvas de extração de fenóis totais utilizando dióxido de carbono supercrítico e 5% de etanol como co-solvente a 70 °C.

B.9. Extração de fenóis totais a partir das sementes torradas e moidas de guaraná (*Paullinia cupana*), utilizando dióxido de carbono supercrítico - Curvas de extração em função da temperatura.

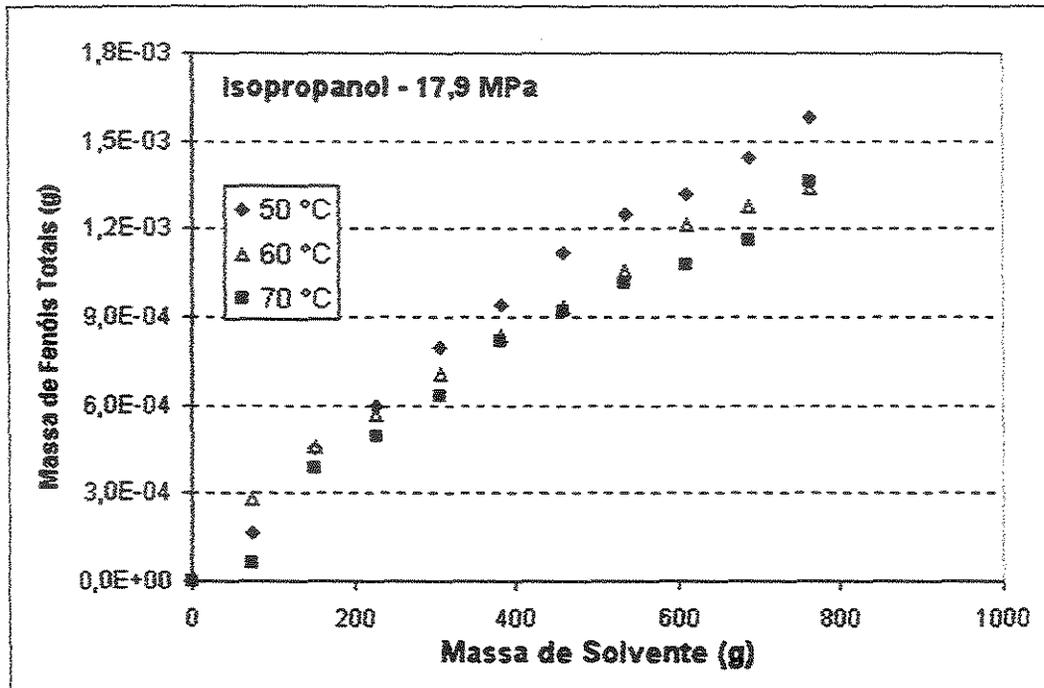


Figura B.52- Curvas de extração de fenóis totais utilizando dióxido de carbono supercrítico e 5% de isopropanol como co-solvente a 17,9 MPa.

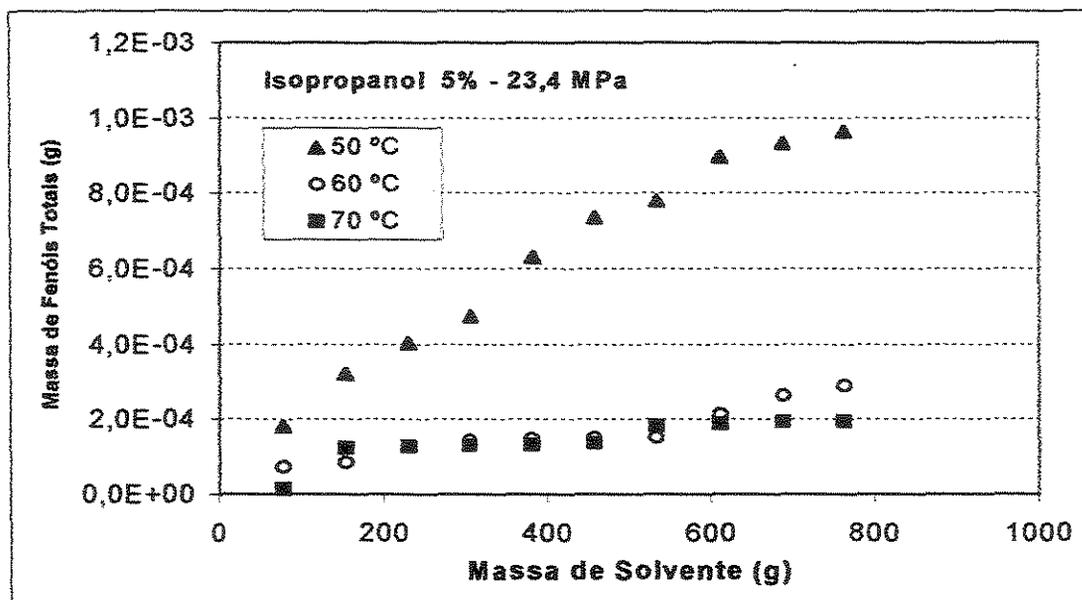


Figura B.53- Curvas de extração de fenóis totais utilizando dióxido de carbono supercrítico e 5% de isopropanol como co-solvente a 23,4 MPa.

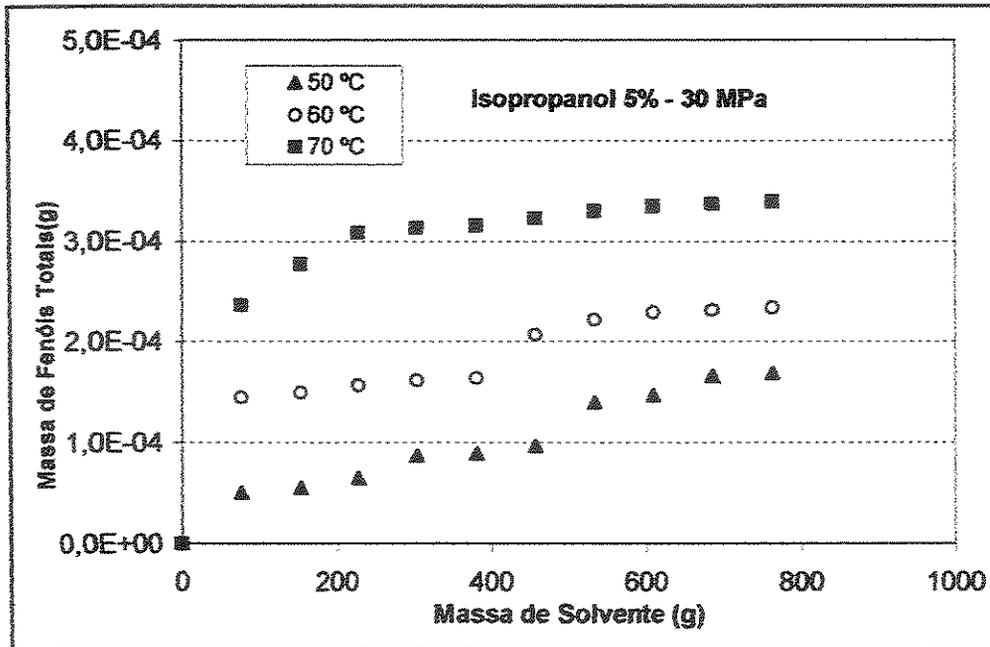


Figura B.54- Curvas de extração de fenóis totais utilizando dióxido de carbono supercrítico e 5% de isopropanol como co-solvente a 30,0 MPa.

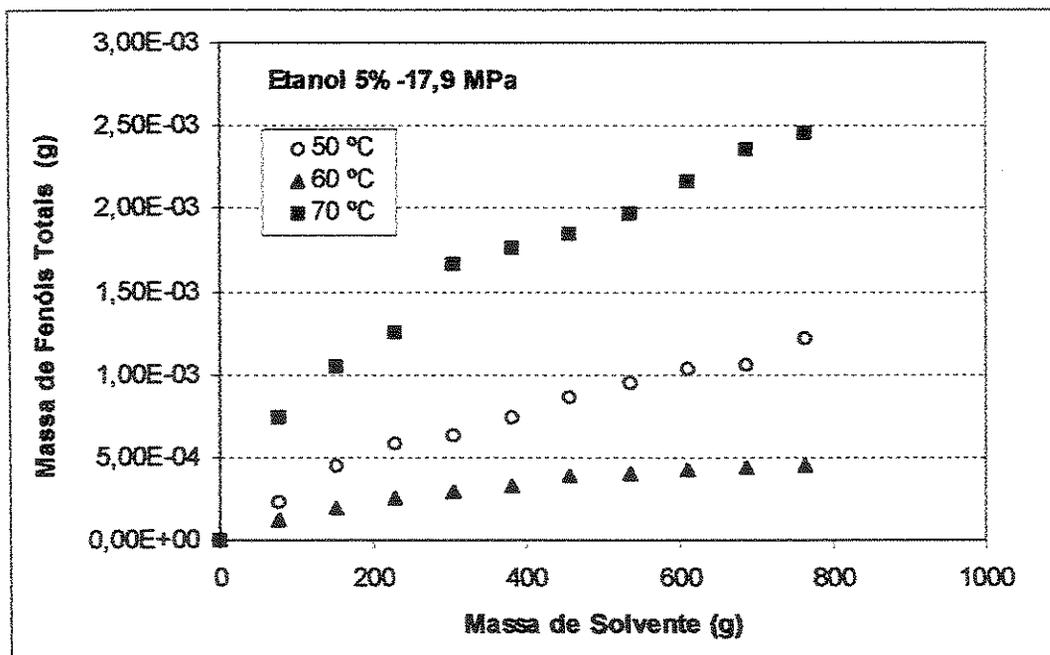


Figura B.55- Curvas de extração de fenóis totais utilizando dióxido de carbono supercrítico e 5% de etanol como co-solvente a 17,9 MPa.

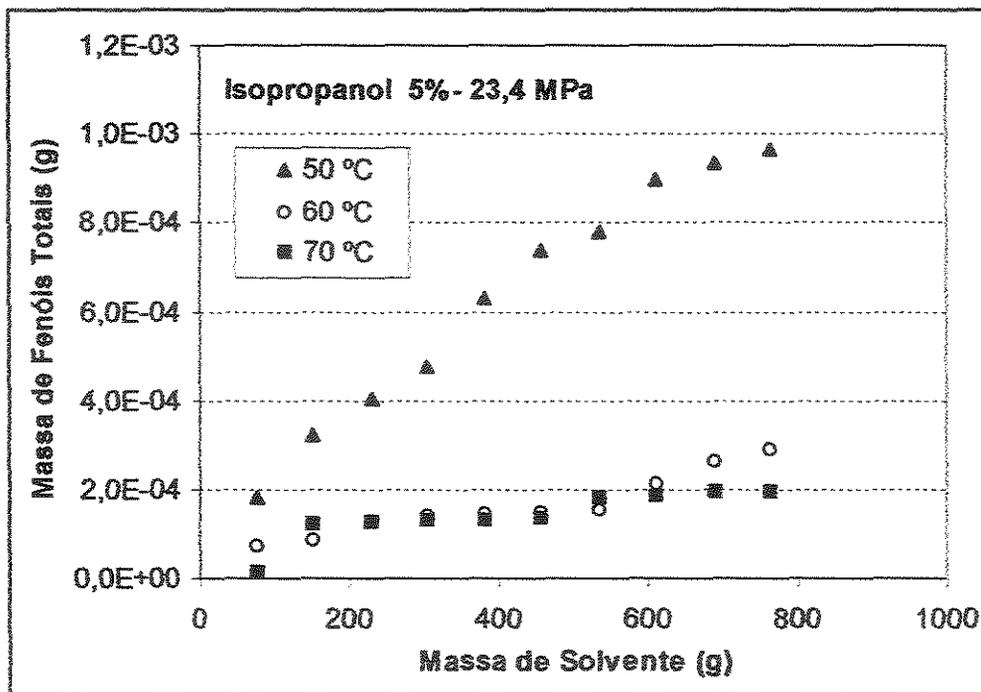


Figura B.56- Curvas de extração de fenóis totais utilizando dióxido de carbono supercrítico e 5% de etanol como co-solvente a 23,4 MPa.

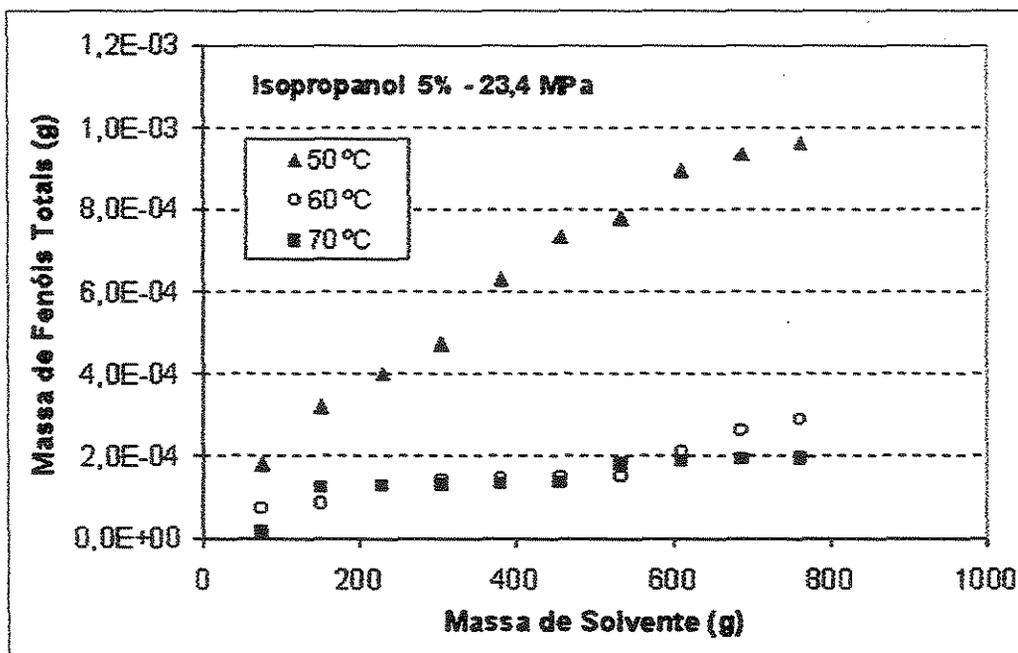


Figura B.57- Curvas de extração de fenóis totais utilizando dióxido de carbono supercrítico e 5% de etanol como co-solvente a 30,0 MPa.

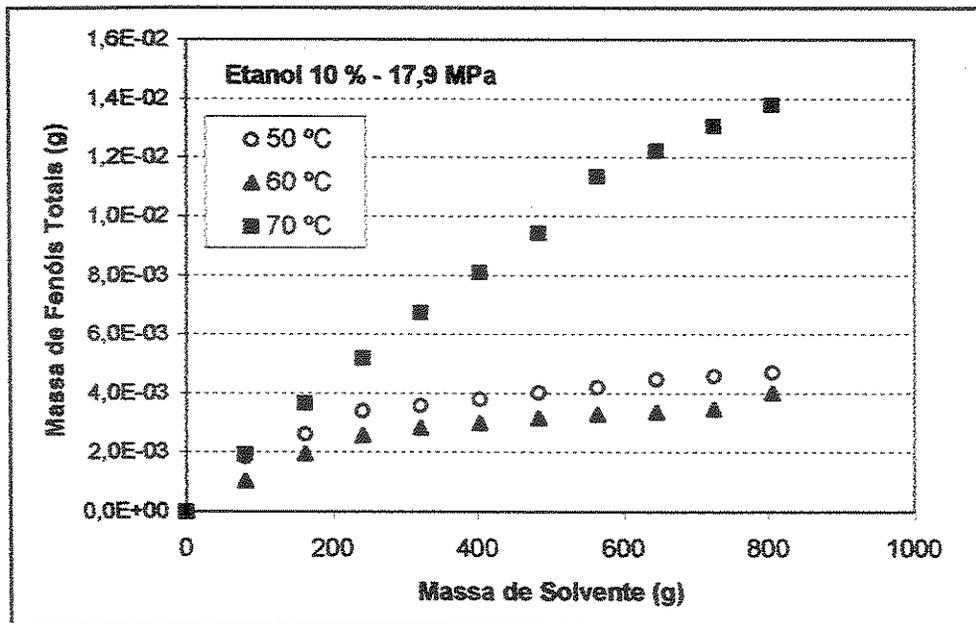


Figura B.58- Curvas de extração de fenóis totais utilizando dióxido de carbono supercrítico e 10% de etanol como co-solvente a 17,9 MPa.

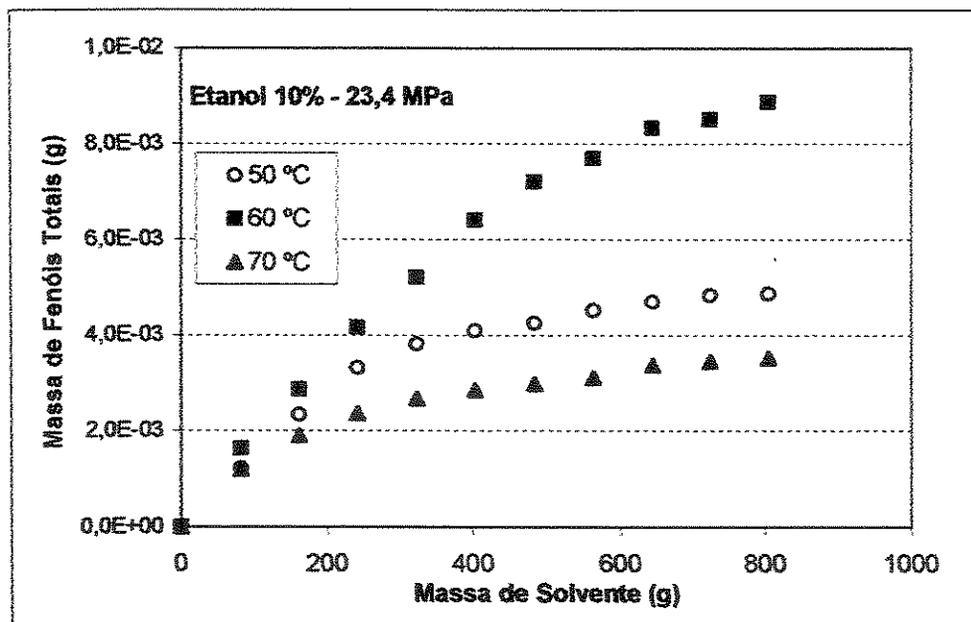


Figura B.59- Curvas de extração de fenóis totais utilizando dióxido de carbono supercrítico e 10% de etanol como co-solvente a 23,4 MPa.

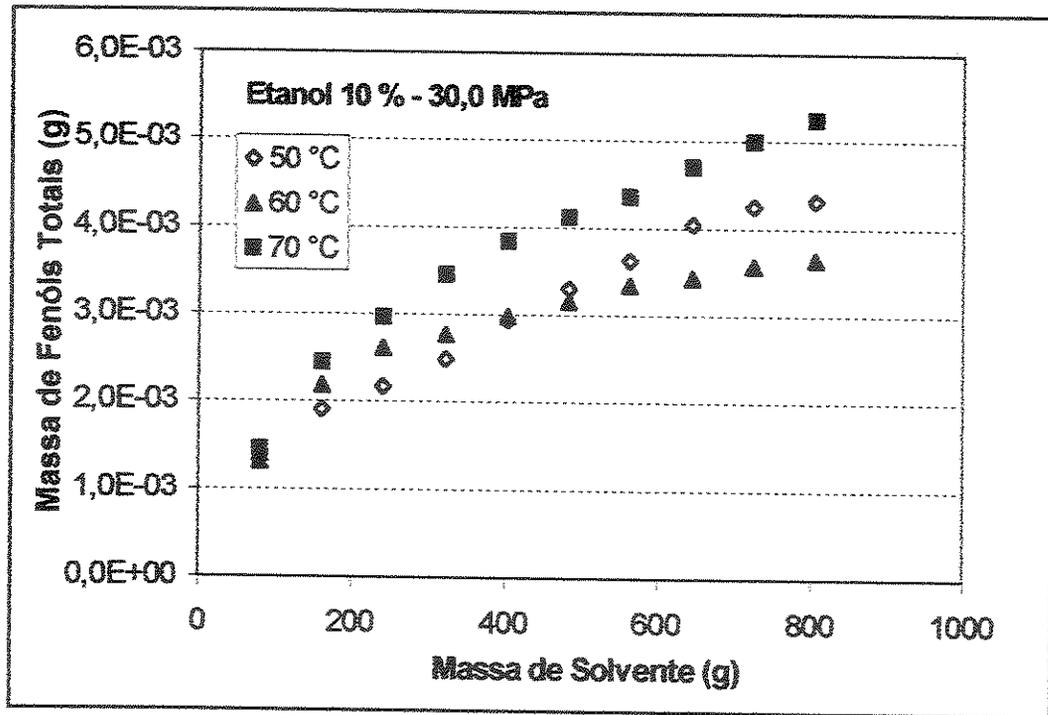


Figura B.60- Curvas de extração de fenóis totais utilizando dióxido de carbono supercrítico e 10% de etanol como co-solvente a 30,0 MPa.

Apêndice C

TRABALHOS PUBLICADOS

- C.1. - U. Kopcak and R.S. Mohamed.** Caffeine Solubility in Supercritical Carbon Dioxide/Co-Solvent Mixtures. Presented in: VI Iberoamerican Conference on Phase Equilibria for Process Design. Foz de Iguazú -Brasil - October 12th to 16th, 2002.
- C.2. - U. Kopcak, Azevedo, A. B. A.; R.S. Mohamed.** Extraction of Caffeine from Guaraná (*Paullinia Cupana*) Seeds Using Supercritical Mixed Solvents. V Encontro Brasileiro de Fluidos Supercríticos. Florianópolis - Brasil - 21 a 23 de abril de 2004.
- C.3. - M.D.A. Saldaña, U. Kopcak, and R.S. Mohamed.** Extraction of Cocoa Butter from Brazilian *Theobroma Cacao* Beans using Supercritical CO₂ and Ethane: Experiment and Model. Presented In: VI Iberoamerican Conference on Phase Equilibria for Process Design. Foz de Iguazú -Brasil - October 12th To 16th, 2002.
- C.4. - Alvaro B.A. de Azevedo, Uiram Kopcak, Rahoma S. Mohamed.** Extraction of fat from fermented Cupuacu seeds with supercritical solvents. *Journal of Supercritical Fluids*, 27(2), 223-237, 2003.

CAFFEINE SOLUBILITY IN SUPERCRITICAL CARBON DIOXIDE/CO-SOLVENT MIXTURES

U. Kopcak and R.S. Mohamed*

School of Chemical Engineering - DTF- UNICAMP,

CP 6066, CEP: 13080-100, Campinas - SP, Brasil.

E-mail: mohamed@feq.unicamp.br

Abstract: In order to assess the effect of co-solvents on the solubility of caffeine in supercritical carbon dioxide, experimental solubility of caffeine in supercritical ethanol-carbon dioxide and isopropanol-carbon dioxide mixed solvents was obtained using a high pressure semi-continuous flow apparatus. Caffeine solubilities in 5% ethanol/95% CO₂, 10% ethanol/90% CO₂ and 5% isopropanol/95% CO₂ mixed solvents were determined at 323.2 and 343.2 K and pressures ranging from 15.2 a 23.4 MPa. The results indicate much higher solubilities of caffeine in these mixed solvents than those obtained in pure carbon dioxide. The large solubilities are attributed to the resultant chemical interaction forces (hydrogen bonding) and increase in dispersion forces in the systems upon the addition of these co-solvents. The more pronounced effectiveness of ethanol in the enhancement of the solubility of caffeine as compared to that obtained with the addition of an equal amount (by weight) of isopropanol to carbon dioxide is related to the higher number of hydroxyl groups available for hydrogen bonding and possible steric effects in systems containing isopropanol. The solubility data also show that the effect of co-solvents is more pronounced as the critical point of the mixed solvent is approached due to the higher compressibility of the fluid at this condition.

Keywords: Caffeine solubility, Supercritical mixed solvents, Carbon dioxide, Ethanol, Isopropanol.

1. Introduction

Caffeine, the most consumed alkaloid in the world, is found in high concentrations in some natural products such as coffee and guaraná seeds, as well as maté and black tea leaves. Because of its therapeutic properties, caffeine is a basic ingredient in the formulation of a variety of medicinal products. It is commonly obtained from these natural products by extraction using organic solvents, such as the dichloromethane or hexane, which are considered harmful for human health and environment. Supercritical carbon dioxide (SC-CO₂) is an inexpensive, inflammable and non-toxic solvent and for these reasons it is considered to be an attractive alternative for these conventional chemical solvents.

Supercritical-fluid (SFC) extraction, a relatively new separation technology, has received wide attention in recent years and has been successfully employed in a variety of applications

* To whom all correspondence should be addressed

including food processing, extraction of active principles for pharmaceutical formulations, waste water treatment, enhanced oil recovery operations, and as an analytical chromatographic technique, among many others. However, nearly all of these applications and techniques involving SFCs are directly dependents on the solubility of low-volatile substances in supercritical fluids.

The solubility enhancement of nonvolatile solutes in SFCs have been shown to be partially attributed to the clustering of solvent molecules around the solute molecules, creating a local density that is greater than the bulk density (Peters and DeBenedetti, 1989; Brennecke et al., 1990; Ting et al., 1993a; Ting et al., 1993b). This clustering effect is found more pronounced near the critical points of the solvent fluids.

The low solubility of polar substances in nonpolar SFCs, such as supercritical carbon dioxide, is an obstacle to the development of viable extraction operations using supercritical solvents. Although supercritical CO₂ is very selective for caffeine, the solubility of caffeine in this solvent is lower than that in organic solvents, which results in the use of large quantities of CO₂ and thereby the substantial increase in both fixed and operating costs.

The addition small amounts of polar co-solvents to nonpolar SFCs, results in a higher polarity supercritical mixed solvent (Ke et al., 1996; Dobbs et al., 1986; Yuan et al., 1997). The solubility of polar solutes in these supercritical mixed solvents is higher than those in pure nonpolar SFCs (Berna et al., 2001; Dobbs et al. 1987; Gurdial et al., 1993; Ting et al., 1993a; Ke et al., 1996; Liu et al., 2001).

The addition of a co-solvent will generally increase the mixture density which contributes to the increase in the magnitude of physical interactions such as dipole-dipole, dipole-induced dipole and induced dipole-induced dipole interactions between solute and solvent molecules and leads to the overall solubility enhancement (Ting et al., 1993a). The addition of co-solvent increases the critical point of the resultant solvent and increases the difference between the local density (around solute molecule) and the bulk density (Kim and Johnston, 1987; Yonker and Smith, 1988; Ting et al., 1993a). The addition of polar co-solvents may also lead to chemical interactions such as hydrogen bonding between the solute and co-solvent molecules leading to larger enhancement of solubility than obtained with physical interactions alone (Ting et al., 1993a).

In this work, new experimental data on the solubility of caffeine in ethanol/carbon dioxide and isopropanol/ dioxide supercritical mixed solvents were obtained at several pressures and temperatures. The experiments were carried out using a high-pressure extraction apparatus that allows the independent control of temperature and pressure.

2. Materials and methods

2.1. Materials

Pure caffeine and analytical ethanol were obtained from Synth Ltda (São Paulo, Brasil) and 95% CO₂-5%Ethanol, 90% CO₂-10%Ethanol, 95% CO₂-5%isopropanol mixed solvents (on w/w basis) were obtained from the White Martins Gases Industrials S.A. (Campinas, Brasil).

2.2. Experimental Apparatus

The experimental apparatus used is a semi-continuous flow high pressure system purchased from Autoclave Engineers (Erie, PA., USA), and designed for working pressures up to 37 MPa at 473 K (Fig. 1). This apparatus is the one used earlier by Saldaña et al. (1999) and Mohamed et al. (2000).

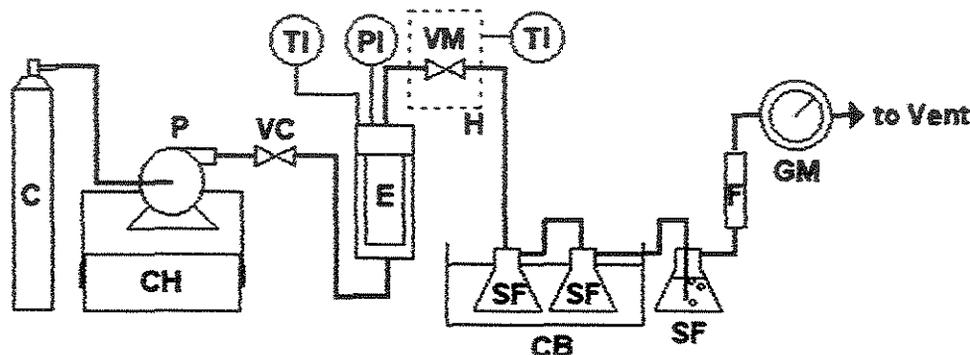


Fig. 1. **Experimental Apparatus.** C-CO₂-Co-solvent Cylinder, CB-Cooling Bath (ice), CH-Chiller, E-Extractor (heated), F-Carbon Adsorption Filter, GM-Gas Flow Meter, H-Heating System, P-Pump, PI-Pressure Indicator, TI-Temperature Indicator, SF-Separator Flask, VC-Check Valve, VM-Micrometering Valve.

The major components of this apparatus (Figure 1) include positive liquid displacement pump- (Thermal Separation Products, Riveira Beach, FL, USA) for solvent delivery (46-460 mL/hr), one 300 mL high pressure extraction vessel and separator flasks. The extraction vessel is supplied with heating jacket and temperature controller. Heating tapes are used throughout the apparatus to maintain constant temperature in the extraction section. To ensure constant and steady solvent delivery, the pump head is cooled by a circulating fluid passing through a chiller, CFT R134a (NESLAB Instruments, Newington, NH, USA). Flow rates and accumulated gas volumes passing through the apparatus are measured using a flow computer measuring device (EG&G Instr. Flow Technology). Autoclave Engineers (Erie-Pennsylvania, USA) micrometering valve (VM) was used for flow control throughout the apparatus. Heating tapes are also used around this valve to prevent freezing of solvents or solid solute precipitation following depressurization. Pressure in the extractor was monitored with a digital transducer system, Heise

Series 901A RTS, acquired from Dresser Industries (Stratford, CT) with a precision of ± 0.03 MPa. Extractor temperature was controlled to $\pm 0.5^\circ\text{C}$.

2.3. Caffeine solubility experiments

In order to determine the solubility of caffeine with supercritical mixtures, samples with 50g of caffeine were placed in the extractor. The caffeine was extracted using supercritical carbon dioxide and co-solvents (ethanol and isopropanol) at 323.2 and 343.2 K, with pressures between 15.2 to 23.4 MPa. A supercritical mixed solvent flow rate of $1.4 \text{ g}\cdot\text{min}^{-1}$ was used. Experiments were carried out in triplicates. In a typical extraction experiment the supercritical mixed solvent was delivered by the pump (P) as a liquid and slowly allowed into the extractor (E) until extraction pressure was reached. The extractor is heated to the extraction temperature and the micrometering valve (VM) located downstream of the extractor was slowly opened while maintaining the pressure constant in the extractor. The effluents of the extractor (supercritical fluid saturated with caffeine) are depressurized through the micrometering valve, which was properly heated to prevent solvent freezing and plugging with precipitated solid solute. The precipitated caffeine following depressurization was recovered in three separator flasks (SF) placed in a cooling bath (CB). Ethanol was previously placed in the last separator flasks to assure complete recovery of precipitated caffeine. The amount of recovered caffeine was dissolved in 200 ml of ethanol. This solution is analyzed with UV spectrophotometer to determine caffeine concentration. The amount of solvent used was determined through the gas flow meter (GF).

2.3. Determination of Caffeine solubility

All the diluted caffeine samples were analyzed by UV spectrophotometry in a UV HP 84453 apparatus (Hewlett Packard, Hanover, Germany). In order to determine caffeine concentration, a calibration curve was first prepared. Absorbencies of Caffeine standard solutions were measured at 270nm and the data obtained are presented in Table 1 and used to construct the calibration curve.

Table 1: caffeine absorbance standards in ethanol at 270 nm.

Concentration $\times 10^5$ (g/mL)	Absorbance at 270 nm
1.738	0.754
2.847	1.285
3.483	1.536
4.426	1.947
5.253	2.266
5.705	2.439

The data were correlated with the expression:

$$C [\text{g/mL}] = 2,3047 \times 10^{-5} \times [\text{Abs}] \quad (1)$$

Where C is the caffeine concentration and Abs is absorbance obtained in each sample. The correlation coefficient obtained for the line was 0.99983.

3. Results and discussion

The solubility of caffeine in supercritical 95% carbon dioxide/5% ethanol, 90% carbon dioxide/10% ethanol and 95% carbon dioxide/5% isopropanol obtained at 323.2 and 343.2 K and pressures between 15.2 MPa and 23.4 MPa is presented in Figures 2 and 3. Caffeine solubility in pure supercritical carbon dioxide obtained by Saldaña et al., 1997, utilizing the same experimental apparatus is also shown for comparison purposes.

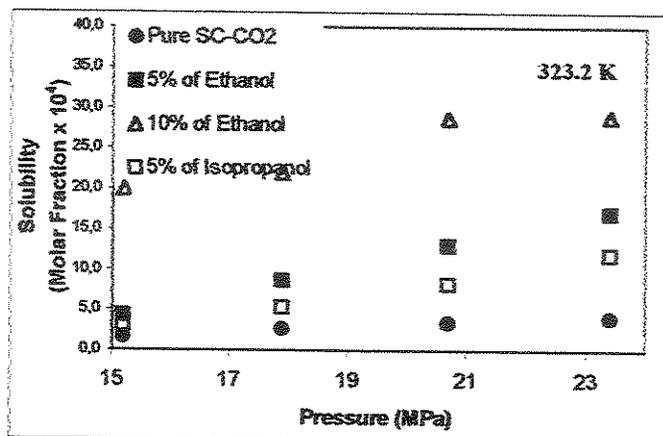


Fig. 2: Caffeine solubility isotherms in supercritical mixtures at 323 K. The solubility of caffeine in pure SC-CO₂ was obtained by Saldaña et al. (1997).

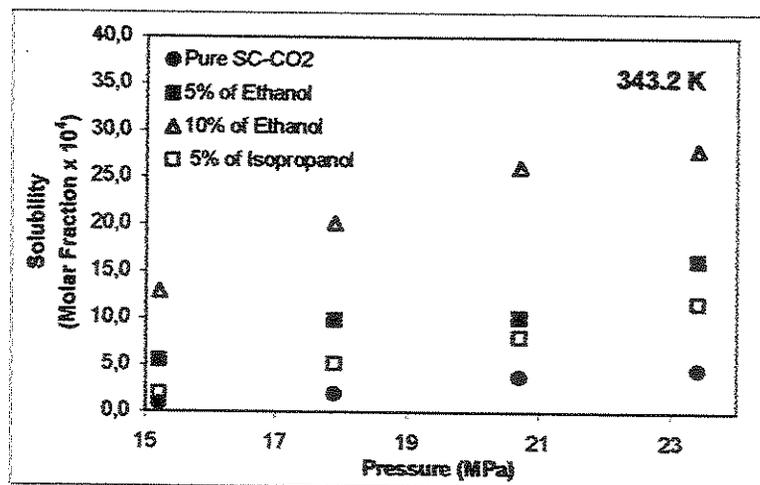


Fig. 3: Caffeine solubility isotherms in supercritical mixtures at 343 K. The solubility of caffeine in pure SC-CO₂ was obtained by Saldaña et al. (1997).

As can be observed in Figure 2 and Figure 3, caffeine solubility increased with pressure and with the addition of co-solvents. The addition of co-solvent increases the solvent density and contributes to the overall solubility enhancement through the resultant increase in physical interactions such as dipole-dipole, induced dipole-dipole and induced dipole-induced dipole (Ting et al., 1993a). This effect is responsible for solubility increase with pressure and addition of co-solvents because in both cases, mixture density increases. The addition of alcohols would also lead to specific intermolecular interactions with the occurrence of hydrogen bonding between caffeine and co-solvent molecules, which would contribute to more solubility enhancement of caffeine in this system.

The solubility of caffeine increases with the quantity of ethanol added with the solubility of caffeine in supercritical CO₂/ethanol mixed solvent containing 10% ethanol being on average two times higher than in mixed solvents containing 5% ethanol. These solubilities were also found to be 8 times higher than those in pure supercritical CO₂. For these two concentrations, the increase in solubility with the amount of ethanol added to the solvent is coherent with the proportional increase in the number of hydroxyl groups available for hydrogen bonding between ethanol and caffeine.

The co-solvent effect defined as the ratio between the solubility of caffeine in the presence of the co-solvent and that in the absence of the co-solvent at the same conditions of temperature and pressure is presented in Figures 4 and 5 for the two temperatures investigated in this study.

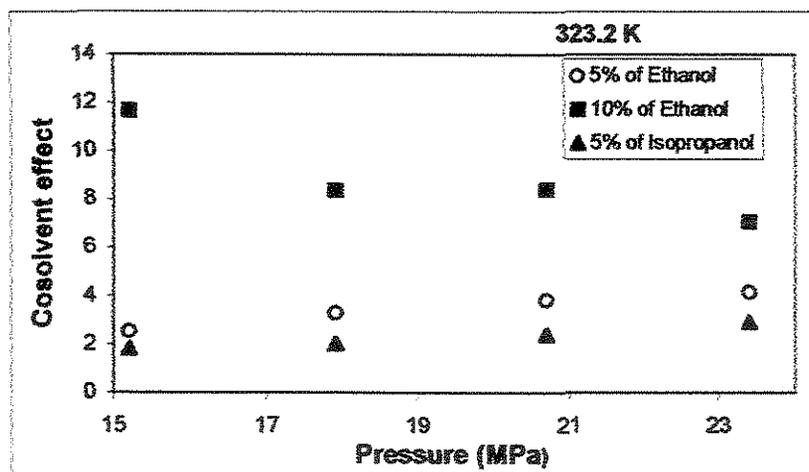


Fig. 4: Co-solvent effect at 323.2 K as a function of system pressure.

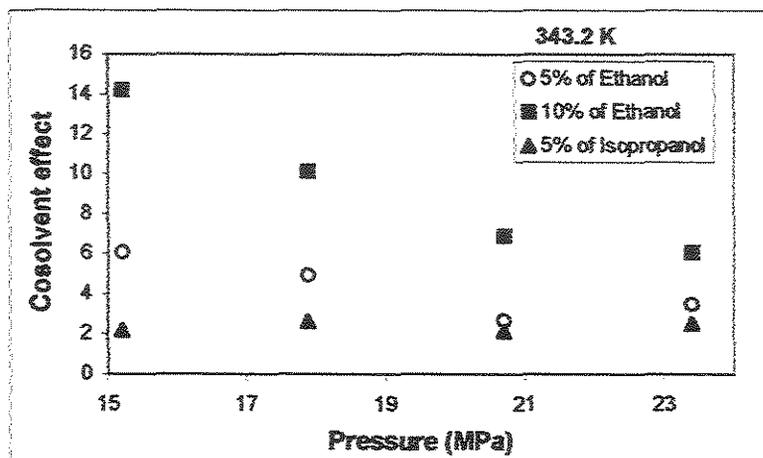


Fig. 5: Co-solvent effect at 343.2 K as a function of system pressure.

The co-solvent effect decreased with increase in pressure for both temperatures with the tendency being more pronounced for the case of the mixed solvent with a 10% ethanol concentration. When co-solvent effects for the cases using mixed solvents with 5% ethanol and 5% isopropanol concentrations are compared, we observe higher co-solvents effects when with ethanol. The addition of ethanol or isopropanol to carbon dioxide in order to form a mixed solvent with 5% w/w alcohol, results in mixed solvents with critical temperatures of 316 K (Gurdial et al., 1991; Ting et al, 1993a). Upon the formation of a mixed solvent that is 10% w/w in ethanol, the critical temperatures jumps to 327K. The difference between the local density and bulk density is higher as the critical point of the solvent is approached due to the higher fluid compressibility in the proximity of the critical point. The co-solvent effect is directly related to this difference between local and bulk densities, the higher the difference in density, the larger the co-solvent effect (Gurdial et al., 1991). Simply put, this increase in co-solvent effect is attributed to the increase in intermolecular physical forces such as dipole-dipole, induced dipole-dipole, etc. This is also the reason why the increase in pressure (and subsequently the density) at a certain temperature leads to increase in solubility.

The co-solvent effect decreases with increase in pressure as seen in Figures 4 and 5, which can be explained by the decrease in the difference between the local and bulk densities as the system moves away from its critical point.

In order to evaluate the relative importance of specific interactions between caffeine and co-solvents (formation of hydrogen bonding) on the solubility enhancement of caffeine in the presence of alcohols, we examine the co-solvent effects in the 95%carbon dioxide-5%ethanol and the 95%carbon-5%isopropanol mixed solvent systems. As these two systems have approximately the same critical temperature (Ting et al., 1993a), the co-solvent effect due to density would be the same in both systems and we would therefore expect the solubility enhancement to be the same in both systems. However, the data obtained show that the co-solvent effect is much more higher in systems containing ethanol. A possible explanation for this would probably be found in the specific interactions involved in both systems. Although the two mixed solvents contain the same amount (by weight) of alcohol, the CO₂-ethanol mixed solvent contain more hydroxyl groups due to the lower molecular weight of ethanol in comparison with isopropanol. This means more hydroxyl groups available for the formation of hydrogen bonds

with caffeine molecules and thereby, a better solvency and higher co-solvent effect. In molar quantities, the two mixed solvents contain 4.8 and 3.7% of ethanol and isopropanol, respectively. For the two temperatures studied, the solubility of caffeine in CO₂-ethanol mixed solvent was on average 53% higher than that in the CO₂-isopropanol system. The number of hydroxyl groups in ethanol containing systems was only 28% higher than in those containing isopropanol. We do however have the possible higher steric effects in isopropanol containing systems when compared to those containing ethanol, which could make the formation of complexes more difficult in the presence of isopropanol as compared to ethanol. A similar effect was pointed out by Ting et al. (1993a) in order to explain the better solubility of naproxen in supercritical carbon dioxide/n-propanol in comparison with that in supercritical carbon dioxide/isopropanol system at the same temperature, pressure and molar composition. The presence of steric effects due to the relative position of the hydroxyl group in n-propanol and isopropanol was pointed out as the responsible factor.

4. Conclusions

The addition of polar co-solvents such as ethanol and isopropanol to supercritical carbon dioxide resulted in larger solubility enhancements of caffeine in the supercritical mixed solvents as compared to those with pure carbon dioxide. The solubility of caffeine in supercritical mixed solvents containing ethanol increased with the amount of ethanol for the conditions examined in this study. This increase in solubility could be attributed to two factors: i) increase in solvent density and thereby the increase in physical interaction forces and ii) chemical interactions with the formation of hydrogen bonds between caffeine and alcohol molecules. The co-solvent effects were found more pronounced for the 90%CO₂-10%ethanol mixed solvent system for which experimental conditions were closer to the critical point of the solvent.

The co-solvent effect was found to decrease with increase in pressure. The better enhancement in solubility obtained using ethanol as compared to that using the same amount (by weight) of isopropanol is attributed to the higher hydroxyl group content responsible for the specific molecular interactions through hydrogen bonding and the less favorable steric effects in the presence of isopropanol.

Acknowledgments

The authors thank the Brazilian Research Funding agencies: FAPESP and CNPq for their financial support.

References

- Berna, A.; Cháfer, A.; Montón, J.B. (2001). High-Pressure Solubility Data of the System Reveratrol (3) + Ethanol (2) + CO₂ (1). *Journal of Supercritical Fluids*, 19, 133.
- Brennecke, J.F.; Tomasko, D.L.; Peshkin, J.; Eckert, C.A. (1990). Fluorescence Spectroscopy Studies of Dilute Supercritical Solutions. *Ind. Eng. Chem. Res.*, 29, 1682.
- Dobbs, J.M.; Wong, J.M.; Johnston, K.P. (1986). Nonpolar co-solvents for solubility enhancement in supercritical fluids. *J. Chem. Eng. Data.*, 31, 303.
- Gurdial, G.S.; Foster, N.R.; Yun, S.L.J. (1991-). The Critical Loci of Binary Polar and Non-Polar Organic Compounds-CO₂ System at Low Solute Concentration. In: *the Second International Conference on Supercritical Fluids*, Boston, MA.
- Gurdial, G.S.; Macnaughton, S.J.; Tomasko, D.L.; Foster, N.R. (1993). Influence of Chemical Modifiers on the Solubility of o- and m-Hydroxybenzoic Acid in Supercritical CO₂. *Ind. Chem. Eng. Res.* 32, 1482.
- Ke, J.; Mao, C.; Zhong, M.; Han, B.; Yan, H. (1996). Solubilities of Salicylic Acids in Supercritical Carbon Dioxide with Ethanol Cosolvent. *The Journal of Supercritical Fluids*, 9, 82.
- Kim, S. W.; Johnston, K.P. (1987). Clustering In Supercritical Fluid Mixtures. *Aiche J.* 33(10), 1603.
- Liu, J.; Han, B.; Li, G.; Liu, Z.; He, J.; Yang, G. (2001). Solubility of non-ionic surfactant tetraethylene glycol *n*-laurel ether in supercritical CO₂ with *n*-pentanol. *Fluid Phase Equilibria*, 187-188, 247.
- Saldaña, M. D. A. (1997). Extração de cafeína, trigonelina e ácido clorogênico de café com CO₂ supercrítico. M.Sc. thesis, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, Brasil.
- Mohamed, R.S., Saldaña, M. D. A., Socantaype, F. H., Kieckbusch, T. G. (2000). Reduction in the cholesterol content of butter oil using supercritical ethane extraction and adsorption on alumina. *Journal of Supercritical Fluids*, 16, 225.
- Petsche, I.B.; Debenedetti, P.G. (1989) Solute solvent interactions in infinitely dilute supercritical mixtures - a molecular-dynamics investigation. *J. Chem. Phys.* 91(11), 7075.
- Saldaña, M.D.A., Mazzafera, P. and Mohamed, R. S. (1999). Extraction of purine alkaloids from maté plant *Ilex paraguariensis* using supercritical CO₂. *Journal of Agric. and Food Chemistry*, 47(9), 3804.
- Ting, S.S.T.; Macnaughton, S.J.; Tomasko, D.L. And Foster, N.R. (1993a). Solubility of naproxen in supercritical carbon dioxide with and without cosolvents. *Ind. Eng. Chem. Res.* 32, 1471.
- Ting, S.S.T.; Tomasko, D.L.; Macnaughton, S.J. And Foster, N.R. (1993b). Chemical-Physical Interpretation of Cosolvents Effects in Supercritical Fluids. *Ind. Eng. Chem. Res.* 32, 1482.
- Yonker, C.R.; Smith, R.D. (1988) Solvatochromic behavior of binary supercritical fluids - the carbon dioxide 2-propanol system. *J Phys Chem-US* 92(8) 2374.
- Yuan, H.; Gao, G.T.; Zeng, X.C. (1997). Effects of the co-solvent energy parameter and dipolar strength on solute residual chemical potential. *Fluid Phase Equilibria*, 138, 61.

EXTRACTION OF CAFFEINE FROM GUARANÁ (*Paullinia cupana*) SEEDS USING SUPERCRITICAL MIXED SOLVENTS

Uiram Kopcak, Alvaro B. A. de Azevedo and Rahoma S. Mohamed*

School of Chemical Engineering - DTF- UNICAMP, CP 6066, CEP: 13080-100, Campinas – SP, Brasil.

Abstract: Extraction curves for caffeine from ground roasted *guaraná* seeds (*Paullinia cupana*) were obtained using supercritical 5% ethanol/ 95%CO₂, 10% ethanol/ 90% CO₂ and 5% isopropanol/95% CO₂ mixed solvents at 323.2, 333.2 and 343.2 K and pressures ranging from 17.9 at 30.0 MPa. Extraction experiments were carried out using a high-pressure semi-continuous flow apparatus, with solvent flow rates maintained at 1.44 g/min. The results indicated large increases in caffeine extraction with cosolvent concentration due to the resultant chemical interaction forces and the increase in physical dispersion forces in the systems upon the addition of cosolvents. The addition of cosolvents, however, was found to reduce solvent selectivity for caffeine with an increase in the extraction of phenols. Caffeine extraction increased with increase in temperature due to the increase of desorption of caffeine from solid seed matrix. Decrease in particle size resulted in increase of caffeine extraction due to the higher exposure of surface caffeine for extraction. Increase in pressure resulted in a decrease in caffeine extraction, probably due to the decrease in caffeine selectivity.

Keywords: Supercritical extraction, cosolvent, caffeine, guaraná seeds.

1. Introduction

Caffeine, the most consumed alkaloid in the world, is found in high concentrations in some natural products such as coffee beans (1-2 % w/w), maté leaves (2-3% w/w) and guaraná seeds (5-6% w/w). *Guaraná* is cultivated in large scale in the north of Brazil.

Because of its therapeutic properties, caffeine is a basic ingredient in the formulation of a variety of medicinal products. It is commonly obtained from these natural products by extraction using organic solvents, such as dichloromethane or hexane, which are considered harmful for human health and environment. Supercritical carbon dioxide (SC-CO₂) is an inexpensive, inflammable and nontoxic solvent and for these reasons is considered as an attractive alternative for these conventional chemical solvents.

Supercritical-fluid (SFC) extraction has received wide attention in recent years and has been successfully employed in a variety of applications including food processing [1], extraction of active principles for pharmaceutical formulations [2, 3, 4], waste water treatment [5], enhanced oil recovery operations [6, 7] and as an analytical chromatographic technique [8, 9] among many others. Nearly all of these applications and techniques are directly dependent on the solubility of low-volatile substances in supercritical fluids (SFCs). The solubility enhancement of nonvolatile solutes in SFCs has been shown to be partially attributed to the clustering of solvent molecules around the solute molecules, creating a local density that is greater than the bulk density [10, 11, 12, 13]. This clustering effect is more pronounced near the critical points of the solvent fluids.

Saldaña *et al.* (1997) [3] demonstrated that although supercritical CO₂ is very selective for caffeine, the solubility of caffeine in pure SC-CO₂ at pressures between 19 and 23 MPa and temperatures between 313.15 and 343.15 K ($1.3 - 1.7 \times 10^{-6}$ g/kg of CO₂) is lower than the solubility in organic solvents. This results in the necessity of large quantities of CO₂ and thereby the substantial increase in both fixed and operating costs. The extraction of caffeine

* To whom all correspondence should be addressed, e-mail: mohamed@feq.unicamp.br

from ground coffee beans was greatly improved using water-saturated supercritical carbon dioxide which the authors attributed to the presence of water acting as a polar cosolvent. The addition of small amounts of polar cosolvents to nonpolar SFCs, results in a supercritical mixed solvent of higher polarity [14, 15, 16] and higher solubility of polar solutes in these supercritical mixed solvents [12, 14, 17, 18, 19]. The addition of a cosolvent i) increases the mixture density, which results in stronger physical interactions between solute and solvent molecules [12], ii) elevates the critical point of the resultant solvent and increases the difference between the local density (around solute molecule) and the bulk density [12, 20, 21], and iii) may also lead to chemical interactions such as hydrogen bonding between the solute and cosolvent molecules inducing larger enhancement of solubility than obtained with physical interactions alone [12].

In this work, experimental curves for the caffeine extraction from ground roasted guaraná seeds (*Paullinia cupana*) using SC-CO₂ and the polar co-solvents: ethanol and isopropanol are presented as function of pressure, temperature and particle diameter of guaraná ground seeds.

2. Materials and methods

2.1. Materials

Roasted guaraná seeds (*Paullinia cupana*) were produced in the Maués Region in the amazon basin of Brazil (Amazonas, Brazil) and donated to us by EMBRAPA (Campinas, Brazil). Analytical grade ethanol with purity of 99.9 % was obtained from Synth Ltda (Sao Paulo, Brazil) and 95% CO₂-5%Ethanol, 90% CO₂-10%Ethanol, 95% CO₂-5%isopropanol mixed solvents (on w/w basis) were obtained from White Martins G.I. S/A (Campinas, Brazil).

2.2. Experimental Apparatus

The experimental apparatus is a semi-continuous flow high pressure system purchased from Autoclave Engineers (Erie, PA., USA), and designed for working pressures up to 37 MPa at 473 K. This apparatus is the same one used earlier by this group [22, 23, 24]. The major components of this apparatus (Figure 1) include a positive liquid displacement pump- (Thermal Separation Products, Riveira Beach, FL, USA) for solvent delivery (46-460 mL/hr), one 300 mL high pressure extraction vessel and separator flasks. The extraction vessel is supplied with a heating jacket and a temperature controller. Heating tapes are used throughout the apparatus to maintain constant temperature in the extraction section. To ensure constant and steady solvent delivery, the pump head is cooled by a circulating fluid, which passes through a chiller, CFT R134a (NESLAB Instruments, Newington, NH, USA). Flow rates and accumulated gas volumes passing through the apparatus are measured using a flow computer measuring device (EG&G Instr. Flow Technology). Autoclave Engineers (Erie-Pennsylvania, USA) micrometering valves are used for flow control throughout the apparatus. Heating tapes are also used around this valve to prevent freezing of the solvents or solid solute precipitation following depressurization. Pressure in the extractor is monitored with a digital transducer system, Heise Series 901A RTS, acquired from Dresser Industries (Stratford, CT) with a precision of ± 0.03 MPa. Extractor temperature is controlled to $\pm 0.5^\circ\text{C}$.

2.3. Solute Extraction Curves

In order to determine the extraction curves of caffeine from ground roasted guaraná seeds with supercritical mixtures, 12g samples of ground guaraná seeds (previously dried for 12 hs at 333.2 K) were placed in the extractor. These samples were extracted using supercritical 95% CO₂/ 5% ethanol, 90% CO₂/ 10% ethanol and 95% CO₂/ 5% isopropanol (w/w basis)

solvents at 323.2, 333.2 and 343.2 K, with pressures at 15.2, 23.4 and 30 MPa. Caffeine extraction curves from *guaraná* particles with diameters ranging from 91 to 775 μm were obtained at

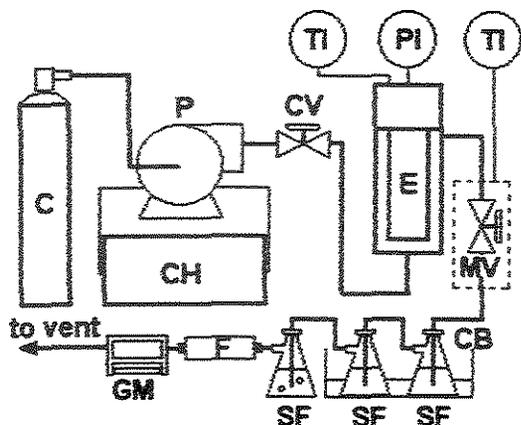


Fig. 1. Experimental apparatus. C-CO₂-Cosolvent cylinder, CB-Cooling bath (ice), CH-Chiller, E-Extractor (heated), F-Carbon adsorption filter, GM-Gas flow meter, P-Pump, PI-Pressure indicator, TI-Temperature indicator, SF-Separator flask, CV-Check valve, MV-Micrometering valve.

precipitated solid solute. The precipitated solute following depressurization was recovered in three separator flasks placed in a cooling bath. Ethanol was previously placed in the last separator flasks to assure complete recovery of the precipitated solute. The amount of recovered caffeine was determined with UV spectrophotometer. These samples were also analyzed by a colorimetric method to determine the total phenols present in these samples. The method utilized is the same presented by Swain and Hillis (1959) [25]. The amount of solvent gas used was determined through the gas flow meter.

3. Results and discussion

In order to determine the effect of particle diameter on the extraction of caffeine from *guaraná* seeds, experiments of caffeine extraction at 23.4 MPa and 323.2 K using 5% (w/w basis) of ethanol as co-solvent added to CO₂ were obtained utilizing *guaraná* seeds with average particles diameters between 91 and 775 μm . The extraction curves shown in Figure 2 display the three extraction periods suggested by Sovová *et al.* (1994) [26], with the extraction ratio representing extracted caffeine per mass of solvent used in each period given by the inclination of each part of the curve.

We can see that an increase in particle diameter results in a shorter solubility-controlled period of extraction, which is consistent with the expected decrease in accessible solute for

323.5 K, at 23.4 MPa. A supercritical mixed solvent flow rate of 1.4 $\text{g}\cdot\text{min}^{-1}$ was used. In a typical extraction experiment the supercritical mixed solvent was delivered by the pump as a liquid and slowly allowed into the extractor until extraction pressure was reached.

The extractor is heated to the extraction temperature and the micrometering valve located downstream of the extractor was slowly opened while maintaining the pressure constant in the extractor.

The effluents of the extractor are depressurized through the micrometering valve, which was properly heated to prevent solvent freezing and plugging with

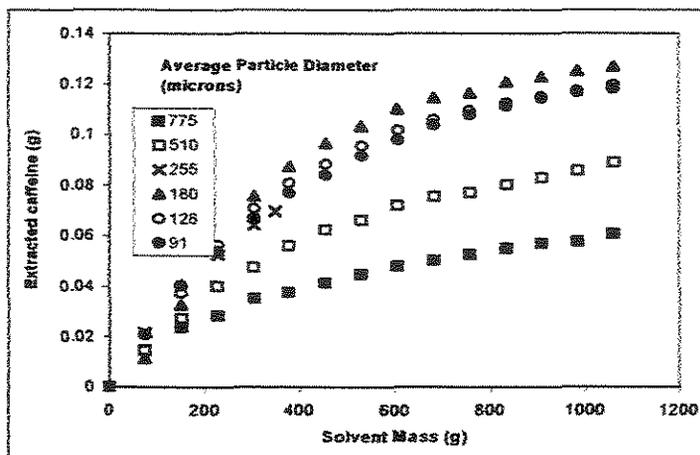


Fig. 2: Extraction curves of caffeine from ground roasted *guaraná* seeds using supercritical 95% CO₂/5% ethanol mixed solvent. Experiments were carried out at 323.2 K and 23.4 MPa. The curves present the amount of caffeine extracted as function of solvent mass and average particle diameter of natural matrix.

the supercritical solvent as the particle diameter is increased. Table 1 shows the extraction ratio in the solubility and diffusion-controlled periods of extraction. In the absence of any interference of the plant solid matrix, the inclination for the solubility-controlled region would represent the thermodynamic solubility of caffeine in carbon dioxide at 323.2 K and 23.4 MPa. The value obtained here is however an order of magnitude smaller than that reported by Saldaña *et al.* (1997) [3] for the caffeine-carbon dioxide binary system obtained with this very same apparatus at the same temperature and pressure.. The difference in the solubility value could well be attributed to interactions present in the supercritical carbon dioxide-solute-solid-matrix system and indicates the difficulty of using solubility data obtained in binary model systems for the prediction of solubility in natural plant systems.

Table 1 - Extraction ratios of caffeine from roasted and ground *guaraná* seeds obtained from the first and third extraction periods.

Period	Rate of extraction (mass of caffeine /mass of solvent)	Standard Deviation (%)	Data points*
Solubility-controlled	$(2.4 \pm 0.4) \times 10^{-4}$	18	15
Diffusion-controlled	$(3.1 \pm 0.6) \times 10^{-5}$	18	19

* Number of points (showed in the Figure 2) utilized to calculate the average extraction ratio in each period.

As shown in Table 1, the extraction ratio in the diffusion-controlled period is an order of magnitude smaller than that obtained for the solubility-controlled period. However, for particles with diameters smaller than 180 μm , the duration of solubility-controlled period decreases with the decrease in particle diameter. This suggests the possible aggregation of these fine particles forming agglomerates with an effective decrease of the surface area accessible for the supercritical solvent. From Figure 2, it is evident that the maximum amount of caffeine was extracted from seeds with an average particle diameter of 180 μm . For this reason, all others experiments were carried out using an average particle diameter of 180 μm .

Co-solvent effect: Some typical extraction curves obtained with the addition of co-solvents to supercritical carbon dioxide are shown in Figure 3. The forms of the extraction curves are similar to those obtained with supercritical carbon dioxide. Moreover, the extraction ratio in the solubility period and the total accumulated amount of extracted caffeine were found to increase with the increase of amount of cosolvent. The addition of cosolvent increases the solvent density and contributes to the overall extraction enhancement through the resultant increase in physical interactions [12]. The addition of alcohols in this system would also lead to specific intermolecular interactions with the occurrence of hydrogen bonding between caffeine and cosolvent molecules, which would enhance the extraction. The data obtained show that the cosolvent effect is higher in systems containing ethanol. A possible explanation for this would probably be found in the specific interactions involved in both systems. Although the two mixed solvents contain the same amount (by weight) of alcohol, the CO_2 -ethanol mixed solvent contain more hydroxyl groups due to the lower molecular weight of ethanol in comparison with isopropanol. This means more hydroxyl groups available for the formation of hydrogen bonds with caffeine molecules and thereby, a better solvency and higher cosolvent effect. We do also have the possible higher steric effects in isopropanol containing systems when compared to those containing ethanol, which could make the formation of complexes (caffeine-alcohol) more difficult in the presence of isopropanol as compared to ethanol.

Temperature and pressure effects: The relative extraction and recovery of caffeine in ground guaraná seeds using supercritical 95% carbon dioxide-5%ethanol mixed solvent at 30

MPa as a function of temperature and solvent mass is presented in Figure 4. Caffeine recovery increased with temperature. due to the increase of solvent mobility and, consequently, the bigger facility of the solvent to penetrate into the solid matrix and to the increase of vapor pressure of the solute which increases in the desorption of solute from solid matrix. These results are in agreement with other works in the literature, on caffeine extraction from coffee beans

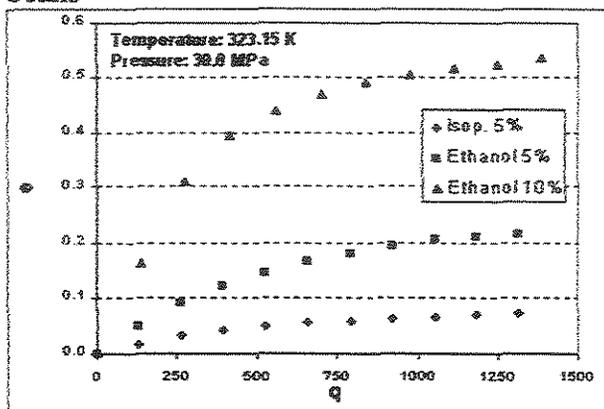


Fig. 3: Extraction curves of caffeine from guaraná seeds using supercritical mixtures at 323.2 K and 30.0 MPa. e: extracted caffeine/initial caffeine mass contained in the extraction bed; q: solvent mass/ initial caffeine mass contained in the extraction bed. Mass of Guaraná sample: 12 g. Total amount of caffeine in sample: 0,5784 g.

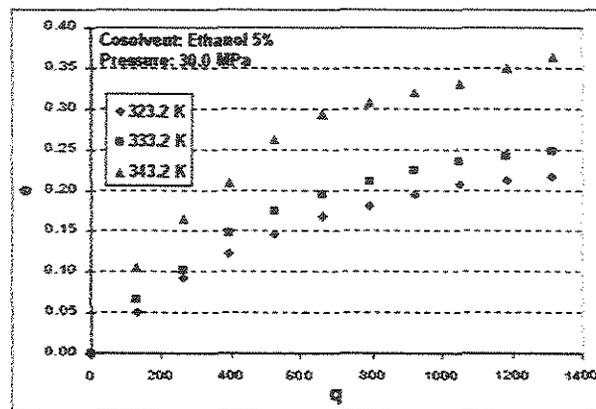


Fig. 4: Extraction curves of caffeine from guaraná seeds using SC-CO₂ and 5% of ethanol at 30.0 MPa as function of temperature. Mass of Guaraná sample: 12 g. Total amount of caffeine in sample: 0,5784 g.

using SC-CO₂ [3] and the BCP's extraction from contaminated soils using SC-CO₂ [27]. Figure 5 shows the relative extraction and recovery of caffeine using supercritical 90%carbon dioxide-10%ethanol mixed solvent at 343.2 K as a function of pressure and solvent mass. In the general, the extraction ratio of caffeine increases smoothly with the decrease in pressure, with this behavior being more pronounced at the higher temperatures.

This decrease in the amount of caffeine with pressure can be associated with the reduction of solvent selectivity for caffeine with the extraction of other competing components, phenols in this case.

The selectivity of the supercritical solvent for phenols in relation to caffeine, defined as the extracted mass of total phenols divided by the extracted mass of caffeine is presented in Table 2 for all the conditions and solvents employed in this work.

Table 2: Selectivity for total phenols in relation to the caffeine

Cosolvent	17.9 MPa			23.4 MPa			30.0 MPa			Aver.
	323.2 K	333.2 K	343.2 K	323.2 K	333.2 K	343.2 K	323.2 K	333.2 K	343.2 K	
Isop. 5%	0.040	0.025	0.009	0.008	0.004	0.003	0.004	0.004	0.003	0.011
EtOH 5%	0.008	0.003	0.012	0.006	0.004	0.010	0.009	0.009	0.012	0.008
EtOH 10%	0.041	0.022	0.037	0.030	0.026	0.011	0.030	0.017	0.023	0.027

The selectively of the supercritical solvent for phenols is increased with the increase in the amount of cosolvent added to supercritical carbon dioxide (Table 2). Although the increase

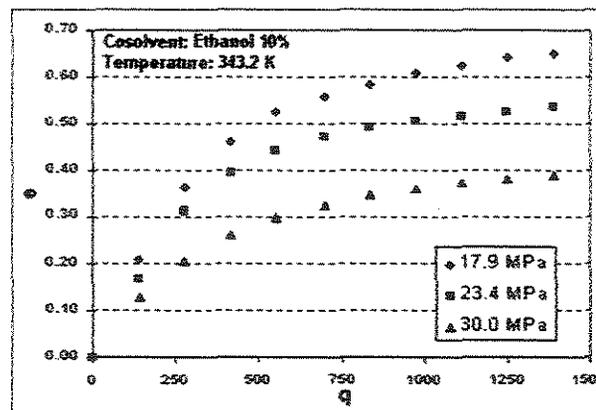


Fig. 5: Extraction curves of caffeine from guaraná seeds using SC-CO₂ and 10% of ethanol as cosolvent at 343.2 K as function of pressure. Mass of Guaraná sample: 12 g. Total amount of caffeine in sample: 0,5784 g.

in the amount of polar cosolvents increased the extraction ratio of caffeine, it increased the extracted mass of phenols much more. Even though the selectivity of the supercritical solvent for caffeine decreased with the cosolvent addition, the selectivity was still sufficiently high when compared to that for phenols. The effect of pressure and temperature on the behavior of extracted total mass of phenols is similar to that observed for caffeine. The best conditions for the extraction of caffeine and total mass of phenols were 17.9 MPa, 343.2 K using 10% of ethanol as cosolvent and particle diameter of roasted and ground *guaraná* seeds equal to 180 μm .

4. Conclusions

The addition of ethanol and isopropanol to supercritical carbon dioxide increased the extraction of caffeine and phenols from ground and roasted *guaraná* seeds. The extraction of caffeine and phenols in supercritical/ethanol mixed solvents increased with the amount of ethanol, which could be attributed to the increase in solvent density and thereby the increase in physical interaction forces as well as the presence of chemical interactions with the formation of hydrogen bonds between the polar solutes and alcohol molecules. The selectivity of supercritical CO_2 for caffeine in relation to phenols decreased with cosolvent addition. The increase in extraction temperature improved the extraction of caffeine and phenols from *guaraná* seeds due to the resultant increase in the desorption of these solutes from the natural plant solid matrix. The increase of extraction pressure resulted in a decrease in extraction of caffeine, due to loss of solvent selectivity for caffeine with increase in pressure. The best conditions for the extraction of caffeine and total mass of phenols were 17.9 MPa, 343.2 K using 10% of ethanol as cosolvent and particle diameter of roasted and ground *guaraná* seeds equal to 180 μm .

Acknowledgments

The authors thank the Brazilian Research Funding Agencies: FAPESP and CNPq for their support.

References

- [1] Tzia, C.; Liadakis, G (Eds.) Extraction Optimization in Food Engineering. M. Dekker Pub., 2003, 456 pp.
- [2] Saldaña, M. D. A.; Zetzl, C.; Mohamed, R. S.; Brunner, G. Extraction of Methylxanthines from Guarana' Seeds, Mate' Leaves, and Cocoa Beans Using Supercritical Carbon Dioxide and Ethanol. *J. Agric. Food Chem.*, 50, 4820-4826, 2002.
- [3] Saldaña, M. D. A., Mazzafera, P.; Mohamed, R. S. Extraction of caffeine, trigonelline and chlorogenic acid from coffee beans with supercritical fluids, 4th Inter. Symp. on SFC, May 11-14, Sendai, Japan, 1997, p. 219-222.
- [4] Wang, S.; Kienzie, F. The Syntheses of Pharmaceutical Intermediates in Supercritical Fluids. *Ind. Eng. Chem. Res.* 39, 4487, 2000.
- [5] Mizuno, T.; Goto, M.; Kodama, A.; Hirose, T. Supercritical Water Oxidation of a Model Municipal Solid Waste. *Ind. Eng. Chem. Res.* 39, 2807, 2000.
- [6] He, H.; Corke, H.; Cai, L. Supercritical Carbon Dioxide Extraction of Oil and Squalene from *Amaranthus* Grain. *J. Agric. Food Chem.*, 51, 7921, 2003.
- [7] Mohamed, R.S., Saldaña, M. D. A., Socantaype, F. H., Kieckbusch, T. G. Reduction in the cholesterol content of butter oil using supercritical ethane extraction and adsorption on alumina, *J. Supercritical Fluids*, 16, 225, 2000.
- [8] Bolaños, B. J.; Ventura, M. C.; Greig, M. J. Preserving the Chromatographic Integrity of High-Speed Supercritical Fluid Chromatography Separations Using Time-of-Flight Mass Spectrometry. *J. Comb. Chem.*, 5 (4), 451, 2003.
- [9] Phinney, K.W. SFC of Drug Enantiomers. *Anal. Chem.*, 72, 204a., 2000.
- [10] Petsche, I.B.; Debenedetti, P.G. Solute solvent interactions in infinitely dilute supercritical mixtures - a molecular-dynamics investigation. *J. Chem. Phys.* 91(11), 7075, 1989.

- [11] Brennecke, J.F.; Tomasko, D.L.; Peshkin, J.; Eckert, C.A. Fluorescence Spectroscopy Studies of Dilute Supercritical Solutions. *Ind. Eng. Chem. Res.*, 29, 1682, 1990.
- [12] Ting, S.S.T.; Macnaughton, S.J.; Tomasko, D.L. And Foster, N.R. Solubility of naproxen in supercritical carbon dioxide with and without cosolvents. *Ind. Eng. Chem. Res.* 32, 1471, 1993a.
- [13] Ting, S.S.T.; Tomasko, D.L.; Macnaughton, S.J. And Foster, N.R. Chemical-Physical Interpretation of Cosolvents Effects in Supercritical Fluids. *Ind. Eng. Chem. Res.* 32, 1482, 1993b.
- [14] Ke, J.; Mao, C.; Zhong, M.; Han, B.; Yan, H. Solubilities of Salicylic Acids in Supercritical Carbon Dioxide with Ethanol Cosolvent. *The Journal of Supercritical Fluids*, 9, 82, 1996.
- [15] Dobbs, J.M.; Wong, J.M.; Johnston, K.P. Nonpolar cosolvents for solubility enhancement in supercritical fluids. *J. Chem. Eng. Data.*, 31, 303, 1986.
- [16] Yuan, H.; Gao, G.T.; Zeng, X.C. Effects of the cosolvent energy parameter and dipolar strength on solute residual chemical potential. *Fluid Phase Equilibria*, 138, 61, 1997.
- [17] Berna, A.; Cháfer, A.; Montón, J.B. High-Pressure Solubility Data of the System Revertrol (3) + Ethanol (2) + CO₂ (1). *Journal of Supercritical Fluids*, 19, 133, 2001.
- [18] Gurdial, G.S.; Macnaughton, S.J.; Tomasko, D.L.; Foster, N.R. Influence of Chemical Modifiers on the Solubility of o- and m-Hydroxybenzoic Acid in SC-CO₂. *Ind. Chem. Eng. Res.* 32, 1482, 1993.
- [19] Liu, J.; Han, B.; Li, G.; Liu, Z.; He, J.; Yang, G. Solubility of non-ionic surfactant tetraethylene glycol *n*-laurel ether in supercritical CO₂ with *n*-pentanol. *Fluid Phase Equilib.*, 187-188, 247, 2001.
- [20] Kim, S. W.; Johnston, K.P. Clustering In Supercritical Fluid Mixtures. *Aiche J.* 33(10), 1603, 1987.
- [21] Yonker, C.R.; Smith, R.D. Solvatochromic behavior of binary supercritical fluids - the carbon dioxide 2-propanol system. *J Phys Chem-US* 92(8) 2374, 1988.
- [22] Neves, B. M. *Solubilidade do Colesterol e do Óleo de Manteiga em Dióxido de Carbono Supercrítico*, Dissertação de Mestrado, Universidade Estadual de Campinas, Brasil, 1996.
- [23] Saldaña, M. D. A. *Extração de cafeína, trigonelina e ácido clorogênico de café com CO₂ supercrítico*. Dissertação de Mestrado, Universidade Estadual de Campinas, Brasil, 1997.
- [24] Azevedo, A. B. A. *Extração e Fracionamento da Gordura do Cupuaçu (Thebroma grandiflorum) com Fluidos Supercríticos*. Dissertação de Mestrado, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, Brasil, 2001.
- [25] Swain, T.; Hillis, W.E. The phenolic constituents of *Prunus domestica*. I. The quantitative analysis of phenolic constituents. *J. Sci. Food Agric.* 10, 63-68, 1959.
- [26] Sovová, H. R.; Kucera, J.; Jez, J. Rate of the vegetable oil extraction with supercritical CO₂-II. Extraction of grape oil. *Chemical Engineering Science*, 49(3), 415-420, 1994.
- [27] Björklund, E.; Bøwadt, S.; M.; Mathiasson, L.; Hawthorne, S.B. Determining sorption/desorption behavior on sediments using selective supercritical fluid extraction. I-Desorption from historically contaminated samples. *Environ. Sci. Technol.*, 33, 2193-2203, 1999.

EXTRACTION OF COCOA BUTTER FROM BRAZILIAN *Theobroma cacao* BEANS USING SUPERCRITICAL CO₂ AND ETHANE: EXPERIMENT AND MODEL

M.D.A. Saldaña, U. Kopcak, and R.S. Mohamed^{*}
School of Chem. Eng. - DTF- UNICAMP,
CP 6066, CEP: 13080-100, Campinas - SP, Brazil.
E-mail: mohamed@feq.unicamp.br

Abstract. High quality cocoa butter is obtained by mechanical pressing and solvent extraction. Increasing awareness of health and safety hazards associated with the use of organic solvents, due to the possible contamination of extracted products has placed new demands on the food industry to develop new and clean technologies for the processing of food products. Supercritical fluid extraction using carbon dioxide as a solvent has provided an excellent alternative to the use of chemical solvents in the extraction of oils from different plant matrixes. This work explores the use of supercritical fluids in the recovery of cocoa butter from *Theobroma cacao* using a high-pressure apparatus. Extractions were first performed using processed cocoa butter to assess and compare the extraction efficiencies at 323.2 K and 24.8 MPa with CO₂ and ethane. Extraction yields of cocoa butter using ethane were found to be an order of magnitude higher than those obtained with CO₂. With this result in mind, extractions to explore the capacity of supercritical ethane in the recovery of cocoa butter from cocoa beans were subsequently performed at 323.2 and 343.2 K, and pressures of 15.2, 24.8 and 28.3 MPa. The results revealed a pronounced effect of pressure on the extraction yield at all temperatures investigated. Extraction curves showed a retrograde behavior for the two temperatures in the whole pressure range. The extraction curves displayed two main regions: one controlled by solubility and another dominated by diffusion. Experimental data were correlated using a kinetic model, which allowed good estimates of the inaccessible butter fraction for extraction as well as the mass transfer coefficients in both regions.

Key words: supercritical ethane, cocoa butter, kinetic model.

1. Introduction

Cocoa butter is unique among vegetable fats due its composition and crystallization behavior. Triglycerides represent the major part of cocoa butter (97-98%) with three main fatty acids: palmitic, stearic and oleic fatty acid. With the oleic fatty acid always sterified in the central position of the glycerol molecule while saturated fatty acids are in positions 1 and 3, cocoa butter presents three main symmetric triglycerides POP (palmitic-oleic-palmitic), POS (palmitic-oleic-stearic), SOS (stearic-oleic-stearic). Of all the ingredients present in chocolate, none has more influence on its physical and chemical properties than cocoa butter, responsible for the different favorable characteristics such as hardness at room temperature, brightness and fast and complete melting when placed in the mouth. Cocoa butter has a light yellow color, breakable at temperatures less than 26.7°C with complete melting at 35°C (Minifie, 1989). Cocoa butter hardness and crystallization behaviors depend on many factors, including origin, climatic and processing conditions, among others. To minimize the variability of cocoa butter in chocolate

^{*} To whom all correspondence should be addressed

processing, a mixture of butters from different origins is generally used. It is possible to achieve a desired consistency by blending hard and soft cocoa butters, for example. This blending can also avoid the shorter product life of cocoa butter in warm climates. Fractionation of cocoa butter allows the production of fractions with well-established and universal characteristics available for the formulation of desirable blends.

Common fractionation techniques include melt crystallization, previously used by Norris et al. (1971) for the fractionation of butter oil, and molecular and vacuum distillation (Bracco, 1980; Pfaudler, 1982). High quality cocoa butter used in food, cosmetic and pharmaceutical industries are obtained by mechanical press or expeller and solvent extraction using hexane. Increasing awareness of health and safety hazards associated with the use of organic solvents, due to the possible contamination of extracted products has placed new demands on the food industry to develop new and clean technologies for the processing of food products. Supercritical fluid extraction using carbon dioxide as a solvent has provided an excellent alternative to the use of chemical solvents in the extraction of oils from different plant matrixes such as corn, soybean and cotton seeds, among others (Friedrich et al., 1982; Friedrich et al., 1984; Reverchon, 1996; Eggers et al., 1985; McHugh and Krukonis, 1986; Temelli et al., 1996; King et al. 1997). Supercritical CO₂ has also proved to be a powerful solvent for the extraction of valuable compounds such as linoleic acid, linolenic acid and other compounds present in natural resources (Ikushima et al., 1992). Extraction with supercritical CO₂ requires higher investment but can be selective, without leaving toxic residues or the risk of thermal degradation and thus can be an attractive solvent for the extraction and fractionation of cocoa butter.

Roselius et al. (1975) presented a patent on the efficient extraction of cocoa butter from cocoa beans with CO₂ in the pressure range from 25 to 35 MPa at temperatures between 318 and 333 K. However, McHugh and Krukonis (1986) found that less than 5% of the cocoa butter could be extracted even if the extraction was carried out at 48.3 MPa for 8h. Rossi et al. (1989) observed minor changes in the triglycerides compositions of fats extracted from cocoa beans and shells with supercritical CO₂ as a function of time, temperature and pressure. Li and Hartland (1996) reported on the extraction of cocoa butter at 15 MPa and 333.2 K and showed the potential for the large-scale utilization of carbon dioxide in the extraction of cocoa butter from cocoa beans.

Ethane has similar characteristics to CO₂, being more efficient in the extraction of lipids but its potential application is not yet fully explored (Singh et al., 1993; Mohamed et al., 2000). Recent data on butter oil solubility in supercritical fluids revealed a much higher solubility in ethane as compared to that in CO₂ (Mohamed et al., 2000). Ethane ($T_c=305.15$ K, $P_c=48.8$ bar) has a critical temperature nearly equal to that of carbon dioxide ($T_c=304.15$ K, $P_c=73.9$ bar) and a critical pressure lower than that of CO₂. The resulting lower pressure requirements combined with the higher solubilities of vegetable fats in ethane make it an attractive solvent for the extraction and fractionation of these fats. The main objective of this work is to provide specific and comparative experimental data on the use of supercritical CO₂ and ethane in the extraction and fractionation of cocoa butter from cocoa beans.

2. Materials and methods

2.1. Materials

Cocoa butter and cocoa beans were donated by Cardill Ltda (Bahia, Brazil). The cocoa beans content of cocoa butter was estimated to be 50 wt% as obtained using soxhlet extraction. CO₂ and ethane, 99.9% purity, were obtained from the White Martins Gases Industrials S.A. (Campinas, Brazil).

2.2. Experimental Apparatus

The experimental apparatus used is a semi-continuous flow high pressure system purchased from Autoclave Engineers (Erie, PA, USA), and designed for working pressures up to 37 MPa at 473 K (Fig. 1). This apparatus is the one used earlier by Saldaña et al. (1999) and Mohamed et al. (2000).

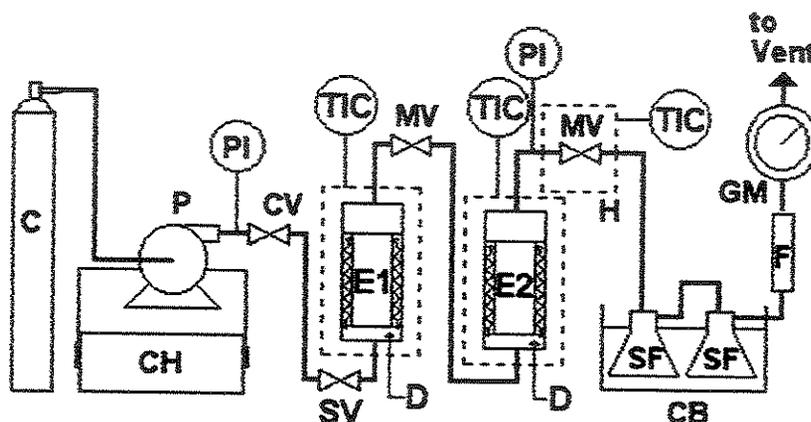


Fig. 1. Experimental apparatus: C- solvent cylinder, CB- ice bath, CH- Chiller, CV- check valve, D- furnace, E1 and E2- extractors, F- carbon adsorption filter, GM- flow meter, H- heating tape, MV- micro-metering valve, P- pump, PI- pressure indicator, SF- separator vessel, SV- shut-off valve, TIC- temperature controller and temperature indicator.

The major components of this apparatus include positive liquid displacement pumps (Thermal Separation Products, Riveira Beach, FL, USA) for solvent delivery (46–460 mL/hr), two 300 mL high pressure extraction vessels (one simple and another equipped with a window that allows visual observation of the phases in equilibrium), and separator flasks. The extraction vessels are supplied with heating jackets and temperature controllers and can be operated in series or parallel. Heating tapes are used throughout the apparatus to maintain constant temperature in the extraction section. To ensure constant and steady solvent delivery, pump heads are cooled by a circulating fluid passing through a chiller, CFT R134a (NESLAB Instruments, Newington, NH, USA). Flow rates and accumulated gas volumes passing through the apparatus are measured using a flow computer measuring device (EG&G Instr. Flow Technology). Autoclave Engineers (Erie-Pennsylvania, USA) micrometering valves (MV) were used for flow control throughout the apparatus. Heating tapes are also used around these valves

to prevent freezing of solvents or solid solute precipitation following depressurization. Pressure in both extractors was monitored with a digital transducer system, Heise Series 901A RTS, acquired from Dresser Industries (Stratford, CT) with a precision of ± 0.03 MPa. Extractor temperatures were controlled to $\pm 0.5^\circ\text{C}$.

2.3. Cocoa butter extraction and fractionation

In order to determine the extractability of cocoa butter with supercritical fluids, samples of press-processed cocoa butter (115 g) were placed in the extractor. Glass wool was placed in the extractor exit to prevent entrainment of cocoa butter droplets. The cocoa butter was extracted using supercritical carbon dioxide and supercritical ethane at 323.2 K and 24.8 MPa. CO_2 and ethane flow rates of 1.3 and 0.9 g min^{-1} , respectively, were used. In a typical extraction experiment, solvent (CO_2 or ethane) was delivered by the pumps as a liquid and slowly allowed into the extractor until extraction pressure was reached. The extractor was heated to the extraction temperature and the micrometering valve located downstream of the extractor was slowly opened while maintaining the pressure constant in the extractor. The effluents of the extractor (supercritical fluid saturated with cocoa butter) were depressurized through the micrometering valve, which was properly heated to prevent solvent freezing and plugging with precipitated solid solute. The precipitated cocoa butter following depressurization was recovered in the separator flasks placed in a cooling bath. Hexane was placed in the last separator flasks to assure complete recovery of precipitated cocoa butter. The amount of recovered cocoa butter was weighed and recorded. In these particular experiments, fractions were collected at certain time intervals characterized by the passage of each 377 and 62g of CO_2 and ethane, respectively, through the extractor. This large difference in the mass of the solvent used is due to the lower solubilities of cocoa butter in CO_2 as compared to ethane. In total, 7 and 19 fractions of butter were collected when using CO_2 and ethane, respectively. The amount of solvent used is determined through the gas flow meter.

2.4. Extraction and fractionation of cocoa butter from cocoa beans

In order to explore the capacity of ethane in the extraction and fractionation of cocoa butter from cocoa beans, experiments were performed using supercritical ethane at 323.2 K and 343.2 K and pressures of 15.2, 24.8 and 28.3 MPa. A sample of 30 g of cocoa beans (0.3-2 mm) was mixed with glass beads (4 mm in diameter) and placed in extractor I. The solvent was passed through the extractor and the extracted butter was recovered by depressurization of the extractor effluent, as explained above for the extraction of press-processed cocoa butter. In these experiments, butter fractions were collected at time intervals characterized by the passage of each 124 g of ethane through the extractor. In total, 7 fractions of butter were collected when using ethane. The amount of solvent used is determined through the gas flow meter.

2.5. Mathematical model for extraction of cocoa butter from cocoa beans using supercritical ethane

The model developed by Sovová (1994) was adopted to correlate the experimental data obtained in this work. The model considers the supercritical extraction of material from a bed of ground beans placed in a cylindrical extractor and the extraction to be carried out at constant temperature and pressure using a supercritical solvent having a superficial velocity U . The solid bed is formed by homogeneous particles. With the mass of the solute contained initially in the solid phase, O , consisting of an accessible part, P , and inaccessible solute, K , inside the solid-phase particles and N representing the solute-free solid phase, the initial concentrations are:

$$x(t=0) = x_0 = O/N = x_p + x_k = P/N + K/N \quad (1)$$

Designating the height of the particle bed as H , its void fraction as ε , and the axial distance along the bed as h , the mass balance equations are given by:

$$-\rho_s(1-\varepsilon)\frac{\partial x}{\partial t} = J(x,y) \quad (2)$$

$$\rho\varepsilon\frac{\partial y}{\partial t} + \rho U\frac{\partial y}{\partial h} = J(x,y) \quad (3)$$

Considering the conditions:

$$x(h,t=0) = x_0 \quad (4)$$

$$y(h=0,t) = 0 \quad (5)$$

and the mass transfer being retarded by diffusion as the solid-phase concentration decreases below to x_k :

$$J(x > x_k, y) > J(x \leq x_k, y) \quad (6)$$

With the mass transfer rate during the supercritical extraction given by:

$J(x > x_k, y) = k_f a_0 \rho (y_r - y)$ and $J(x \leq x_k, y) = k_s a_0 \rho_s x \left(1 - \frac{y}{y_r}\right)$, where k_f and k_s are mass transfer coefficients in fluid phase and solid phase, respectively ($m\ s^{-1}$) and a_0 is the particle surface area (m^2/m^3). The working equations as described by Sovová (1994) are:

First period ($x > x_k$):

$$\frac{dx_h}{dt} = -\frac{k_f a_0 \rho}{\rho_s(1-\varepsilon)}(y_r - y_h) \quad (7)$$

$$\frac{dy_h}{dt} = \left[\frac{k_f a_0}{\varepsilon} + \frac{U}{\varepsilon \Delta h} \right] y_h + \frac{k_f a_0 y_r}{\varepsilon} + \frac{U y_{h-1}}{\varepsilon \Delta h} \quad (8)$$

Second period ($x < x_k$):

$$\frac{dX_h}{dt} = -\frac{k_s a_0 X_h}{(1-\epsilon)} \left(1 - \frac{Y_h}{Y_r}\right) \quad (9)$$

$$\frac{dY_h}{dt} = \frac{k_s a_0 \rho_s X_h}{\rho \epsilon} \left(1 - \frac{Y_h}{Y_r}\right) - \frac{UY_h}{\epsilon \Delta_h} + \frac{UY_{h-1}}{\epsilon \Delta_h} \quad (10)$$

These equations in each system are solved simultaneously as described by Santos (2000). The kinetic parameters, for the fluid and solid phases, $k_f a_0$ and $k_s a_0$, are determined from the best fit of experimental data to the model.

3. Results and discussion

The press-processed cocoa butter used in this work was previously characterized according to its fatty acid contents (Saldaña et al., 2002). The results obtained for the fractionation of cocoa butter with supercritical ethane at 323.2 K and pressures of 24.8 MPa are compared to those obtained with CO₂ in Fig. 2. The results are presented in a dimensionless basis, which facilitates the comparison of data as they become independent of the initial quantity used in the extraction. This representation also allows the use of the results for any possible scale-up investigation. At this pressure, extraction yields of 7 and 100%, were obtained when using solvent quantities of 1.2 kg of ethane and CO₂, respectively. From these extraction curves, the solubility of cocoa butter in supercritical CO₂ and ethane at 323.2 K and 24.8 MPa were estimated using the linear portion of each curve to be 0.6 and 14%, respectively. The higher extraction yields obtained with ethane can thus be attributed to the higher solubilities of triglycerides in ethane. This has also been observed earlier by Mohamed et al. (2000) for butter oil extraction using supercritical CO₂ and ethane. It is important to observe that all the cocoa butter was extracted using ethane as the solvent, a result that cannot be confirmed for the case when CO₂ was employed.

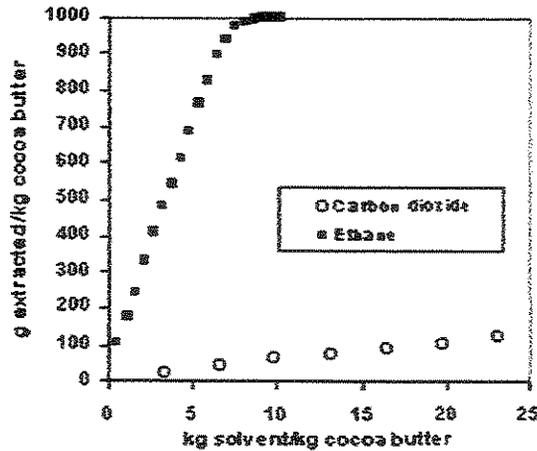
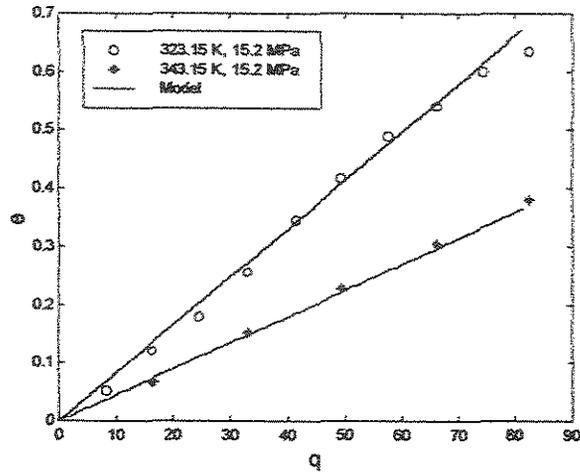


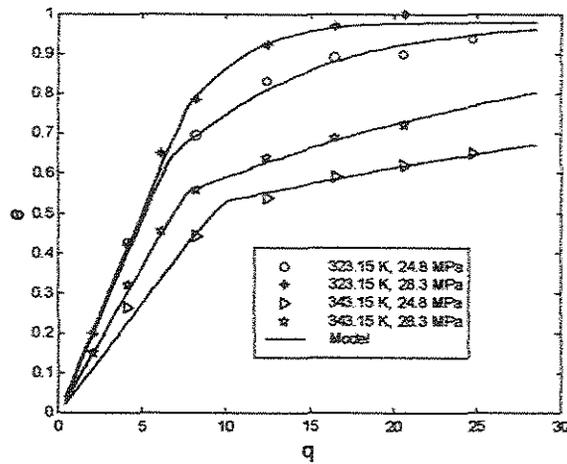
Fig. 2. Fractionation and extraction of cocoa butter with supercritical CO₂ and supercritical ethane at 323.2 K and 24.8 MPa.

With the superior extraction efficiencies obtained for this press processed cocoa butter/ethane model system, the extraction and fractionation of cocoa butter from cocoa beans was limited to that using ethane as the supercritical solvent. Cocoa butter extraction yields

obtained using supercritical ethane at 323.2 and 343.2 K and pressures of 15.2, 24.8 and 28.3 MPa are shown in Fig. 3. The extraction curves (Fig. 3) clearly show the three typical regions pointed out by Hedrick et al. (1992) for supercritical extraction systems from solid matrices: solubility dependent, intermediate, and diffusion-controlled regions.



(A)



(B)

Fig. 3. Experimental and calculated extraction of cocoa butter from cocoa beans at 323.2 K and 343.2 K and the pressures of (A) 15.2 MPa and (B) 24.8 and 28.3 MPa. e : mass of oil extracted/initial mass of cocoa butter, q : mass of solvent/ mass of initial cocoa butter.

For extractions at 323.2 K and using the same quantity of solvent (0.31 kg of ethane), cocoa butter yields of 15, 90 and 99%, were obtained at the extraction pressures of 15.2, 24.8 and 28.3 MPa, respectively. At 343.2 K, and for the same quantity of solvent, extraction yields of 9, 62 and 72% were obtained, at 15.2, 24.8 and 28.3 MPa, respectively. While an increase in pressure resulted in an increase in extraction yield as expected due to resultant increase in solvent density,

the proportional increase is much smaller in the second pressure range (24.8 to 28.3 MPa) due to the smaller density increase as compared to that in the 15.2 to 24.8 MPa pressure range.

The retrograde behavior (decrease of quantity extracted with increase in temperature at the same pressure) common in supercritical extraction operations is evident for these two temperatures in the whole pressure range as shown in Fig. 3. Friedrich et al. (1982, 1984) reported similar behavior for the extraction of oil from soybeans using supercritical CO₂ at 323.2 and 333.2 K and pressures up to 41.4 MPa. The same behavior was observed by Li and Hartland (1996) when working with the model system cocoa butter/supercritical CO₂ at pressures of 15-30 MPa and temperatures of 313.2 and 333.2 K. This behavior was also observed by Friedrich and Pryde (1984) and Stahl et al. (1980) in the supercritical extraction of other lipid-bearing products.

Figure 3 shows the data correlation obtained using the model developed by Sovová (1994) and Sovová et al. (1994). The kinetic parameters (coefficients in the fluid and solid phase) obtained by best fit of experimental data are presented in Table 1. The void fraction (ϵ) used in the model was 0.32. The inaccessible mass fraction inside the cocoa butter particles was determined with this model to be 0.34. Furthermore, using the equation proposed by Rezende (1998), the inaccessible mass fraction value corresponded to a particle diameter of 1.3 mm, which is in agreement with the one found by our experimental data.

Table 1. Kinetic parameters (mass transfer coefficients in the fluid and solid phases)

Pressure (MPa)	Temperature (K)	Mass transfer coefficient in fluid phase ($k_f a_o$)	Mass transfer Coefficient in solid phase ($k_s a_o$)
15.2	323.15	0.0279	—
15.2	343.15	0.0351	—
24.8	323.15	0.0240	1.0286×10^{-4}
28.3	323.15	0.0221	2.5715×10^{-4}
24.8	343.15	0.0258	1.5429×10^{-5}
28.3	343.15	0.0244	3.2144×10^{-5}

In Figure 4, the fluid phase mass transfer coefficient, $k_f a_o$, is found to increase linearly with the inverse of the solvent density for extractions carried out with supercritical ethane. This result is expected as the increase in density results in the increase of mass transfer resistance.

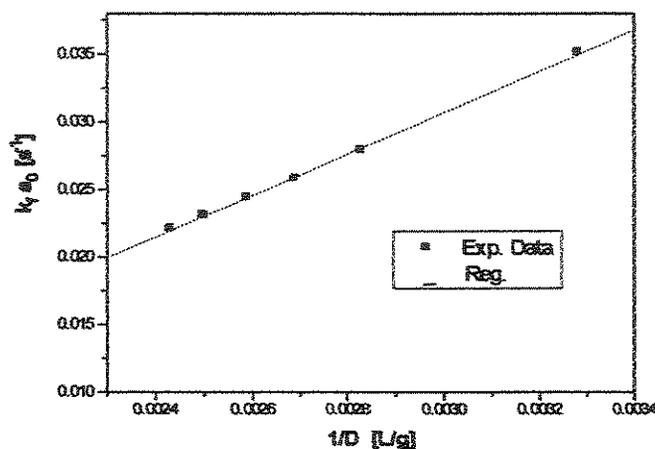


Fig. 4. Behavior for the fluid phase mass transfer coefficient with solvent density

4. Conclusions

Extraction yields of cocoa butter obtained with supercritical ethane as the solvent were an order of magnitude higher than those obtained when using carbon dioxide. Large pressure and temperature effects on the extraction of cocoa butter from cocoa beans with supercritical ethane were observed. Retrograde behavior in the extraction curves of cocoa butter from cocoa beans with supercritical ethane was observed in the whole pressure range for the two temperatures considered in this work. Experimental extraction curves were successfully correlated with a kinetic model through which the mass transfer coefficient in the supercritical phase was found to vary linearly with the inverse of solvent density.

Acknowledgments

The authors thank the Brazilian Research Funding agencies: FAPESP and CNPq for their financial support and the Cardill Ltda for supplying cocoa butter and cocoa beans.

References

- Bracco, U. (1980). *Butter-like food product*, British Patent 1 559 064.
- Eggers, R., Sievers U. and Stein, W. (1985). High pressure extraction of oilseed, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 62, 1222.
- Friedrich, J.P. and Pryde, E.H. (1984). Supercritical CO₂ extraction of lipid-bearing materials and characterization of the products, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 61, 223.
- Friedrich, J.P., List, G.R. and Heakin, A.J. (1982). Petroleum-free extraction of oil from soybean with supercritical CO₂, *JAACS*, 59, 282-292.
- Friedrich, J.P., Snyder, J.M. and Christianson, D.D. (1984). Effect of moisture and particle size on the extractability of oils from seeds with supercritical CO₂, *JAACS*, 61(12) 1851-1856.
- Hedrick, J.L., Mulcahey, L.J. and Taylor, L.T. (1992). Fundamental Review: Supercritical Fluid Extraction, *Mikrochim Acta*, 108, 115-132.
- Ikushima, Y., Saito, N., Hatakeda, K., Ito, S., Arai, M. and Arai, K. (1992). In situ monitoring of extraction and separation behavior of lipids with supercritical carbon dioxide, *Ind. Eng. Chem. Res.*, 31(2) 568-574.
- King, J.W., Cygnarowicz-Provost, M. and Favati, F. (1997). Supercritical fluid extraction of evening primrose oil kinetic and mass transfer effects, *Ital. J. Food Sci.*, 9(3), 193-204.
- Li, S. and Hartland, S. (1996). A new industrial process for extracting cocoa butter and xanthines with supercritical carbon dioxide, *JAACS*, 73(4), 423-429.
- McHugh, M.A. and Krokonis, V.J. (1986). *Supercritical Fluid Extraction: Principles and Practice*, Butterworths Publishers, Boston MA, pp. 69-78.
- Mimfie, B.W. (1989). *Chocolate, cocoa and confectionery-science and technology*, Pitman press., Great Britain, UK.
- Mohamed, R.S., Saldaña, M. D. A., Socantaype, F. H., Kieckbusch, T. G. (2000). Reduction in the cholesterol content of butter oil using supercritical ethane extraction and adsorption on alumina, *Journal of Supercritical Fluids*, 16, 225-233.
- Norris, R., Gray, I.K. and McDowell, A.K.R. (1971). Chemical composition and physical properties of fractions of milk fat obtained by a commercial fractionation process, *Journal of Dairy Research*, 38, 179-191.
- Pfandler, C. (1982). Wiped film evaporator, *Bulletin N° SB 39-100-1*, Rochester, New York.

- Reverchon, E. (1996). Mathematical modeling of supercritical extraction of sage oil, Bioengineering, Food and natural products, *AIChE Journal*, 42(6), 1765-1771.
- Rezende, D.F. (1998). Estudo exploratório de aplicabilidade dos meios supercríticos para a extração e o processamento de óleos vegetais com ênfase em controle aplicado à unidade extratora, *Tese de Doutorado*, Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas. 178 p.
- Roselius, W., Magnus, B., Vitzthum, O. and Hubert, P. (1975). *Methods of producing cocoa butter*, US Patent 3 923 847.
- Rossi, M., Arnoldi, C., Savioni, G. and Schiraldi, A. (1989). Characterization of cocoa extracts obtained with supercritical carbon dioxide, *Ital. J. Food Sci.* 3, 41-50.
- Saldaña, M.D.A., Mazzafera, P. and Mohamed, R. S. (1999). Extraction of purine alkaloids from maté plant *Ilex paraguariensis* using supercritical CO₂, *Journal of Agric. and Food Chemistry*, 47(9), 3804-3808.
- Santos, J. (2000). Simulação matemática de extração de óleos a altas pressões, *Tese de Mestrado*, Unicamp, 110.
- Singh, H., Yun, J.S., Macnaughton, S.J., Tomasko, D.L. and Foster, N.R. (1993). *Ind. Eng. Chem. Res.*, 32, 2841-2848.
- Sovová, H., Kucera, J., and Jez, J. (1994). Rate of the vegetable oil extraction with supercritical CO₂-II Extraction of grape oil, *Chem. Eng. Sci.*, 49 (3), 415-420.
- Sovová, H. (1994). Rate of the vegetable oil extraction with supercritical CO₂-I Modeling of extraction curves, *Chem. Eng. Sci.*, 49, 409-414.
- Stahl, E., Shutz, E. and Mangold, H. (1980). Extraction of seed oils with liquid and supercritical carbon dioxide, *J. Agric. Food Chem.* 28, 1153.
- Temelli, F., King, J.W. and List, G.R. (1996). Conversion of oils to monoglycerides by glycerolysis in supercritical carbon dioxide media, *JAACS*, 73(6), 699-706.



Extraction of fat from fermented Cupuaçu seeds with supercritical solvents

Alvaro B.A. de Azevedo, Uiram Kopcak, Rahoma S. Mohamed*

School of Chemical Engineering, State University of Campinas, C.P. 6066, CEP 13083-970 Campinas, SP, Brazil

Received 13 February 2002; received in revised form 7 August 2002; accepted 19 September 2002

Abstract

Cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*) is a Brazilian Amazonian fruit. The seeds have a high fat content (62%) with characteristics that resemble that of cocoa butter and with potential applications in the cosmetic, pharmaceutical and food industries. In this work, new experimental data on the supercritical fluid extraction of fat components from Cupuaçu fermented seeds using ethane and CO₂ as solvents are reported. The extractions were carried out at 50 and 70 °C and pressure ranging from 24.8 to 35.2 MPa. The results revealed ethane to be the most efficient solvent in the removal of fat as compared to CO₂. While both solvents were found effective in the removal of Cupuaçu fat from the fermented seeds, triglyceride (TG) compositions as measured by HPLC and thermal behavior of extracted products obtained by differential scanning calorimeter revealed little fractionation capacity of either solvent. The lack of fractionation, observed earlier in the fractionation of milk fat is attributed to the similar TG components in Cupuaçu fat (C:48–C:56). Solid fraction as well as melting point and enthalpy analyses indicated however slight changes in the saturated/unsaturated TG ratios in the extracted fractions as compared to the original fat.

© 2002 Elsevier Science B.V. All rights reserved.

Keywords: Supercritical fluids; Cupuaçu fat; Extraction; Mathematical modeling; Solubility

1. Introduction

Vegetable oils and fats are normally obtained with both mechanical and chemical processes. Mechanical processes are often associated with low yields and chemical extraction methods in the majority of cases employ solvents such as hexane, and sodium hydroxide which are dangerous to

handle and unacceptable as they are quite harmful to human health and environment [1]. Increasing consumer concerns of the health risks and environmental contamination associated with the use of chemical solvents for the extraction of oils and fats has placed new demands on the food, cosmetic and pharmaceutical industry to invest in clean technologies that could provide high quality products for the highly competitive global market.

The new and tougher regulatory requirements on the use of chemical solvents worldwide, motivated by these health and environmental concerns [2], has prompted the need for active research

* Corresponding author. Fax: +55-19-3788-3922
E-mail address: mohamed@feq.unicamp.br (R.S. Mohamed).

activities on new clean technologies. Supercritical carbon dioxide extraction is among the newly emerging clean and environmentally friendly technologies for the processing of food and pharmaceutical products. Despite the high capital investment due to the high pressure operating conditions, the superior product quality, high and adjustable selectivity and easy separation of the solute and solvent could make the process economically viable specially for high value products [3].

Oils and fats have been extracted with supercritical fluids from different plant including palm [4]; sunflower [5], cotton [6], cocoa [7–10], almond [11], canola [12], among others. The product is characterized by a lighter color, smaller free fatty acid contents and phospholipids [13], and in all cases there is always the added advantage of eliminating the subsequent steps of deodorization and clarification.

While supercritical CO₂ is the most commonly used solvent for the extraction of oils and fats from natural products, the process efficiency is hindered by the low solubility of the triglycerides (TGs) in CO₂, high pressures and long extraction time requirements. Recent work including some by this group [14,15] has revealed much higher solubility of TGs in ethane, an acceptable solvent for food products with a critical temperature almost equal to that of CO₂ and a critical pressure much lower than CO₂.

Cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*)—a Brazilian Amazonian fruit—whose pulp is widely used as an ingredient in products such as juices, ice cream, sweets, and liqueurs. The seeds which contain a high fat content (62% on average) with a digestibility similar to cocoa butter [16] and also similar in chemical and sensorial characteristics to that encountered in the cocoa butter obtained from *Theobroma Cacao* L. [17], have not been widely explored and in most situations are used by farmer as an animal feed stock. *Theobroma Cacao* L. has a large number of applications in the cosmetic, pharmaceutical and food industries. The different thermal behavior of the Cupuaçu fat has impeded its direct use as substitute of cocoa fat [18]. It has been suggested that this behavior may, however be modified through common

physical methods such as fractional crystallization and chemical methods involving hydrogenation and interesterification [19]. Earlier studies by this research group and others suggested the possible sustainable extraction and fractionation of butter oil [20] into milk fat fractions into with different and desirable properties without the risk of chemical solvent contamination or environmental degradation.

The main objective of this work is to explore and compare the capacities and efficiencies of carbon dioxide and ethane (both acceptable solvents for food processing) in the extraction and fractionation of fat from Cupuaçu seeds and assess the effects of thermodynamic and kinetic variables through the experimentally obtained data and the mathematical model used in the correlation of such data.

2. Materials and methods

2.1. Materials

Fermented Cupuaçu seeds were obtained from Brasmazon Indústrias de Oleaginosas e Produtos da Amazônia Ltda. (Pará, Brazil). The seeds were fermented in neutral medium for 5–6 days, depending on the time that is necessary to decompose the remaining pulp left on the seeds. The fat content of the seeds, as determined by extraction with petroleum ether (Merck) is found to be 62%. CO₂ (bone dry, 99.8% in purity) and ethane (99.9% in purity) were obtained from White Martins Co. (Campinas, Brazil).

3. Methods

3.1. Experimental apparatus

A semi-continuous flow experimental apparatus (Fig. 1) that allows the independent control of temperature and pressure was used in the extraction experiments. The apparatus was manufactured by Autoclave Engineers (Erie, PA) and designed for pressures up to 41.3 MPa at 200 °C. This is the same apparatus used by this

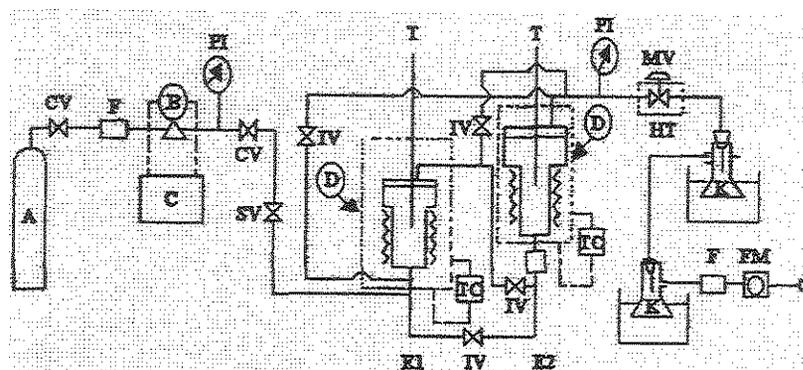


Fig. 1. Experimental apparatus: A, solvent cylinder; B, pump; C, chiller; CV, check valve; D, heating jacket; E1, simple extractor; E2, extractor with window; F, filter; FM, flow meter; HT, heating tape; K, separator flasks in cooling bath at 0 °C; MV, micrometering valve; PI, pressure indicator; TC, temperature controller; T, thermocouples.

research group in earlier investigations [10,15,20,21]. The major components of this apparatus include positive liquid displacement pumps (Thermal Separation Products, Riveira Beach, FL) for solvent delivery (46–460 ml/h), two 300 ml high pressure extraction vessels (one simple and another equipped with a window that allows visual observation of the phases in equilibrium), and separator flasks. The extraction vessels are supplied with heating jackets and temperature controllers and can be operated in series or parallel. Heating tapes are used throughout the apparatus to maintain constant temperature in the extraction section. In order to ensure constant and steady solvent delivery, pump heads are cooled by a circulating fluid passing through a chiller, CFT R134a (NESLAB Instruments, Newington, NH). Flow rates and accumulated gas volumes passing through the apparatus are measured using a flow computer-measuring device (EG&G Instr. Flow Technology). Autoclave Engineers micrometering valves (MV) were used for flow control throughout the apparatus. Heating tapes were also used around these valves to prevent freezing of solvents or solid solute precipitation following depressurization. Pressure in both extractors was monitored with a digital transducer system, Heise Series 901A RTS, acquired from Dresser Industries (Stratford, CT) with a precision of ± 0.03 MPa. Extractor temperatures were controlled to ± 0.5 °C.

The compositions of the fat fractions obtained were determined by HPLC using Shimadzu

LC-10A chromatograph (Kyoto, Japan) and a C18 column (25 cm \times 4.6 mm, 5 μ m) obtained from Shimadzu. The mobile phase was acetone/acetonitrile (62:38% v/v) and the flow rate was 1.0 ml/min. A Shimadzu refractive index detector model R10-10A was used and the peaks were identified by comparison with standards purchased from Sigma (St Louis, USA), and available chromatograms in Ref. [22]. The method used for the analysis was adopted from previous works [22–24] with small modifications in flow rate and composition of the mobile phase. Two chromatograms for each sample were made and the results were reproducible to within $\pm 4\%$.

The melting behavior of the extracted fractions, and stabilized through the official AOCS method [25], was determined by differential scanning calorimetry (DSC), using a calorimeter model DSC-50 purchased from Shimadzu. The melting curves were obtained in a temperature interval ranging from -30 to 70 °C at a heating rate of 10 °C/min. The solid fat content can be calculated from the melting curves through the partial area method [26]. Two thermograms for each sample were made and the results were reproducible to within $\pm 5\%$.

3.2. Experimental procedures

In order to explore the capacity of carbon dioxide and ethane in the extraction and fractionation of fat from Cupuaçu seeds, experiments

were carried out 50 and 70 °C and pressures ranging from 24.8 to 35.2 MPa. Solvent mass flow rates were maintained at 1.3 and 0.9 g/min for CO₂ and ethane, respectively. The adoption of these flow rates was based on the recommendations of Filippi [27], who studied the effect of the flow rate on the mass transfer of vegetable oils using supercritical CO₂ as a solvent, and on our own experience [10,15,20,21], where no mass transfer limitations were observed and a saturated solvent with the particular solute in question was always assured. A sample of 30 g of Cupuaçu seeds (average diameter of 0.68 mm) were mixed with glass beads (4 mm in diameter) and placed in the simple extractor. In a typical extraction experiment, solvent (CO₂ or ethane) was delivered by the pumps as a liquid and slowly allowed into the extractor until the desired extraction pressure was reached. The extractor was heated to the extraction temperature and the MV located downstream of the extractor was slowly opened while maintaining the pressure constant in the extractor.

The effluents of the extractor (supercritical fluid saturated with extracted fat) were depressurized through the MV, which was properly heated to prevent solvent freezing and plugging with precipitated solid solute. The precipitated Cupuaçu fat following depressurization was recovered in the separator flasks placed in a cooling bath. Hexane was placed in the last separator flask to assure complete recovery of precipitated Cupuaçu fat. In these particular experiments, fractions were collected at time intervals characterized by the passage of 366, and 62 g of CO₂ and ethane, respectively, through the extractor. This large difference in the mass of the solvent used is due to the lower solubility of Cupuaçu fat in CO₂ as compared to that in ethane. The amount of solvent used is determined through the gas flow meter. Solubility of Cupuaçu fat in the supercritical solvent was calculated from the slope of the linear portion of the extraction curve, giving the mass of fat extracted per unit mass of solvent used [28].

3.3. Extraction model

The model first proposed by Sovová [29] is used to correlate the extraction of fat from Cupuaçu

seeds using supercritical carbon dioxide and ethane. This model describes a situation where a supercritical solvent is allowed to flow axially with a superficial velocity U through a bed of ground plant material in a cylindrical extractor. The solute is found in plant cells and protected by cell walls. The solute is, however, directly exposed to the solvent through part of the cell walls broken by milling of the sample used. The total mass of the solute initially contained in the solid phase, consists of two parts: free and inaccessible solute. With h , ε , x and y representing the height and void fraction of the packed bed, the solute concentration in the solid and fluid phases, respectively, the mass balance in the two phases is described by the following expressions:

Solid phase:

$$-\rho_s(1 - \varepsilon) \frac{\partial x}{\partial t} = J(x, y) \quad (1)$$

Fluid phase:

$$\rho U \frac{\partial y}{\partial h} = J(x, y) \quad (2)$$

The boundary conditions are:

$$x(h, t = 0) = x_0 \quad (3)$$

$$y(h = 0, t) = 0 \quad (4)$$

where: h , bed height (m); t , extraction time (s); x , oil concentration in solid phase (kg/m³); x_0 , initial oil concentration in solid phase (kg/m³); y , oil concentration in fluid phase (kg/m³); ρ_s , solid specific mass (kg/m³); ρ , fluid specific mass (kg/m³); ε , bed porosity; U , interstitial velocity (m/s).

Eqs. (1) and (2) describe the solute mass balances in the fluid and solid phases, respectively. The accessible (free) solute, whose transfer depends only on the diffusion resistance in the solvent, is extracted first. When the concentration decreases to x_k , the concentration of the inside oil, mass transfer is controlled by diffusion in the solid phase. The expressions used for mass transfer rates are:

Mass transfer rate at $x > x_k$

$$J(x > x_k, y) = k_r a_0 \rho (y_r - y) \quad (5)$$

Mass transfer rate at $x < x_k$

$$J(x \leq x_k, y) = k_s a_0 \rho_s x \quad (6)$$

where: a_0 , solid matrix specific surface area (m^2/m^3); k_f , mass transfer coefficient in fluid phase (/s); k_s , mass transfer coefficient in solid phase (/s); y_r , oil concentration in fluid phase (kg/m^3); y , oil solubility in fluid phase (kg/m^3).

The combination of Eq. (5) and Eq. (6) with Eq. (1) and Eq. (2) and the use of the simplification $\partial y/\partial h = (y_h - y_{h-1})/\Delta h$, with finite differences, as described by Santos et al. [30] results in two equations to describe the two extraction periods. These equations are solved simultaneously to generate the kinetic parameters: the mass transfer coefficient in the fluid phase, $k_f a_0$, the mass transfer coefficient in the solid phase, $k_s a_0$, as well as the fraction of inaccessible oil, x_k , by a best fit of the experimental data represented by the amount of oil extracted as a function of time or the cumulative amount of solvent used.

To correlate the solubility of Cupuaçu fat in the supercritical solvents studied in this work, the Chrastil [31] correlation was adopted. This correlation, based in the association laws and statistical entropy concepts, has been tested and despite its theoretical deficiencies revealed to be useful in correlating vegetable oils solubility [32,33].

4. Results and discussion

For the experiments performed using supercritical ethane an average time period of 430 min was necessary to extract all fat from the ground seed sample, with each fat fraction being collected after a period of approximately 71 min. When using CO_2 as a solvent, a time period of 2000 min. was necessary to collect the same amount of in seven fractions with each fraction being collected approximately every 285 min.

The extraction curves obtained as described in the experimental section are presented in this section on dimensionless basis (g of extracted fat/kg of Cupuaçu seeds vs. kg of solvent used/kg of Cupuaçu seeds). This representation allows the data to be independent of the amount used and possible scale-up of the process and facilitates the

comparison of the data obtained in this work with others reported in the literature. Each experimental point on the extraction curve represents the averages of the two independent experiments with reproducibility within ± 5 , and 6% for the extractions using supercritical ethane and CO_2 , respectively.

Figs. 2 and 3(a) and (b) compare the extraction curves obtained for each of the solvents used at 24.8, 28.3, 31.7 and 35.2 MPa at temperatures of 50 and 70 °C. The data show that the quantities extracted by ethane were much larger than obtained with supercritical CO_2 at the same conditions of temperature and pressure. This higher efficiency of ethane is also shown by the ability of ethane to extract most of the Cupuaçu fat with much less solvent quantity and therefore at much shorter extraction times if the same solvents flow rates were used.

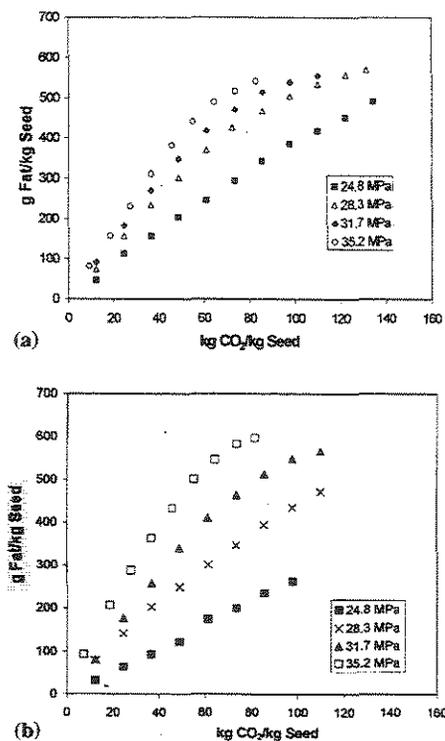


Fig. 2. Dimensionless extraction curves of fat from Cupuaçu seeds with supercritical carbon dioxide at: (a) at 50 °C, (b) at 70 °C fat content in Cupuaçu seeds: 620 g/kg seeds.

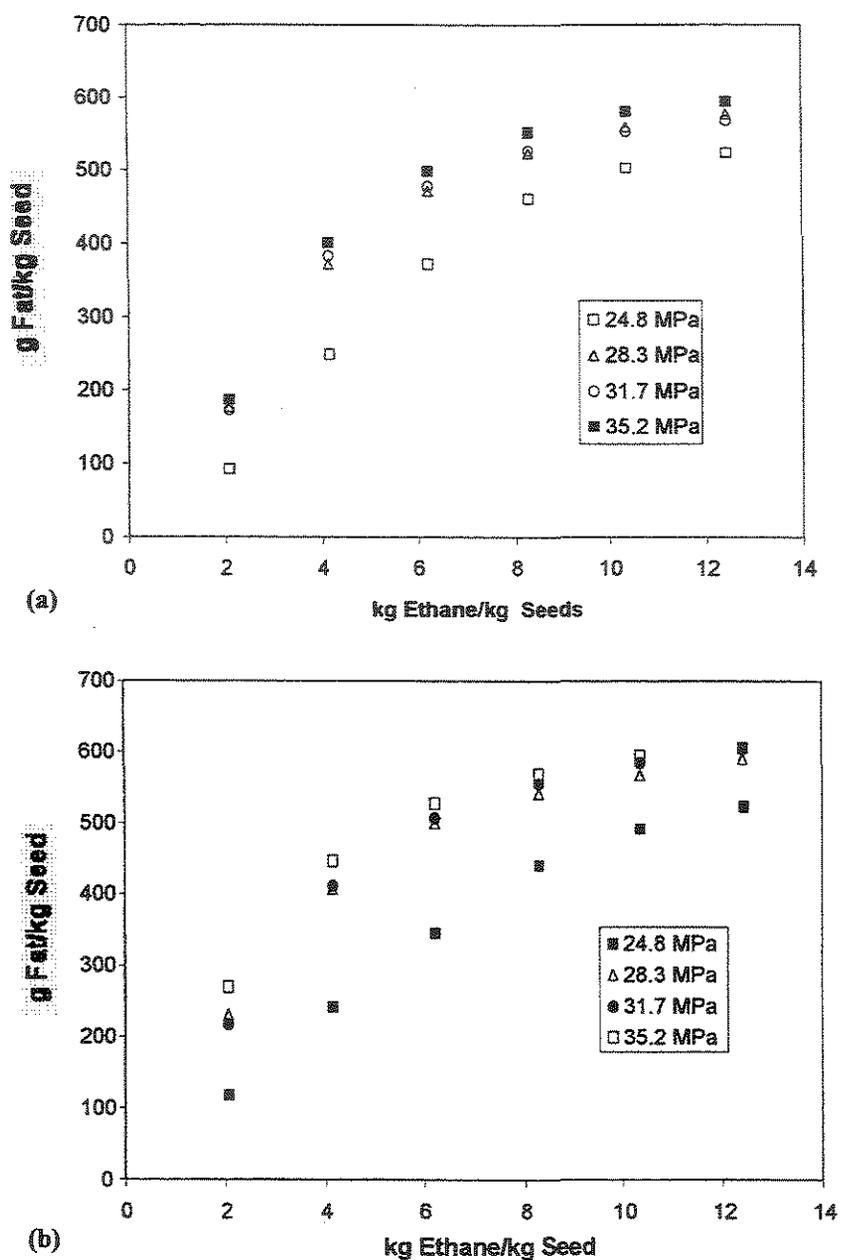


Fig. 3. Dimensionless extraction curves of fat from Cupuaçu seeds with supercritical ethane at: (a) at 50 °C, (b) at 70 °C. Fat content in Cupuaçu seeds: 620 g/kg seeds.

At the same pressure and temperature the density of supercritical CO₂ is larger than that of ethane. As the molecular weight of ethane and CO₂ are close, one can estimate the numbers of molecules of CO₂ flowing through the extractor to

be approximately four times larger than the number of molecules of ethane. The observed better efficiency of ethane as a solvent for Cupuaçu fat can not, therefore be attributed to density effects and could possibly reside in differ-

ences in the solvent–solute intermolecular interaction forces. Simplified calculations, as proposed by Prausnitz et al. [34] and assuming TG molecules to behave as straight chain hydrocarbons, due to lack of pertinent information on TG molecules, reveal that the dominant dispersion forces in the ethane–TG systems are much larger (two orders of magnitude) than the total forces encountered in the CO₂–TG systems [35] providing a plausible explanation for the higher TG solubility in ethane as compared to in CO₂.

The effects of pressure and temperature on the extraction yield are also shown in Figs. 2 and 3(a) and (b) and are in agreement with those found in Refs. [5,7,8,10,13,15,20]. An increase in pressure at constant temperature results in an increase in the solubility of the Cupuaçu fat due to resultant increase in solvent density. This increase in solubility also results in an increase in process energy cost. The increase in temperature at constant pressure revealed the presence of retrograde behavior [15,20,32,33,36], commonly observed in supercritical extraction systems. The data presented in Fig. 4 show that the systems investigated go from a retrograde to a normal behavior at approximately

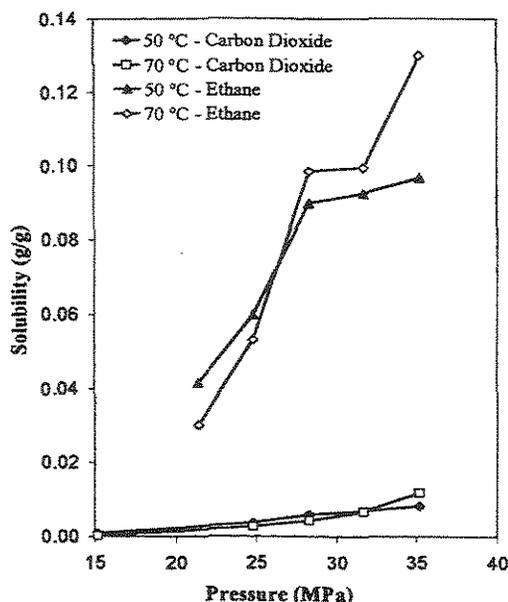


Fig. 4. Solubility of Cupuaçu fat in supercritical ethane and supercritical CO₂.

31.7 and 26.0 MPa when using CO₂ and ethane as solvents, respectively.

These upper crossover pressures are in agreement with the verified behavior observed by Foster et al. [37], where the crossover pressure was found to rise with the increase in the solvent critical pressure.

It is important to note that extraction with ethane and with CO₂ at the high pressures resulted in the extraction of the same amounts of fat obtained by conventional liquid solvent extraction processes.

The solubility of the Cupuaçu fat in supercritical ethane and CO₂, as obtained from the slope of the linear portion of the extraction curves as described in the experimental section, was well correlated using the Chrastil [31] equation in the condition ranges considered in this work. By regression of experimental data, the following expressions were obtained for the solubility of Cupuaçu in CO₂ and in ethane, respectively:

$$C = d^{10.36} \exp\left(\frac{-3364.0747}{T} - 48.5783\right) \quad (7)$$

$$C = d^{7.88} \exp\left(\frac{-2871.1850}{T} - 42.6291\right) \quad (8)$$

The correlation of experimental data with the Chrastil equation are shown in Fig. 5, with the solubility C (g/l) as a function of the supercritical fluid density, d (g/l). For each solvent, the solubility increased linearly with density and the two solubility isotherms for each solvent were practically parallel. The solubility also increased with increase in temperature at constant density. It is important to caution the reader, however, that despite the excellent correlation of the solubility data with the Chrastil equation, extrapolation of the correlation to conditions beyond those explored in this work is not advisable due to the failure of the Chrastil equation to predict the maximum solubility known to exist in real supercritical extraction systems [38]. In Fig. 5, one can also observe the slightly higher slopes found for the solubility isotherms when carbon dioxide is used as a solvent. With the arguments used in the derivation in the Chrastil model and later theoretical and molecular simulation developments [39]

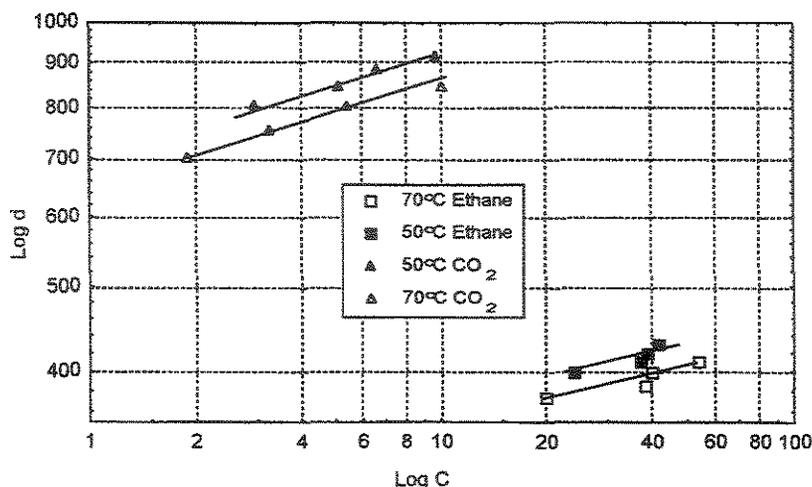


Fig. 5. Correlation of Cupuaçu fat solubility (C , g/l) as a function of solvent density (d , g/l).

and experimental observation [40] the slightly different inclinations in the solubility isotherms can be attributed to the solute–solvent interaction and subsequent formation of solvent clusters around solute molecules. These clusters are known to vary as the conditions depart from the critical point of the solvent [41].

Despite these well-known deficiencies in the Chrastil equation, it has been found useful to correlate data within experimental conditions with the association parameter considered density dependent by some authors [42] and temperature dependent by others [43], but in either case the equation should not be considered valid over the entire range of possible temperatures and pressures [38].

These solubility data along with other extraction data were subsequently used to obtain the kinetic model adjustable parameters: the mass transfer coefficients and the inaccessible oil fraction by data fitting (Fig. 6a–d). The inaccessible oil fraction, x_k , was found to be 0.37 and 0.33, for the extraction of Cupuaçu fat with CO₂ and ethane, respectively, indicating that this fraction is a property of the characteristics of the solid matrix and particle geometry and independent of the solvent used.

The model parameters that are found to provide the best data fit are shown in Tables 1 and 2 for Cupuaçu samples extracted with supercritical

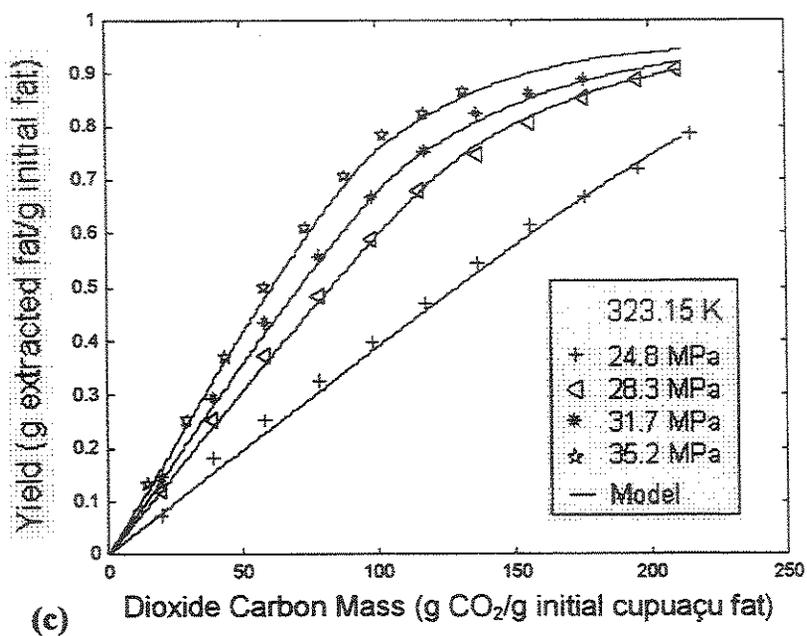
ethane and supercritical carbon dioxide, respectively.

As observed in Tables 1 and 2, the mass transfer coefficients in the fluid phase are found to vary with solvent density for extractions with CO₂ and with ethane. This variation is better seen in Fig. 7, where the mass transfer coefficients are shown to vary with the inverse of the solvent density independent of the solvent used. The relationship would need to be quadratic in form in order to go through the origin of the coordinates. The correlation obtained is represented by the expression:

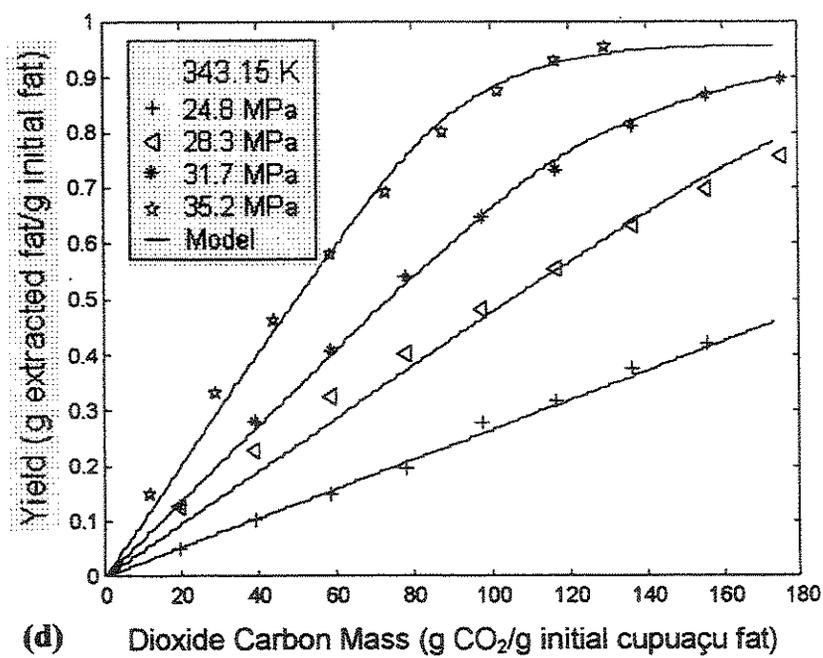
$$k_f a_0 = 1869.8\rho^{-2} + 3.973\rho^{-1} \quad (9)$$

The relationship described by this expression is not unreasonable, as the resistance to diffusion decreases with density, which would be consistent with theoretical expectations [44]. Sovová [29], has earlier suggested a linear relationship, which would result in negative mass transfer coefficients at high densities, a result that would not be admissible.

Mass transfer coefficients in the solid phase do not appear to vary with the extraction conditions within the ranges explored in this study when using supercritical CO₂ as a solvent, in agreement with the results obtained earlier by Sovová et al. [45–47] who also reported similar values for these coefficients.



(c)



(d)

Fig. 6 (Continued)

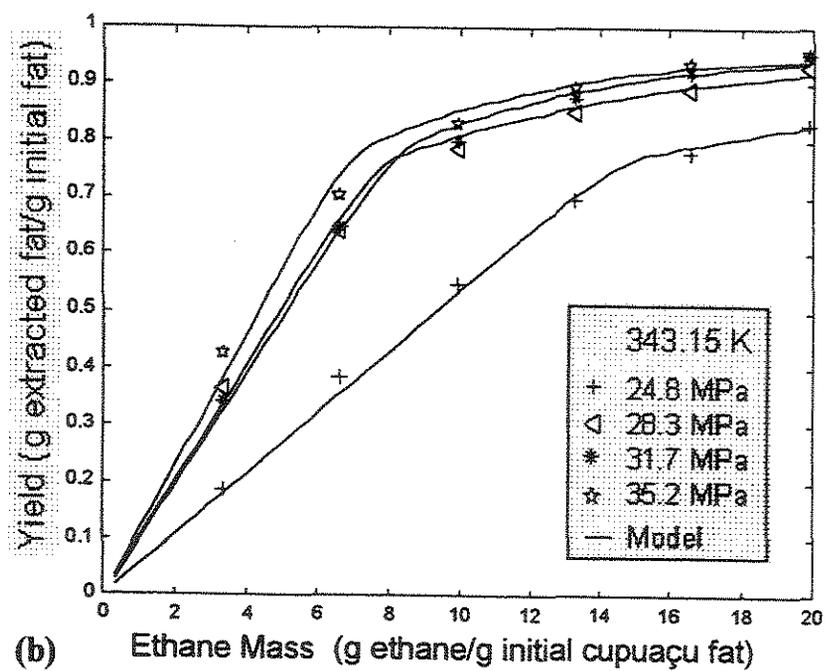
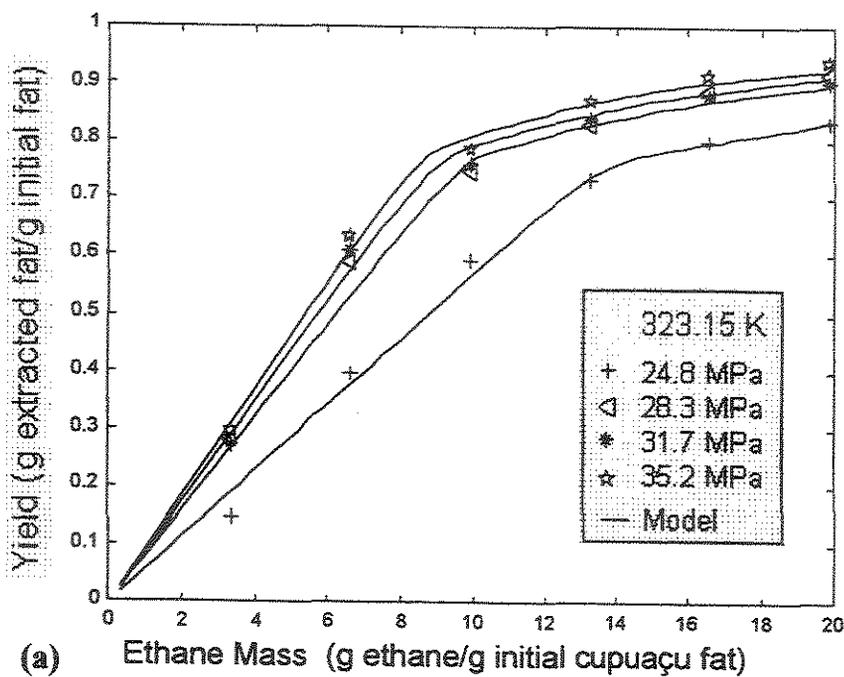


Fig. 6. Dimensionless extraction curves of Cupuaçu fat from fermented seeds using supercritical ethane at 50 °C (a) and 70 °C (b) and supercritical CO₂ at 50 °C (c) and 70 °C (d). The initial masses of the samples were 30 g.

Table 1
Model parameters from the extraction curves of Cupuaçu fat with supercritical ethane

T (°C)	P (MPa)	Density (g/l)	$k_{ra_0} \times 10^2$ (/s)	$k_{sa_0} \times 10^5$ (/s)
50	24.8	399.90	2.16	4.81
50	28.3	411.19	2.07	7.49
50	31.7	420.89	2.00	8.42
50	35.2	429.85	1.93	9.61
70	24.8	371.85	2.41	4.81
70	28.3	386.17	2.28	8.45
70	31.7	398.47	2.17	11.41
70	35.2	409.83	2.08	12.02

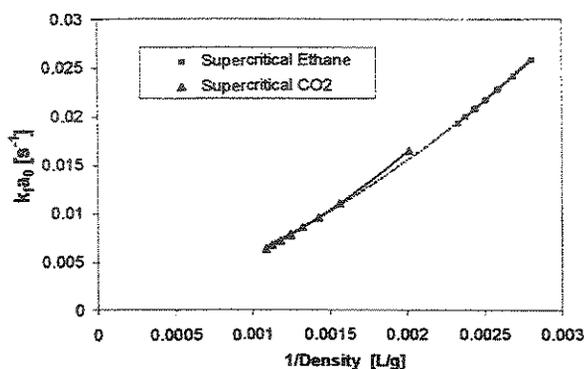


Fig. 7. Mass transfer coefficients in the fluid phase vs. the inverse of solvent density.

4.1. Fractionation of Cupuaçu fat

The TGs presents in Cupuaçu fat extracted with petroleum ether, together with their relative amounts to within an experimental error of $\pm 4\%$, are shown in Table 3. These compositions

were used as the basis for the evaluation of the effectiveness of the fractionation process.

The compositional data for the extracted fat fractions are shown in Figs. 8 and 9, where we can observe the apparent lack of selectivity of carbon dioxide or ethane for any of the major TGs present in Cupuaçu fat, despite the slight selectivity for polyunsaturated and light TGs exhibited by CO_2 . No selectivity was observed when using ethane, which can perhaps be attributed in part to the higher solubilities obtained. While pronounced fractionation effects were observed in the extraction of milk fat with carbon dioxide [20] and ethane [15], no significant fractionation effects were observed for Cupuaçu fats. While milk fat is composed of a wide range of TGs ranging from the C:14 to C:56 families, Cupuaçu fat is constituted of mainly of the TG families C:48 to C:56 with C:52 to C:56 representing approximately 90% of the TGs, i.e. components with similar volatilities and very close molecular weights.

Table 2
Model parameters from the extraction curves of Cupuaçu fat with supercritical CO_2

T (°C)	P (MPa)	Density (g/l)	$k_{ra_0} \times 10^2$ (/s)	$k_{sa_0} \times 10^5$ (/s)
50	24.8	803.77	7.80	NA ^a
50	28.3	847.85	7.10	1.91
50	31.7	885.74	6.70	2.38
50	35.2	920.71	6.30	2.38
70	24.8	701.52	9.50	NA ^a
70	28.3	756.56	8.50	NA ^a
70	31.7	803.86	7.70	2.38
70	35.2	847.53	7.10	5.25

^a Not applicable—data obtained were limited to the solubility region and therefore the model cannot be applied to obtain the solid phase mass transfer coefficient.

Table 3
TG composition of Cupuaçu fat

TG	Composition (%)
PliP (C:48)	0.41
OOO (C:54)	2.77
POO (C:52)	4.66
PliS (C:50)	1.23
POP (C:50)	1.42
SOO (C:54)	13.87
POS (C:52)	13.15
OOA (C:56)	6.55
SOS (C:54)	33.37
PSS (C:52)	0.77
SOA (C:56)	18.06
Others	3.72

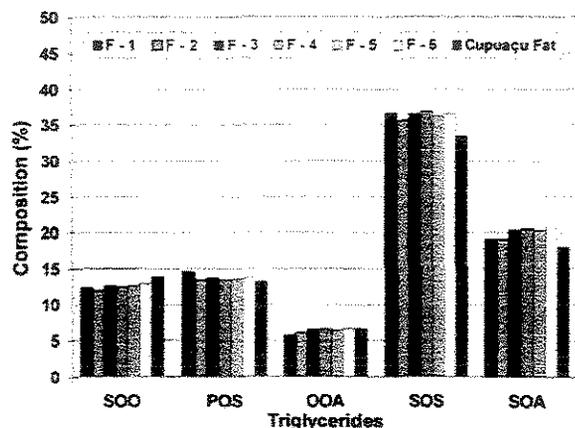


Fig. 8. TG compositions of the Cupuaçu fat fractions extracted at 24.8 MPa and 50 °C using supercritical ethane as a solvent, F1...i = fat fractions, Cupuaçu fat = fat extracted using petroleum ether.

Similar results were observed in the extraction and fractionation of cocoa butter with supercritical CO₂ [9] and were also attributed to the similarly narrow range in carbon number of the TG present in cocoa butter.

These small variations in composition of the extracted fractions of Cupuaçu fat using supercritical carbon dioxide, result in some modifications of the thermal behavior confirmed by the results of thermal analysis shown in Table 4.

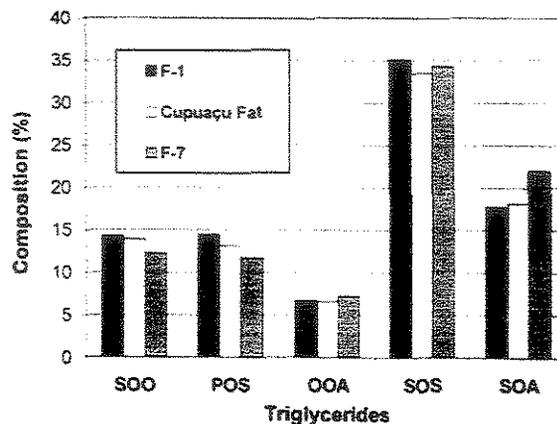


Fig. 9. TG compositions of the Cupuaçu fat fractions extracted at 35.2 MPa and 50 °C using supercritical CO₂ as a solvent, F1...i = fat fractions, Cupuaçu fat = fat extracted using petroleum ether.

Table 4
Heat of fusion of Cupuaçu fat fractions extracted with supercritical CO₂

<i>P</i> (MPa)	<i>T</i> (°C)	Fraction number	ΔH_{fus} (J/g)
24.8	50	1	64.79
24.8	50	7	76.18
24.8	70	1	56.06
24.8	70	7	70.63
28.3	50	1	57.62
28.3	50	7	88.44
28.3	70	1	59.83
28.3	70	7	77.01
31.7	50	1	58.79
31.7	50	7	88.14
31.7	70	1	50.65
31.7	70	7	82.63
35.2	50	1	70.24
35.2	50	7	89.22
35.2	70	1	62.48

The results show larger melting enthalpies for the 7th fraction of Cupuaçu fat collected as compared to the first fraction indicating the different ratio of saturated/unsaturated fatty acids in these two fractions [48]. These differences in the thermal behavior are also shown by the amount of solids in each fat fraction as a function of temperature presented in Fig. 10 when using CO₂

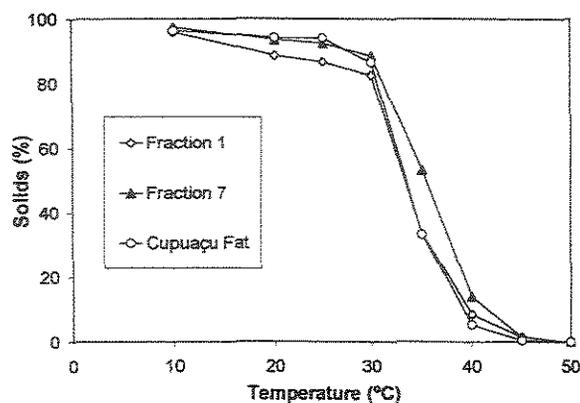


Fig. 10. Solid fat content in fat fractions extracted with supercritical CO₂ at 24.8 MPa and 50 °C.

as a supercritical solvent. Similar results were obtained for fractions extracted with ethane.

5. Conclusions

Both supercritical CO₂ and supercritical ethane showed to be effective in the extraction of fat from Cupuaçu seeds. The amounts extracted depended on the pressure, temperature and nature of the solvent. An increase in pressure resulted in increase in the amount extracted due to the increase in density and subsequently solvent power of the solvent. The effect of temperature depended on the pressure for the two temperatures considered in this work. Below the upper crossover pressure retrograde effects through which an increase in temperature would result in a decrease in the amount of fat extracted due to the decrease in solubility were observed. Ethane revealed to be the better solvent for TGs, which was attributed to the stronger non-polar interactions between ethane and TGs as compared to the apparently weaker interactions between CO₂ and TGs.

The Sovová model was able to adequately correlate the extraction of fat from Cupuaçu seeds using supercritical CO₂ and ethane. The mass transfer coefficients obtained were in the same order of magnitude as obtained earlier for other oils. The mass transfer coefficient in the fluid phase was found to vary with the solvent density in a generalized manner regardless of the particular

solvent used. The fraction of inaccessible Cupuaçu fat was independent of the solvent used once the extracted product and particle size and geometry used were the same.

Neither solvent showed high selectivity for any of the TGs present in Cupuaçu fat, but the different thermal behaviors exhibited by the extracted fractions suggested some changes in the saturated/unsaturated ratios.

Acknowledgements

The authors thank the Brazilian research agencies: Fapesp, CNPq and CAPES for their financial support. ABAA and UK wish to thank Erica M. Zactiti for her help with the graphics.

References

- [1] G.C. Mustakas, Recovery of oil from soybeans, in: D.R. Ericson, E.H. Pryde, O.L. Brekke, T.L. Mounts, R.A. Falb (Eds.), *Handbook of Soy Oil Processing and Utilization*, American Soybean Association Press, St. Louis, Missouri, 1987, p. 49.
- [2] E. Reverchon, L.S. Osséo, Comparison of processes for supercritical carbon dioxide extraction of oil from soybean seeds, *JAOCS* 71 (1994) 1007.
- [3] M.A. McHugh, V.J. Krukoni, Introduction, in: *Supercritical Fluid Extraction Principles and Practice*, Butterworths Publishers, Boston, MA, 1986, p. 1.
- [4] S.S.H. Rizv, C.K. Ooi, A. Bhaskar, M.S. Yener, D.Q. Tuan, J. Hsu, Continuous supercritical carbon dioxide processing of palm oil, *JAOCS* 73 (1996) 233.
- [5] M.J. Cocero, L. Calvo, Supercritical fluid extraction of sunflower seed oil with CO₂-ethanol mixtures, *JAOCS* 73 (1996) 1573.
- [6] M.S. Kuk, R.J. Hron, Sr., Supercritical carbon dioxide extraction of cottonseed with co-solvents, *JAOCS* 71 (1994) 1353.
- [7] S. Li, S. Hartland, Influence of co-solvents on solubility and selectivity in extraction of xantines and cocoa butter from cocoa beans with supercritical CO₂, *J. Supercrit. Fluids* 5 (1992) 7.
- [8] S. Li, S. Hartland, A new process for extracting cocoa butter and xantines with supercritical carbon dioxide, *JAOCS* 73 (1996) 423.
- [9] M. Rossi, Supercritical fluid extraction of cocoa and cocoa products, in: J.W. King, G.R. List (Eds.), *Supercritical Fluid Technology in Oil and Lipid Chemistry*, AOCS Press, Champaign, IL, 1996, p. 220.

- [10] M.D.A. Saldaña, R.S. Mohamed, P. Mazzafera, Extraction of cocoa butter from Brazilian cocoa beans using supercritical CO₂ and ethane, Proceedings of the Ninth International Conference on Properties and Phase Equilibria for Product and Process Design, Kurashiki, Japan, 2001.
- [11] C. Marrone, M. Poletto, E. Reverchon, A. Stassi, Almond oil extraction by CO₂: experiments and modeling, Chem. Eng. Sci. 53 (1998) 3711.
- [12] F. Temelli, Extraction of triglycerides and phospholipids from canola with supercritical carbon dioxide and ethanol, J. Food Sci. 57 (1992) 440.
- [13] J.P. Friedrich, G.R. List, A.J. Heakin, Petroleum free extraction of oil from soybeans with supercritical CO₂, JAOCS 59 (1982) 282.
- [14] H. Singh, J.S. Yun, S.J. Macnoughton, D.L. Tomasko, N.R. Foster, Solubility of cholesterol in supercritical ethane and binary mixtures containing ethane, Ind. Eng. Chem. 32 (1993) 2841.
- [15] R.S. Mohamed, M.D.A. Saldaña, F.H. Socantaype, T.G. Kieckbusch, Reduction in cholesterol content of butter oil using supercritical ethane extraction and adsorption on alumina, J. Supercrit. Fluids 16 (2000) 225.
- [16] G.A. Venturieri, J.P.L. Aguiar, Composição do chocolate caseiro de amêndoas de Cupuaçu (*Theobroma grandiflorum* (willd ex spreng) schum), Acta Amazônica 18 (1988) 3.
- [17] G.A. Venturieri, Data basis available from <http://www.ufpa/centros/cob/citogenetica/cupu>, 1998, Date of Access: July 2000.
- [18] W.G. Silva, Gordura de Cupuaçu, sucedâneo a manteiga de cacau. PhD Thesis, Universidade de São Paulo, São Paulo, Brazil, 1988.
- [19] M. Gutcho, Modifying properties of fats and oils, in: Edible Oils and Fats: Recent Developments, Noyes Data Corporation, New Jersey, USA, 1979, p. 77.
- [20] R.S. Mohamed, G.M. Neves, T.G. Kieckbusch, Reduction in cholesterol and fractionation butter oil using supercritical carbon dioxide with adsorption on alumina, Int. J. Food Sci. Technol. 33 (1998) 245.
- [21] M.D.A. Saldaña, R.S. Mohamed, M.G. Baer, P. Mazzafera, Extraction of purine alkaloids from mate (*Ilex paraguariensis*) using supercritical CO₂, J. Agri. Food Chem. 47 (1999) 3804.
- [22] S. Chaiseri, D.H. Arruda, P.S. Dimick, G.A. Enriquez, Thermal characteristics and composition of fats from *Theobroma* species, Turrialba 39 (1989) 468.
- [23] N.L. Facioli, L.A.G. Gonsalves, Modificação por via enzimática da composição triglicéridica do óleo de piqui, Química Nova 21 (1998) 16.
- [24] E. Deffense, Application de la chromatographie liquide haute performance à l'analyse triglicérides des graisses végétales et animaux et leurs fractionation obtenues par cristallisation fractionnée, Rev. Fr. Crops Gras 31 (1984) 123.
- [25] AOCS Official Method Ce 5b-89 (93).
- [26] W.J. Miller, W.H. Koester, F.E. Freeberg, The measurement of fatty solids by differential scanning calorimetry, JAOCS 46 (1969) 341.
- [27] R.P. Filippi, CO₂ as a solvent: applications to fats, oils and other materials, Chem. Ind. 19 (1982) 390.
- [28] J.L. Hedrick, L.J. Mulcahey, L.T. Taylor, Supercritical fluid extraction, Microchim. Acta 108 (1992) 115.
- [29] H. Sovová, Rate of the vegetable oil extraction with supercritical CO₂—I modeling of extraction curves, Chem. Eng. Sci. 49 (1994) 409.
- [30] M.M. Santos, E.A. Boss, R. Maciel, Supercritical extraction of oleaginous: Parametric sensitivity analysis, Braz. J. Chem. Eng. 17 (2000) 713.
- [31] J. Chrastil, Solubility of solids and liquids in supercritical gases, J. Phys. Chem. 86 (1982) 3016.
- [32] P. Maheshwari, Z.L. Nikolov, T.M. White, R. Haltel, Solubility of fatty acids in supercritical carbon dioxide, JAOCS 69 (1992) 1069.
- [33] W.B.E. Nilsson, J.K. Hudson, Solubility of simple and mixed triacylglycerols in supercritical CO₂, JAOCS 70 (1993) 749.
- [34] J.M. Prausnitz, R.N. Lichtenthaler, E.G. Azevedo, Intermolecular forces and the theory of corresponding states, in: Molecular Thermodynamics of Fluid-phase Equilibria, Prentice Hall, Englewood, England, 1986, p. 48.
- [35] A.B.A. Azevedo, Extração e fracionamento da gordura de Cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*) com fluidos supercríticos, Master Degree Thesis; UNICAMP, Campinas, Brazil, 2001.
- [36] E.H. Chimowitz, K.J. Pennisi, Process synthesis concepts for supercritical gas extraction in the crossover region, AIChE J. 32 (1986) 1665.
- [37] N.R. Foster, G.S. Gurdial, J.S.L. Yun, K.K. Liang, K.D. Tilly, S.S.T. Ting, H. Singh, J.H. Lee, Significance of the crossover pressure in solid supercritical fluid phase equilibria, Ind. Eng. Chem. Res. 30 (1991) 1955.
- [38] H. Sovová, M. Zarevúcka, M. Vacek, K. Stránský, Solubility of two vegetable oils in supercritical CO₂, J. Supercrit. Fluids 20 (2001) 15.
- [39] I.B. Petsche, P.G. Debenedetti, Solute solvent interactions in infinitely dilute supercritical mixtures—a molecular-dynamics investigation, J. Chem. Phys. 91 (1989) 7075.
- [40] J.F. Brennecke, C.A. Eckert, Fluorescence spectroscopy studies of intermolecular interactions, Supercritical Fluids ACS Symposium, 406 (1989) 14.
- [41] S.L.J. Yun, K.K. Liang, G.S. Gurdial, N.R. Foster, Solubility of cholesterol in supercritical carbon-dioxide, Ind. Eng. Chem. Res. 30 (1991) 2476.
- [42] Y. Adachi, B.C.Y. Lu, Supercritical fluid extraction with CO₂ and ethylene, Fluid Phase Equilibria 14 (1983) 147.
- [43] V.R. Vasconcelos, F.A. Cabral, A new method for estimating solubility of fatty acids, esters and triglycerides in supercritical carbon dioxide, JAOCS 78 (2001) 827.
- [44] E.L. Cussler, Fundamentals of mass transfer, in: Diffusion Mass Transfer in Fluid Systems, Cambridge University Press, New York, NY, 1984, p. 215.

- [45] H. Sovová, R. Komers, J. Kucera, J. Jez, Supercritical carbon dioxide extraction of caraway essential oil, *Chem. Eng. Sci.* 49 (1994) 2499.
 - [46] J. Štastová, J. Jež, M. Bártlová, H. Sovová, Rate of the vegetable oil extraction with supercritical CO₂ III—extraction from sea buckthorn, *Chem. Eng. Sci.* 51 (1996) 4347.
 - [47] H. Sovová, J. Kucera, J. Jez, Rate of the vegetable oil extraction with supercritical CO₂ II—extraction of grape oil, *Chem. Eng. Sci.* 49 (1994) 415.
 - [48] S. Sabariah, A.R.Md. Ali, C.L. Chong, Chemical and physical characteristics of cocoa butter substitutes, milk fat and Malaysian cocoa butter blends, *JAACS* 74 (1998) 905.
-