

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

FACULDADE DE ENGENHARIA QUÍMICA

ÁREA DE CONCENTRAÇÃO
Engenharia de Processos

Extração de espilantol de *Spilanthes acmella* var *oleraceae* com dióxido de carbono supercrítico

Autor: Vanessa Mendes Santos Cavalcanti

Orientador: Prof. Dr. Frederico Guaré Cruz

Co-Orientador: Prof. Dr. Martin Aznar

Co-Orientador: Prof. Dr. Silvio Alexandre Beisl Vieira de Melo

Tese de Doutorado apresentada à Faculdade de Engenharia Química como parte dos requisitos exigidos para a obtenção do título de Doutor em Engenharia Química.

Campinas – São Paulo

Abril 2008

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

C314e Cavalcanti, Vanessa Mendes Santos
Extração de espilantol de *Spilanthos* var *oleraceae*
com dióxido de carbono supercrítico / Vanessa Mendes
Santos Cavalcanti.--Campinas, SP: [s.n.], 2008.

Orientadores: Frederico Guaré Cruz, Martin Aznar,
Silvio Alexandre Beisl Vieira de Melo
Tese (Doutorado) - Universidade Estadual de
Campinas, Faculdade de Engenharia Química.

1. *Spilanthos oleracea*. 2. Extração com fluido
supercrítico. 3. Análise econômico-financeiro. I. Cruz,
Frederico Guaré. II. Aznar, Martin. III. Melo, Silvio
Alexandre Beisl Vieira de. IV. Universidade Estadual de
Campinas. Faculdade de Engenharia Química. V. Título.

Título em Inglês: Extraction of spilanthol from *Spilanthos acmella* var
oleraceae with supercritical carbon dioxide

Palavras-chave em Inglês: Spilanthol, Supercritical fluid, Extraction,
Spilanthos oleraceae, *Spilanthos acmella*,
Isobutylamide, Alkamide, Economical analysis

Área de concentração: Engenharia de Processos

Titulação: Doutor em Engenharia Química

Banca examinadora: Fernando Luiz Pellegrini, Theo Guenter Kiechbusch,
Paulo de Tarso Vieira e Rosa, Fernando Antônio
Cabral

Data da defesa: 24/04/2008

Programa de Pós-Graduação: Engenharia Química

Tese de Doutorado defendida por Vanessa Mendes Santos Cavalcanti e aprovada em 24 de Abril de 2008 pela banca examinadora constituída pelos doutores:



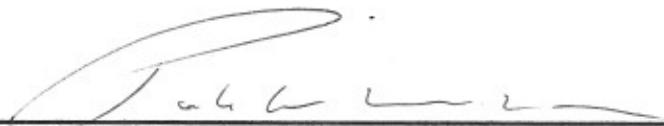
Prof. Dr. Frederico Guaré Cruz
DQO/IQ/UFBA - Orientador



Prof. Dr. Fernando Luiz Pellegrini Pessoa
DEQ/EQ/UFRJ (titular)



Prof. Dr. Theo Guenter Kiechbusch
DTF/FEQ/UNICAMP (titular)



Prof. Dr. Paulo de Tarso Vieira e Rosa
DFQ/IQ/UNICAMP (titular)



Prof. Dr. Fernando Antônio Cabral
DEA/FEA/UNICAMP (titular)

200817846

Este exemplar corresponde à versão final da Tese de Doutorado em Engenharia
Química.



Prof. Dr. Frederico Guaré Cruz

Orientador

A minha família:

Aos meus pais, Arnaldo (in memoriam) e Nidia, pelo amor e simplicidade com que educaram.

Aos meus irmãos e cunhados, pela torcida e motivação, fontes da minha determinação.

Ao meu esposo Marcello, por tudo que representa em minha vida.

Ao meu filho Vitor, um presente de Deus, que enche minha vida de encanto e alegria.

Dedicatória

À minha família:

Aos meus pais, Arnaldo (in memoriam) e Nídia, pelo amor e simplicidade com me educaram.

Aos meus irmãos e cunhados, pela torcida e motivação, fontes da minha determinação.

Ao meu esposo Marcello, por tudo que representa em minha vida.

Ao meu filho Vitor, um presente de Deus, que enche minha vida de encanto e alegria.

AGRADECIMENTOS

Foram muitos os momentos em que tudo indicava que o mais sensato era desistir. Mas não hesitei em pedir ajuda e não hesitaram em me ajudar. Sou sinceramente grata:

Aos amigos Alvaro e Uiran, pela dedicação, paciência e desprendimento com que me treinaram no laboratório. Eles que se empenharam em ajudar o grupo em um momento tão difícil que foi a perda do Professor Rahoma, nossa referência. Muito obrigada pela orientação, pelas discussões tão valiosas, pelo carinho e pela companhia. Sem a ajuda de vocês este trabalho não teria sido possível.

À minha família, pelo amor e confiança que sempre me serviram de referência.

Ao Marcello, que não me deixou desistir. Obrigada pelo companheirismo, compreensão e pela inestimável ajuda no estudo de viabilidade financeira.

Às minhas irmãs, Sandra e Nádia, pelo cuidado e dedicação para com o Vitor durante as minhas viagens à Campinas.

À minha sogra, D.Maria, sempre tão amável e pronta para ajudar.

À amiga de sempre, Cleide, que mesmo distante se faz tão presente em minha vida.

Aos amigos da FEQ, Ronaldo e Tashima, pela companhia e apoio.

Aos colegas do Gesnat/UFBA, pela agradável convivência e ajuda.

Aos Professores Frederico Guaré Cruz, Martin Aznar e Silvio A. B. Vieira de Melo pelos direcionamentos e ensinamentos que contribuíram para a qualidade deste trabalho.

Ao Professor Theo Kieckbusch, pelo apoio constante.

Aos Professores Paulo Rosa, Fernando Pessoa e Fernando Cabral a quem eu sempre pude recorrer. Obrigada pela disponibilidade e boa vontade com que sempre me atenderam.

Aos colegas da Natura, pela credibilidade de sempre, sobretudo a José Renato Cagnon, que possibilitou esta parceria através do Programa Campus e a Sergio Delarcina Junior, pelas valiosas discussões técnicas e pela amizade.

À empresa Natura Cosméticos S.A., pelo apoio técnico e financeiro sem os quais este trabalho não teria sido realizado.

À banca examinadora pelas correções e sugestões.

Ao Laboratório de Engenharia de Processos e Produtos em Biorrecursos (LEPPbio) da Faculdade de Engenharia Química da Unicamp e ao Grupo de Estudo de Substâncias Naturais (GESNAT) do Departamento de Química Orgânica da Universidade Federal da Bahia, pela oportunidade.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento e Pesquisa – CNPq – pela bolsa concedida.

"... Foram ideais que suscitaram meus esforços e me permitiram viver. Chamam-se o bem, a beleza, a verdade. Se não me identifico com outras sensibilidades semelhantes à minha e se não me obstino incansavelmente em perseguir meus ideais, eternamente inacessíveis na arte e na ciência, a vida perde o sentido para mim."

Albert Einstein

RESUMO

Spilanthes acmella var *oleraceae*, popularmente conhecida como jambu, é uma erva típica da região norte do Brasil, onde faz parte de pratos da culinária local. Na medicina popular é utilizada no tratamento de afecções da boca e garganta e como analgésico para dores de dentes. Na indústria, extratos deste gênero têm sido utilizados em produtos de higiene oral e em composições alimentícias como agente refrescante e aromatizante. Recentemente vem sendo utilizado em composições cosméticas como agente anti-sinais de envelhecimento, entre outros. Estas propriedades são atribuídas à presença de uma alcanida alifática denominada espilantol. Os processos convencionais para extrair o espilantol de espécies vegetais normalmente utilizam solventes orgânicos. Estes processos são inadequados em vários aspectos como, por exemplo, utilização de temperaturas elevadas no processamento, necessidade de etapas adicionais de purificação; baixa seletividade, entre outros. Nesse contexto, a tecnologia de extração com fluido supercrítico aparece como uma alternativa extremamente promissora para a obtenção do extrato de jambu. O objetivo dessa tese foi avaliar a viabilidade técnica e financeira da extração de espilantol da planta *Spilanthes acmella* var *oleraceae* utilizando como solvente o dióxido de carbono supercrítico a temperaturas entre 40 e 60 °C e pressões entre 76 e 352 bar. Dados experimentais inéditos da cinética do processo de extração supercrítica foram gerados numa unidade de bancada em laboratório. Um bom equilíbrio entre recuperação de espilantol (em torno de 70 a 80%), teor de espilantol nos extratos (de 13 a 30%) e o aspecto do extrato (coloração variando de amarelo pálido a amarelo) foi obtido para densidades intermediárias do solvente supercrítico (400 a 700 kg/m³). Análises cromatográficas e por RMN indicaram a predominância de espilantol e material graxo de alto peso molecular nos extratos. O estudo preliminar de viabilidade financeira realizado através do cálculo do custo de manufatura do extrato e de indicadores econômicos, tais como a taxa interna de retorno, o tempo de retorno e o valor presente líquido, indicou que o preço de mercado do extrato de jambu pode absorver os custos da extração com fluido supercrítico com rentabilidade, segurança e liquidez.

Palavras-chave: jambu, espilantol, fluido supercrítico, extração, *Spilanthes oleraceae*, *Spilanthes acmella*, isobutilamida, alcanida, análise financeira

ABSTRACT

Spilanthes acmella var *oleraceae*, known as “jambu”, is a typical herb from north of Brazil, where it is used in the local cuisine. In the folk medicine, it is employed as an analgesic for toothache and for throat and mouth complaints. In industry, the extract from jambu has been utilized in oral care and food compositions as a flavor and refresher. In cosmetics compositions it has been recently used as anti-ageing active ingredient, among others applications. These properties are attributed to the presence of an aliphatic alkamide called spilanthol. The traditional process for extraction of spilanthol from plant material usually uses organic solvents. This process has disadvantages in several ways, for example, high operation temperature, need of additional purification process, low selectivity, among others. In this context, the supercritical fluid technology emerges as an extremely hopeful alternative to this process. The aim of this work is the assessment of the technical and economical feasibility of extraction of spilanthol from *Spilanthes acmella* var *oleraceae* using supercritical carbon dioxide as solvent in the temperature range of 40-60°C and pressure range of 76-352 bar. There is no information in literature about supercritical extraction kinetic behavior for this system and new experimental data on this behavior was measured in a bench scale extraction unit. Good results for spilanthol recover (around 70 to 80%), spilanthol concentration in the extracts (13 to 30%) and organoleptic characteristics, as color extract (pale yellow to yellow), that is more convenient for industrial application, were obtained for supercritical solvent densities in the range of 400 to 700 kg/m³. Chromatographic and Nuclear Magnetic Resonance (NMR) analysis indicated the predominance of spilanthol and heavy hydrocarbons in the extracts. The preliminary economical feasibility study, carried out through the manufacture cost of extract and economical indexes (internal rate of return, payback period, net present value), indicated that supercritical carbon dioxide extraction of spilanthol from *Spilanthes acmella* var *oleraceae* is feasible.

Keywords: spilanthol, supercritical fluid, extraction, *Spilanthes oleraceae*, *Spilanthes acmella*, isobutylamide, alkamide, economical analysis

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1: INTRODUÇÃO E OBJETIVOS	1
1.1 - Introdução e Relevância da Pesquisa	1
1.2 - Objetivos	6
1.2.1 - Objetivo Geral	6
1.2.2 - Objetivos Específicos	6
CAPÍTULO 2: REVISÃO DA LITERATURA	7
2.1 - Jambu	7
2.2 - Alcamidas em plantas	9
2.3 - Espilantol	10
2.3.1 - Ocorrência	11
2.3.2 - Atividades biológicas	15
2.3.3 - Aplicações: Patentes	16
2.4 - Obtenção de princípios ativos de matrizes vegetais	18
2.4.1 - Fluidos Supercríticos	19
2.4.2 - Processamento de matrizes sólidas com fluido supercrítico	23
2.4.3 – Influência das variáveis de processo	25
2.4.3.1 - Efeito da interação com a matriz sólida.	27
2.4.3.2 - Dependência do tamanho da partícula	28
2.4.3.3 - Pré-tratamento térmico da matriz	31
2.4.3.4 - Dependência da vazão	32
2.4.3.5 - Dependência da pressão e temperatura	34
2.4.3.6 - Extração dos componentes ativos do Gênero <i>Spilanthes</i>	37
CAPÍTULO 3: MATERIAIS E MÉTODOS	40
3.1 - Matérias-primas	40
3.1.1 - Preparo do material vegetal	40
3.2 - Extração com solventes orgânicos	41
3.2.1 - Extração por maceração a frio	42
3.2.2 - Extração por refluxo de solvente	42
3.3 - Extração Supercrítica	43
3.3.1 - Equipamento	43

3.3.2 - Extração utilizando CO ₂ puro e com adição de co-solventes	
– ensaios preliminares	45
3.3.3 - Extração utilizando CO ₂ puro	
– Avaliação dos parâmetros de processo	47
3.4 - Métodos analíticos	48
3.4.1 - Cromatografia em Camada Delgada (CCD)	48
3.4.2 - Ressonância Magnética Nuclear (RMN)	48
3.4.3 - Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)	49
3.4.4 - Cromatografia Gasosa - Espectrometria de massas (CG-EMS)	49
CAPÍTULO 4: RESULTADOS E DISCUSSÃO	50
4.1 - Preparo do material vegetal	50
4.2 - Extração com solventes orgânicos	51
4.2.1 - Rendimento global de extrato e rendimento de espilantol	
- Maceração a frio e extração por refluxo	52
4.2.2 - Rendimento global de extrato e rendimento de espilantol	
- CO ₂ puro e CO ₂ + co-solventes	55
4.3 - Extração com CO ₂ puro	
– Avaliação da influência das variáveis de processo	59
4.3.1 - Diâmetro médio do material	60
4.3.2 - Vazão	61
4.3.3 - Pressão e temperatura	63
4.3.4 - Recuperação do espilantol	77
4.3.5 - Fração mássica de espilantol nos extratos	79
CAPÍTULO 5: ESTUDO DA VIABILIDADE FINANCEIRA	86
5.1 – Revisão da literatura	86
5.2 - Custo de manufatura	89
5.2.1 - Custo relativo ao investimento	90
5.2.2 - Custo da mão-de-obra operacional	92
5.2.3 - Custo das matérias-primas	92
5.2.4 - Custo do tratamento de resíduos	94
5.2.5 - Custo das utilidades	94
5.2.5.1 - Ciclo do solvente	95

5.2.6 – Custo de manufatura do extrato de jambu	98
5.3 - Avaliação financeira	106
5.3.1. - Valor Presente Líquido (VPL)	106
5.3.2 - Taxa Interna de Retorno (TIR)	107
5.3.3 - Tempo de Retorno (TR)	108
5.3.4 - Análise financeira do processo de obtenção do extrato de jambu	108
5.4 - Análise de sensibilidade	113
5.4.1 - Desempenho financeiro do investimento em função da pressão de separação	11
3	
5.4.2 - Desempenho financeiro do investimento em função do preço da unidade de extração	114
5.4.3 - Desempenho financeiro do investimento em função do preço da matéria-prima	116
5.4.4 - Desempenho financeiro do investimento em função do preço de comercialização do extrato	118
CAPÍTULO 6: CONCLUSÕES E SUGESTÕES	124
6.1 - Conclusões	124
6.1.1 - Ensaios Preliminares	124
6.1.2 - Ensaios com CO ₂ supercrítico puro	125
6.1.3 - Estudo da análise financeira do investimento	126
6.2 - Sugestões	127
EQUAÇÕES	128
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	129
ANEXO A: Curva analítica para quantificação do espilantol - CLAE	144

LISTA DE FIGURAS

Figura 2.1 - Fotos da planta <i>Spilanthes acmella</i> var <i>oleraceae</i> (jambu) comercializada (a) em feira livres e (b) do cultivo em Belém-PA [Cortesia Natura]	8
Figura 2.2 - Alcamidas presentes nas famílias (a) Asteraceae, (b) Solanaceae e (c) Piperaceae (Ramsewak et al, 1999; Torres e Chávez, 2001)	9
Figura 2.3 - Estrutura do espilantol ou afinina (Molinatorres et al., 1996)	10
Figura 2.4 - Estrutura do homoespilantol (Ley et al., 2005)	10
Figura 2.5 - Diagrama de fases esquemático para uma substância pura (adaptado de Rizvi, 1986)	19
Figura 2.6 - Diagrama PpT para o dióxido de carbono (Kopcak, 2003)	21
Figura 2.7 - Diagrama típico de um processo de extração (Azevedo, 2005)	24
Figura 2.8 - Representação gráfica de algumas curvas de extração típicas utilizando fluido supercrítico (método dinâmico)	27
Figura 2.9 - Influência do diâmetro de partícula no curso de extração de óleo de sementes de uva com dióxido de carbono supercrítico, e: quantidade de óleo extraído/quantidade óleo inicial; q: massa de solvente/massa de óleo inicial (Adaptado de Sovová et al., 1994)	29
Figura 2.10 - Extração de óleo lubrificante (Drawsol 2345N) aplicado sobre tampões (Bjorklund et al., 1998)	33
Figura 2.11 - Extração de óleo lubrificante aplicado sobre esferas metálicas (Bjorklund et al., 1998)	34
Figura 2.12 - Efeito da pressão e da temperatura sobre a solubilidade de naproxeno em CO ₂ supercrítico puro (McHugh e Krukonis, 1994)	35
Figura 2.13 - Solubilidade (fração mássica) da monocrotalina e da matéria lipídica da <i>Crotalaria spectabilis</i> com 90% de CO ₂ e 10% de etanol (Adaptado de Schaefer et al., 1988)	37
Figura 3.1 - Montagem experimental para a extração por refluxo de solvente	43
Figura 3.2 - Equipamento de extração supercrítica (Azevedo, 2005)	44
Figura 4.1 - Espectros de RMN de ¹ H para: (a) padrão de espilantol e (b) extrato hexânico	53
Figura 4.2 - Rendimentos obtidos a 276 bar, 40 °C, vazão de 1,0 L/min para extrações com CO ₂ puro e CO ₂ + co-solventes: (a) rendimento de extrato e	

(b) rendimento de espilantol	56
Figura 4.3 - Espectros de RMN de ^1H para os extratos obtidos com CO_2 puro a 276 bar, 40 °C: (a) 100 L de CO_2 e (b) 600 L de CO_2	57
Figura 4.4 - Curva de extração do espilantol em função do diâmetro médio de partícula a 248 bar e 40 °C	61
Figura 4.5 - Influência da vazão de solvente no rendimento de extração de espilantol em função da massa de CO_2 : (a) 152 bar, 40 °C e (b) 248bar, 40 °C	62
Figura 4.6 - Curvas de extração global utilizando CO_2 supercrítico: (a) 40 °C; (b) 50 °C e (c) 60 °C	65
Figura 4.7 - Solubilidade aparente do extrato em função da densidade do CO_2	66
Figura 4.8 - Curvas de extração global utilizando CO_2 supercrítico: (a) 152 bar, (b) 248 bar, (c) 352 bar	68
Figura 4.9 - Isotermas de rendimento global em extrato em função da pressão do CO_2 supercrítico	69
Figuras 4.10 - Curvas de extração de espilantol utilizando CO_2 supercrítico: (a) 40 °C; (b) 50 °C e (c) 60 °C	71
Figura 4.11 - Rendimento de espilantol em função da densidade do CO_2	72
Figura 4.12 - Curvas de extração de espilantol utilizando CO_2 supercrítico: (a) 152 bar, (b) 248 bar e (c) 352 bar	75
Figura 4.13 - Isotermas de rendimento de espilantol obtido com 37 kg CO_2 /kg planta em função da pressão	75
Figura 4.14 - Isotermas de rendimento de espilantol obtido com 37 kg CO_2 /kg planta em função da pressão (* valor estimado através dos ensaios preliminares)	76
Figura 4.15 - Recuperação do espilantol em função da pressão e temperatura: (a) 40 °C, (b) 50 °C e (c) 60 °C	79
Figura 4.16 - Fração mássica de espilantol em função da temperatura, pressão e massa de CO_2 : (a) 40 °C; (b) 50 °C; (c) 60 °C	81
Figura 4.17 - Espectro de massa para o extrato obtido a 103 bar e 50 °C	83
Figura 5.1 - Ciclo do solvente para o processo de bombeamento no diagrama Temperatura-Entropia (Bertucco e Vetter, 2001)	96
Figura 5.2 - Influência da pressão, temperatura e tempo de extração sobre o custo de manufatura do extrato de jambu	99

Figura 5.3 - Parcelas do custo de manufatura a 25 e 100 minutos de extração a 152 bar e 40 °C	100
Figura 5.4 - Parcelas do custo de manufatura em função da temperatura de extração	101
Figura 5.5 - Parcelas do custo de manufatura em função da pressão e temperatura de extração	101
Figura 5.6 - Custo de manufatura e fração mássica de espilantol no extrato em função do tempo de extração: (a) 152 bar e 40 °C, (b) 152 bar e 60 °C, (c) 103 bar e 50 °C e (d) 200 bar e 50 °C	105
Figura 5.7 - Influência do (a) investimento, (b) preço do extrato e (c) preço da matéria-prima (mp) sobre os indicadores econômicos VPL e TIR	121
Figura 5.8 - Influência do (a) investimento, (b) preço do extrato e (c) preço da matéria-prima (mp) sobre TR	122

LISTA DE TABELAS

Tabela 2.1 - Propriedades físicas do espilantol ou afinina (Jacobson, 1957)	11
Tabela 2.2 - Temperatura (T_c) e pressão (P_c) críticas de alguns fluídos (Clifford, 1999)	22
Tabela 4.1 - Distribuição granulométrica do material vegetal original	51
Tabela 4.2 - Resultados obtidos nos processos com CO_2 puro e CO_2 adicionado de co-solventes	58
Tabela 4.3 - Rendimento de espilantol (% b.s) obtido através de extração por refluxo de solvente em função do diâmetro médio de partícula	60
Tabela 4.4 - Condições experimentais de extração de espilantol com CO_2 supercrítico	64
Tabela 4.5 - Fração mássica de espilantol nos extratos em função da densidade	82
Tabela 5.1 - Dados para determinação da vazão de CO_2 (kg/h) na unidade industrial	93
Tabela 5.2 - Custos das utilidades	94
Tabela 5.3 - Entalpia específica do CO_2 (KJ/kg CO_2) durante o processo de extração e expansão a 60 bar.	96
Tabela 5.4 - Consumo de energia (KJ/kg CO_2) no processo de extração para expansão a 60 bar	97
Tabela 5.5 - Custo de utilidades para a condição de extração a 152 bar e 40 °C e expansão a 60 bar	98
Tabela 5.6 - Custo de manufatura e fração mássica de espilantol no extrato em função do tempo de extração para as condições de 152 bar e 40 °C e 152 bar e 60 °C	102
Tabela 5.7 - Custo de manufatura e fração mássica de espilantol no extrato em função do tempo de extração para as condições de 103 bar e 50 °C e 200 bar e 50 °C	103
Tabela 5.8 - Receitas e custos de manufatura para o extrato de jambu	109
Tabela 5.9 - Fluxo de caixa (US\$1.000) para a condição de extração de 152 bar, 40 °C e 1,67 horas	111
Tabela 5.10 - Indicadores econômicos em função da condição de extração	112
Tabela 5.11 - Variação dos indicadores econômicos em função da pressão de separação para a condição de 152 bar e 40 °C e investimento de US\$520.000	114

Tabela 5.12 - Variação dos indicadores econômicos em função pressão de separação para a condição de 103 bar e 50 °C e investimento de US\$520.000	114
Tabela 5.13 - Variação dos indicadores econômicos em função do preço da unidade de extração para a condição de 152 bar e 40 °C	115
Tabela 5.14 - Variação dos indicadores econômicos em função do preço da unidade de extração para a condição de 103 bar e 50 °C	116
Tabela 5.15 - Variação dos indicadores econômicos em função do preço da matéria-prima (mp) para a condição de 152 bar e 40 °C e investimento de US\$520.000	117
Tabela 5.16 - Variação dos indicadores econômicos em função do preço da matéria-prima (mp) para a condição de 103 bar e 50 °C e investimento de US\$520.000	117
Tabela 5.17 - Variação dos indicadores econômicos em função do preço de comercialização do extrato para a condição de 152 bar e 40 °C e investimento de US\$520.000	118
Tabela 5.18 - Variação dos indicadores econômicos em função do preço de comercialização do extrato para a condição de 103 bar e 50 °C e investimento de US\$520.000	119

NOMENCLATURA

Letras Latinas

G	Vazão mássica
H	Entalpia específica
M	Massa de sólidos
P	Pressão
P _c	Pressão Crítica
PC	Ponto Crítico
PT	Ponto Triplo
T	Temperatura
T _c	Temperatura Crítica
i	Custo de capital da empresa
p	Período do investimento em anos
R	Receita

Letras Gregas

ρ	Densidade
δ	Deslocamento químico

Abreviaturas

a.a	Ao ano
b.s	Base seca
CAS	Chemical Abstracts Service
CCD	Cromatografia em camada delgada
CG-MS	Cromatografia gasosa e espectrometria de massa
CLAE	Cromatografia líquida de alta eficiência
CNTP	Condições normais de temperatura e pressão

FSC	Fluido supercrítico
GRAS	Generally Recognised as Safe
LS	Líquido sub-resfriado
LV	Líquido + vapor
na	não avaliado
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
SFE	Extração com fluido supercrítico
TS	Temperatura-Entropia
VS	Vapor superaquecido
COL	Custo de mão de obra operacional
COM	Custo de manufatura
CRM	Custo de matérias-primas
CUT	Custo das utilidades
CVV	Custo variável de vendas
CWT	Custo de tratamento de resíduo
FCI	Fração de investimento em base anual
IR	Imposto de renda
LLIQ	Lucro líquido
LOP	Lucro operacional
TIR	Taxa interna de retorno
TR	Tempo de retorno
V0	Valor inicial investido
Vn	Valor do fluxo de caixa
VPL	Valor presente líquido

ABRACE	Associação Brasileira dos Consumidores de Energia
ADA	Agência de Desenvolvimento da Amazônia
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

Símbolos

$d\#$	Diâmetro da peneira
dp	Diâmetro de partícula

CAPÍTULO 1: INTRODUÇÃO E OBJETIVOS

1.1 - Introdução e relevância da pesquisa

O Brasil possui uma das maiores biodiversidades do mundo com várias espécies sendo comercializadas, sobretudo para o exterior. Porém, quando se fala em comercialização de produtos naturais, a realidade aponta para a direção contrária à desejável para a competitividade industrial: um percentual considerável de produtos primários na pauta de exportações e um percentual maior ainda de princípios ativos e especialidades na pauta de importações. Essa diferença é o preço da tecnologia, que faz com que os países desenvolvidos comprem a matéria-prima bruta do Brasil e, por técnicas de extração, obtenham produtos de interesse que retornam ao país com maior valor agregado.

Apesar de, nos últimos anos, o uso de óleos "exóticos" extraídos de espécies florestais nativas para a elaboração de produtos cosméticos ter reforçado o interesse por pesquisas e busca de informações, tanto por espécies oleaginosas quanto por outras menos conhecidas (Ferreira et al., 2005), ainda é muito incipiente a valorização do processamento e transformação desses produtos, sobretudo envolvendo tecnologia de ponta que permita a substancial agregação de valor aos produtos finais. O mercado de ativos naturais está em plena expansão, sendo que, na maioria dos países, o "combustível" para a continuidade do crescimento desta categoria de negócios será o avanço na tecnologia para potencializar a eficiência e o desempenho dos ingredientes naturais (MacDonald, 2001).

Em geral, a transformação de produtos naturais para obtenção de princípios ativos requer uma série de operações preliminares, através das quais se realiza a progressiva separação das substâncias desejadas a partir da matriz vegetal. Os processos convencionalmente utilizados na extração de produtos naturais apresentam alguns inconvenientes como altas temperaturas de operação, presença de resíduos tóxicos no produto final devido à utilização de solventes orgânicos e possibilidade de contaminação ambiental. O maior rigor na legislação ambiental e a demanda por produtos diferenciados e de melhor qualidade têm estimulado a busca por tecnologias que, além de permitirem um maior controle das propriedades finais do produto, agreguem a característica de minimizar o impacto ambiental, resultando em produtos de maior valor comercial. Dentro deste

contexto, a tecnologia de fluido supercrítico aparece como uma alternativa extremamente promissora, sobretudo para as indústrias de intermediários farmacêuticos, cosméticos, alimentícios e de especialidades químicas. Os fluidos, na proximidade de seus pontos críticos, apresentam densidades características de líquidos e compressibilidade e coeficiente de expansão comparáveis aos de gases. Estas propriedades são particularmente sensíveis à temperatura e pressão e no estado supercrítico os fluidos apresentam-se, dependendo das condições, como solventes com capacidades semelhantes aos líquidos, porém com a vantagem de que esta capacidade pode ser modificada com pequenas alterações na pressão e temperatura. Em um processo típico de extração supercrítica, o material contendo o produto de interesse é colocado em um vaso extrator em que uma corrente de solvente no estado supercrítico é passada em condições de pressão, temperatura e vazão determinadas, extraíndo um ou mais componentes dependendo das características do sistema e da solubilidade. A manipulação das condições operacionais pode tornar o solvente mais seletivo na extração de um ou outro componente. Após a extração, o material dissolvido precipita em um vaso separador com a redução da pressão ou ajuste da temperatura do sistema e conseqüente perda do poder de solubilização do fluido supercrítico.

Nos últimos anos, as atividades de pesquisa e desenvolvimento de processos de obtenção de extratos naturais têm focalizado na utilização da tecnologia de extração com fluido supercrítico (SFE), especialmente com dióxido de carbono (CO_2), uma substância não-tóxica, não-inflamável, de custo relativamente baixo e que possui uma pressão crítica moderada (73,8 atm) e uma baixa temperatura crítica (31 °C), permitindo seu uso no estado supercrítico sem causar danos às propriedades funcionais dos constituintes termolábeis de produtos naturais, como poderia ocorrer durante outros processos. Embora a tecnologia tenha se desenvolvido em outras áreas (cromatografia preparativa em larga escala; manufatura de tintas, reação de hidrogenação, tratamento de efluentes com água supercrítica, micronização, dentre outras) o maior foco ainda está relacionado ao processamento de produtos naturais com vários trabalhos científicos compilados na literatura (Reverchon, 1997; Lang e Wai, 2001; Rosa e Meireles, 2004; Del Valle et al., 2005; Reverchon e de Marco, 2006). Esta intensa atividade de pesquisa para o uso de CO_2 supercrítico no processamento de produtos naturais também é confirmada por uma busca realizada na base de dados de patentes do governo americano ("United State Patent Office"). Esta busca reforça o interesse pela tecnologia aplicada a produtos naturais (Castor

et al., 2001; Butters et al., 2002; Mak et al., 2002; Pei et al., 2002; Shen et al., 2002; Bingelli et al., 2003; Crombie, 2004; Sábio et al., 2004; Gong e Jiang, 2005, Zhang et al., 2006; Ruepp, 2007).

A tecnologia de fluido supercrítico é de origem alemã, com a sua primeira aplicação em larga escala na indústria alimentícia para descafeinação de café no início da década de 70. Na década de 80, as companhias alemãs estenderam suas aplicações na área de alimentos (extração de lúpulo, aromas e corantes) e para princípios ativos cosméticos e farmacêuticos. Unidades de produção estão em operação, principalmente na Europa, Ásia e América do Norte. Na Itália e França foram construídas unidades de média capacidade para processamento de ingredientes intermediários para a indústria alimentícia, farmacêutica e cosmética; na China e Coreia do Sul, para preparação de fitofarmacos e na Índia, para extração de condimentos e aromas (Bork et al., 2000). Mas, frente à grande biodiversidade mundial, o mercado de extratos obtidos com fluido supercrítico ainda é restrito a alguns nichos de produto. Muitas vezes a extração com fluido supercrítico não é escolhida como rota tecnológica por ser considerada uma tecnologia cara devido aos investimentos associados com a operação a pressões elevadas (Perrut, 2000) e o processo é descartado como alternativa mesmo antes de uma análise econômica preliminar (Rosa e Meireles, 2005). Apesar da disponibilidade de matéria-prima e de conhecimento científico, não se tem registro, até o presente momento, de unidade industrial de extração com fluido supercrítico nos países da América Latina (Del Valle et al., 2005; Rosa e Meireles, 2005).

Considerando a riqueza natural do nosso país, aliada à tradição na produção agrícola, que pode garantir matéria-prima com qualidade e baixo custo, inúmeros ingredientes ativos disponíveis na biodiversidade brasileira poderiam ter seus processos de extração reavaliados com o objetivo de fracionar ativos diferenciados e de maior valor agregado.

Nesse contexto, o presente projeto contempla o estudo e aplicação de uma tecnologia com grande valor estratégico, extração com fluidos supercríticos, que pode ser utilizada em diversas aplicações industriais, permite melhor controle das características dos produtos obtidos e está de acordo com as tendências na legislação ambiental (eliminação de solventes orgânicos, controle na liberação de compostos orgânicos voláteis e controle de resíduos em produtos para o consumidor). Além disso, a aplicação de tecnologias de base

científica é fundamental para desenvolver e aperfeiçoar produtos da biodiversidade brasileira, podendo levar o país a uma posição de destaque no cenário mundial.

Neste estudo avalia-se a viabilidade técnica e financeira da extração de espilantol da planta *Spilanthus oleraceae* ou *Spilanthus acmella* var *oleraceae* utilizando como solvente o dióxido de carbono supercrítico. Esta espécie, popularmente conhecida como jambu, é utilizada de forma doméstica por todo o interior da Amazônia, sobretudo no estado do Pará, onde faz parte de pratos típicos da culinária local como o tacacá e o pato no tucupi. Na medicina popular é utilizada no tratamento de afecções da boca e garganta e como analgésico para dores de dentes. A literatura cita ainda o uso em pastas de dentes, no tratamento de manchas na pele, no tratamento de algumas micoses e herpes (Nigrinis et al., 1986), como inseticida, dentre outros (Ramsewak et al, 1999; Torres e Chávez, 2001; Bráz et al, 2007). Estas propriedades, atribuídas à presença de isobutilamidas, principalmente o espilantol ou afinina [CAS 25394-57-4] têm sido exploradas em diversas formulações alimentícias, cosméticas e farmacêuticas. Um processo convencional de extração com solventes orgânicos será também conduzido para maior informação sobre a composição da matriz vegetal.

Os métodos correntes citados na literatura para obtenção do extrato de espilantol ou isolamento do composto ativo a partir do material vegetal normalmente utilizam solventes orgânicos como hexano (Ramsewak et al, 1999) ou uma mistura de solventes polares e não polares (Shimada e Gomi, 1995; Delarcina-Junior et al., 2005). Estes processos são inadequados em vários aspectos como, por exemplo, a possibilidade de presença de resíduos de solventes orgânicos no extrato final; temperaturas elevadas de processamento que podem danificar o extrato, resultando em um produto de qualidade inferior; a necessidade de etapas adicionais de purificação para separar o solvente do produto natural de interesse; baixa seletividade; extratos de coloração muito escura, dentre outros. Os solventes orgânicos típicos como hexano, metanol e acetato de etila são nocivos aos seres humanos (tóxicos e carcinogênicos) e ao meio-ambiente. Mesmo que estes processos utilizem solventes com grau alimentício como, por exemplo, etanol, permanecem os problemas relacionados à cor verde escura do material extraído (fator que restringe a aplicação do produto), a baixa seletividade e a necessidade de etapa adicional de purificação.

Os principais fatores motivadores do estudo do processo de extração do espilantol a partir de jambu utilizando CO₂ supercrítico são: o preço elevado do extrato de jambu disponível comercialmente; a expansão da demanda por este produto pela indústria cosmética nacional; o fato do jambu ser uma hortaliça de cultivo já dosmetizado, o que facilita a sua utilização em escala comercial, e de estar sendo cultivado através de agricultura orgânica no Brasil, que lhe confere grande apelo mercadológico, sobretudo para exportação e a necessidade real da indústria por um produto diferenciado ou de melhor qualidade que aqueles atualmente disponíveis no mercado.

1.2 - Objetivos

1.2.1 – Objetivo geral

Avaliar a viabilidade técnica e financeira de extração de espilantol de *Spilanthes acmella* var *oleraceae* (jambu) utilizando dióxido de carbono supercrítico.

1.2.2 - Objetivos específicos

1. Avaliar a composição da matriz vegetal através de processo de extração convencional sólido-líquido (maceração) utilizando solventes com gradientes de polaridade.
2. Analisar a influência das variáveis temperatura, pressão, vazão e diâmetro de partícula sobre o rendimento global, rendimento de espilantol, característica do extrato e cinética de extração com CO₂ supercrítico.
3. Comparar o rendimento e características das frações obtidas no processo de extração supercrítica com aqueles obtidos através de extração convencional por refluxo de solvente utilizando etanol.
4. Avaliar o impacto das variáveis de processo no desempenho financeiro do mesmo.

CAPÍTULO 2: REVISÃO DA LITERATURA

Neste capítulo inicialmente é apresentada uma descrição da espécie vegetal estudada: Jambu. Em seguida, é apresentada uma revisão da literatura sobre a presença de alcaloides nas plantas, em particular o espilantol, abordando aspectos como ocorrência, propriedades, atividades biológicas e aplicações industriais deste composto. E, finalmente, uma revisão sobre a tecnologia do fluido supercrítico, enfatizando os fundamentos e destacando a importância das principais variáveis de processo através de trabalhos publicados na literatura.

2.1 - Jambu

Spilanthes acmella var *oleraceae* ou *Spilanthes oleraceae* ou *Acmella oleraceae*, conhecida no Brasil por jambu, é uma erva típica da região norte do Brasil, onde faz parte de pratos da culinária local como o tacacá e o pato no tucupi. Conhecida também pelos nomes de agrião do Pará, agrião do Norte, agrião bravo, agrião do Brasil, botão de ouro, dentre outros, tem suas inflorescências compostas de flores amarelas e suas folhas e flores têm um sabor picante e causam leve formigamento e entorpecimento da língua.

Na medicina popular é utilizada como analgésico e anestésico local (Torres e Chávez, 2001), no tratamento de aftas, herpes, afecções da garganta (Nigrinis et al., 1986; Ramsewak et al., 1999; Torres e Chávez, 2001), no tratamento de manchas da pele (Nigrinis et al., 1986) como inseticidas (Ramsewak et al., 1999; Torres e Chávez, 2001), dentre outras aplicações. Os principais efeitos biológicos observados – atividade anestésica local, aromatizante, inseticida e bactericida – são atribuídos ao espilantol ou afinina, uma isobutilamida obtida pela primeira vez por Gerber em 1903 (Ramsewak et al., 1999).

O jambu é uma planta anual herbácea, ramificada, de 30 a 60 cm de altura, originária da América do Sul e que se desenvolve bem, em geral, em regiões de clima quente e úmido através de propagação por sementes ou estacas. É considerada a hortaliça nativa de maior importância quanto à área plantada na região amazônica, sobretudo no estado do Pará (Rebello e Homma, 2005). Nesta região a hortaliça é cultivada através de agricultura familiar sendo comercializada em feiras livres ou diretamente pelos pequenos produtores da região de Belém (Gusmão et al., 2006). Segundo relatório da Agência de

Desenvolvimento da Amazônia (ADA, 2006), este comércio informal, sem mercado definido, dificulta o conhecimento real de dados econômicos sobre a matéria-prima, uma vez que não são completamente computados nas estatísticas oficiais.

Várias patentes relacionadas à utilização de espilantol ou extrato de jambu em dentífricos e outras formulações para higiene oral foram depositadas na década de 80 e 90, sobretudo no Japão. Mas só recentemente a atividade desta espécie nativa da região amazônica despertou o interesse da indústria brasileira, o que motivou o seu cultivo também na região centro sul do país através de parcerias com o Grupo Centroflora, líder sul-americano em produção e desenvolvimento de extratos vegetais padronizados, destinados às indústrias farmacêutica, cosmética e alimentícia. No interior de São Paulo, Goiás e Paraná, o jambu está sendo cultivado através de horticultura orgânica com produtividade de trinta toneladas anuais de massa verde por hectare com até três colheitas por ano (Anônimo, 2005). Uma variedade de jambu identificada como “nazaré” foi lançada pela EMBRAPA (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária), variedade esta obtida através de seleção entre vários materiais coletados na Amazônia e que apresenta características superiores de produção e qualidade (Gusmão et al., 2006). Na Figura 2.1 podem ser observadas fotos da planta (a) e do cultivo de jambu (b).

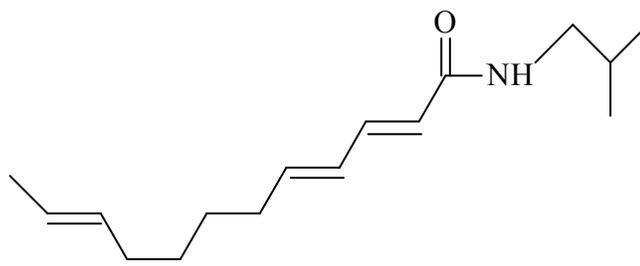


Figura 2.1 – Fotos da planta *Spilanthus acmella* var *oleraceae* (jambu) (a) comercializada em feira livres e (b) do cultivo em Belém - PA [cortesia Natura].

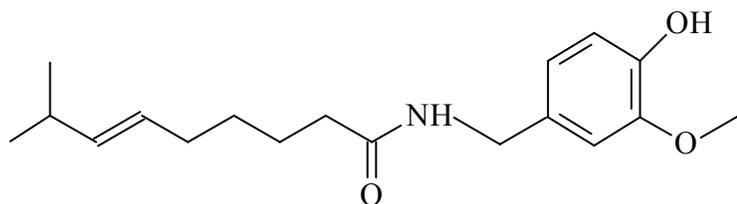
2.2 - Alcamidas em plantas

Alcamidas ou alquilamidas são um grupo de compostos constituídos pela união de um ácido graxo de comprimento de cadeia médio a grande, oito a dezoito carbonos, geralmente alifática, e uma amina. Segundo Torres e Chávez (2001), este grupo de compostos compreende aproximadamente setenta estruturas conhecidas e distribuídas no reino vegetal e as famílias de plantas mais importantes nas quais as alcamidas se encontram presentes são: Asteraceae, Solanaceae e Piperaceae.

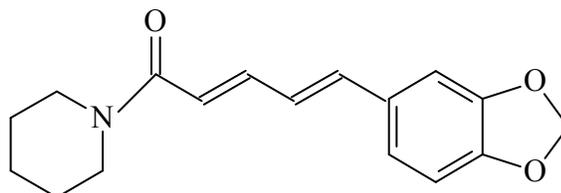
Exemplos de estruturas de alcamidas e a família e espécie em que ocorrem são apresentados na Figura 2.2.



(a) Espécie *Echinacea purpurea*; N-isobutil-dodeca-2E,4E,8Z,10E-tetraenamida



(b) Espécie *Capsicum annum*; Amida Capsaicina



(c) Espécie *Piper nigrum*; Amida Piperina

Figura 2.2 – Alcamidas presentes nas famílias (a) Asteraceae, (b) Solanaceae e (c) Piperaceae (Ramsewak et al, 1999; Torres e Chávez, 2001).

Dependendo do tipo de ligações que apresentam na cadeia carbônica originada do ácido graxo, as alcanidas são divididas em dois grupos principais: alcanidas olefinicas que possuem ligações duplas (por exemplo, espilantol) e alcanidas acetilênicas com pelo menos uma ligação tripla. Em relação ao grupo proveniente da amina a sua estrutura pode apresentar uma cadeia alifática como aquela presente nas N-alkilamidas (Figura 2.2a e Figura 2.3) ou apresentar, por exemplo, anéis heterocíclicos como aqueles observados principalmente na família Piperaceae (Figura 2.2 c).

2.3 - Espilantol

O espilantol ou afinina [(N-2-Metilpropil)-2,6,8-decatrienamida ou N-isobutil-2*E*,6*Z*,8*E*-decatrienamida)] é uma alcanida alifática de fórmula molecular $C_{14}H_{23}NO$, descrita como um óleo viscoso ardente, de coloração amarelo pálido a amarelo claro, que produz um efeito anestésico e de formigamento sobre a língua, cuja fórmula estrutural está apresentada na Figura 2.3.

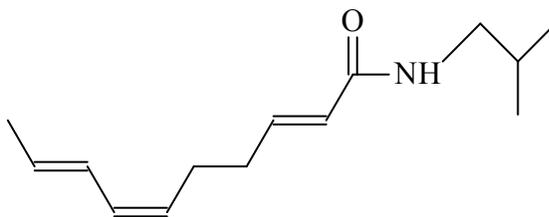


Figura 2.3 - Estrutura do espilantol ou afinina (Molinatorres et al., 1996)

O espilantol é normalmente encontrado com uma segunda alcanida (N-2-metilbutil-2*E*,6*Z*,8*E*-decatrienamida) em menor quantidade denominada também homoespilantol (Figura 2.4) (Ley et al., 2005).

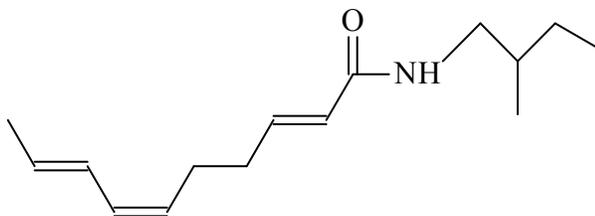


Figura 2.4 - Estrutura do homoespilantol (Ley et al., 2005).

As propriedades físicas do espilantol, alcamida de interesse deste trabalho, estão apresentadas na Tabela 2.1.

Tabela 2.1 - Propriedades físicas do espilantol ou afinina (Jacobson, 1957)

Fórmula Molecular	C₁₄H₂₃NO
Massa Molecular (g/gmol)	221
Ponto de Fusão (°C)	23
Ponto de Ebulição (°C)	165
Índice de Refração (25°C)	1,5135
Absorção λ_{\max} (nm)	228,5

2.3.1 - Ocorrência

As alcamidas alifáticas têm demonstrado eficácia como compostos medicinais e aromatizantes e constituem um grupo de metabólitos que vem despertando grande interesse atualmente (Torres e Chávez, 2001). Mas foram as pesquisas iniciadas pelo Departamento de Agricultura dos Estados Unidos na busca por inseticidas de origem natural, para suprir aqueles cuja disponibilidade foi comprometida durante a segunda guerra, que despertou e intensificou o estudo sobre alcamidas (Acree et al., 1945; Nigrinis et al., 1986).

A primeira espécie na qual foi identificada a presença de uma alcamida olefínica foi a espécie *Heliopsis longipes* (família Asteraceae). Inicialmente considerou-se que a espécie tratava-se de uma *Erigeon affinis*, razão pela qual a amida encontrada foi denominada afinina (Torres e Chávez, 2001). Esta planta, nativa da região da cidade do México, era popularmente utilizada no preparo de inseticidas caseiros. A raiz desta espécie é também tradicionalmente utilizada como analgésico, anestésico e antibiótico para infecções respiratórias, além do uso como condimento.

As pesquisas em busca de inseticidas de origem natural prosseguiram com o estudo do gênero *Spilanthes* (família Asteraceae). As espécies *Spilanthes acmella*, *Spilanthes oleraceae* e *Spilanthes americana*, sobretudo as flores, foram bastante investigadas identificando a substância de maior atividade como espilantol. Os trabalhos iniciais

realizados por vários pesquisadores mostraram muita discrepância na estrutura, configuração e propriedades físicas propostas para a substância ativa (Nigrinis et al., 1986).

Com o objetivo de elucidar a estrutura inicialmente proposta para o espilantol (Asano e Kanematsu (1932) in: Jacobson, 1957) foram obtidos extratos das inflorescências de *Spilanthus oleraceae* Jacq e de outras espécies com éter de petróleo e nitrometano, o mesmo processo utilizado para a espécie *Heliopsis longipes*. Os estudos comprovaram que a substância principal identificada na espécie *Heliopsis longipes* como afinina e a substância identificada como espilantol nas espécies estudadas de *Spilanthus* eram idênticas (Jacobson, 1957)

Espilantol tem sido identificado e isolado em outras espécies tais como *Acmella* (*Spilanthus*) *oppositifolia* (Molinatorres et al, 1996), *Spilanthus alba*, *Spilanthus ocyimifolia*, *Spilanthus acmella* (Ramsewak et al, 1999), *Acmella* (*Spilanthus*) *radicans* (Ramsewak et al, 1999; Torres e Chávez, 2001).

Nigrinis e colaboradores (1986) apresentaram os resultados do estudo fitoquímico de flores de *Spilanthus americana* (Mutis). Foi identificada além do espilantol uma isobutilamida acetilênica (N-isobutil-deca-5-ino-8-eno-trans-amida). Segundo os autores, este é o primeiro relato de amida monoacetilênica nas flores desta espécie. Amidas poliacetilênicas já foram encontradas nas raízes de plantas deste gênero.

Um estudo comparativo entre *Heliopsis longipes* e *Acmella* (*Spilanthus*) *oppositifolia* é apresentado por Molinatorres e colaboradores (1996). As espécies apresentam amidas puramente olefinicas, sendo a afinina ou espilantol o componente principal e a amida N-2-metil-butil-deca-2*E*,6*Z*,8*E*-trienamida em menor quantidade. Na espécie *Acmella* (*Spilanthus*) *oppositifolia* a amida N-isobutil-dodeca-2*E*,4*E*,8*Z*,10*E*-tetramida é detectada juntamente com as duas amidas anteriores, e os mesmos componentes são encontrados nas raízes e partes aéreas. Já as alcanidas da *Heliopsis longipes* estão presentes apenas nas raízes.

Posteriormente, Torres e Chávez (2001) apresentaram um estudo sobre a espécie *Acmella radicans* que, assim como a *Heliopsis longipes*, produz afinina ou espilantol. A quantidade de alcanidas é menor do que a encontrada na *Heliopsis longipes*, mas é da mesma ordem que a encontrada em outras plantas produtoras de alcanidas, tais como a

Echinacea purpúrea (alcamidas de cadeia longa com ligações acetilênicas e alcamidas olefínicas) e *Achillea millefolium* (alcamidas olefínicas e acetilênicas) e apresenta a vantagem de ter um crescimento rápido e de fácil propagação. Segundo os autores, o crescimento rápido da *Acmella radicans* pode ser de utilidade para os estudos de síntese de alcamidas e pode ser uma alternativa interessante para aplicações de alcamidas em grande escala. As alcamidas desta espécie são encontradas nas partes aéreas, principalmente no caule e nas flores. A propósito, o extrato de *Echinacea purpúrea*, utilizado para melhorar o sistema imunológico, está entre os quatro extratos vegetais mais vendidos nos Estados Unidos (Catchpole et al., 2002).

Há relatos de estudos do gênero *Spilanthes* (família Asteraceae) com espécies coletadas em diversas regiões tais como México (Molinatorres et al., 1996), Colômbia (Nigrinis et al., 1986; Stashenko et al., 1996), Brasil (Nagashima e Nakatani, 1992), Estados Unidos (Jacobson, 1957), região oriental da África (Fabry et al., 1995), dentre outras. Segundo Torres e Chávez (2001) esta distribuição ampla do gênero *Spilanthes* em regiões tropicais e subtropicais com grande variabilidade pode explicar o fato de algumas espécies do gênero *Acmella* terem sido consideradas inicialmente do gênero *Spilanthes* e o que de certa forma dificulta e confunde a organização das informações já geradas sobre as espécies. Atualmente as denominações *Spilanthes oleraceae* ou *Spilanthes acmella* var *oleraceae* ou *Acmella oleraceae* referem-se à mesma espécie e são consideradas, portanto, sinonímias botânicas.

Em relação à quantidade de espilantol normalmente encontrada nas plantas, as informações presentes na literatura são escassas. Diferenças entre as espécies estudadas, entre os métodos de extração utilizados, bem como a origem da espécie, local de plantio, estágio de crescimento e floração, época da colheita, dentre outros, dificultam estabelecer uma faixa de concentração de espilantol usualmente presente na planta.

Jacobson (1957) cita um resultado de 1,25% de espilantol isolado do extrato pentânico de flores de *Spilanthes olearaceae* Jacq.

Já o extrato obtido de partes aéreas e raízes de *Acmella (Spilanthes) oppositifolia* por maceração em acetato de etila foi purificado por Molinatorres e colaboradores (1996) e

resultou em 0,017% (partes aéreas) e 0,0351% (raízes) de espilantol em relação ao material vegetal seco utilizado.

Stashenko e colaboradores (1996) relataram a obtenção de um extrato concentrado em espilantol através de extração com dióxido de carbono supercrítico. Dentre os constituintes identificados, foram obtidos 17% e 21% de espilantol (porcentagens calculadas a partir das áreas dos picos obtidos por cromatografia gasosa), respectivamente, de flores e folhas da espécie *Spilanthes americana* (Mutis). Já o mesmo material, quando submetido a um processo simultâneo de extração com diclorometano e destilação, resultou em extratos contendo apenas traços de compostos nitrogenados, de acordo com os autores. No entanto, a quantidade de espilantol inicialmente presente na planta não foi informada.

A composição química do óleo essencial de espécies do gênero *Spilanthes* foi relatada na literatura. O óleo essencial das flores da espécie *Spilanthes acmella* Murr (ou *Spilanthes mauritiana* DC) de origem indiana foi obtido através de destilação a vapor. Dentre os vinte compostos caracterizados, limoneno (23,6%), β -cariofileno (20,9%), (Z)- β -ocimeno (14,0%), germacreno D (10,8%) e mirceno (9,5%) foram encontrados como os constituintes majoritários do óleo (Baruah e Leclercq, 1993). Os autores comparam a composição obtida com aquela relatada para uma espécie de origem brasileira na qual β -cariofileno (30,2%), γ -cadineno (13,3%) e timol (18,3%) são citados como os componentes presentes em maior quantidade (Nagashima e Nakatani, 1992). A composição do óleo essencial das partes aéreas, raízes e flores da espécie *Acmella oleracea* Clarcke foi analisada por Barreto e colaboradores (2003). Os principais constituintes identificados foram cariofileno (16,1%) e timol (19,5%) nas partes aéreas; anetol (18,2%) nas raízes e N-propil-acetamida (45,5%) nas flores.

No Brasil, devido ao interesse comercial recente pelo extrato de *Spilanthes (Acmella) oleracea*, estudos agrônômicos, fitoquímicos e farmacológicos desta espécie avançaram muito, mas estas informações não estão disponíveis na literatura.

Rotas sintéticas para obtenção de espilantol foram descritas na literatura (Ikeda et al., 1984; Ikeda et al., 1987).

2.3.2 - Atividades biológicas

Vários estudos vêm sendo conduzidos para avaliar cientificamente o uso tradicional das plantas ricas em alcanoides em diversas aplicações.

Os efeitos anti-herpes e antiaftas do extrato de inflorescências da espécie *Spilanthes americana* foram avaliados por Calle e Caballero (1977). A motivação para o estudo, segundo os autores, foi a grande utilização da planta como analgésico para dores de dentes e no tratamento de aftas e herpes por indígenas colombianos. De acordo com o relatado, o estudo clínico indicou eficácia no tratamento das afecções avaliadas, resultando na diminuição do número de lesões e em uma cicatrização mais rápida e os efeitos farmacológicos foram atribuídos ao espilantol.

Nigrinis e colaboradores (1986) citam as mais variadas aplicações do gênero *Spilanthes* pela população colombiana, tais como no tratamento de manchas de pele, no tratamento de micoses, aftas e herpes e como enxaguatórios bucais. Estudos farmacológicos realizados por esses autores indicaram uma eficácia como anestésico de 75% em testes comparativos em relação a uma droga padrão (lidocaína). Como anestésico de infiltração (injeção sob a pele) a eficácia foi de 97% também em relação ao padrão lidocaína. O espilantol e o extrato de *Spilanthes americana* também se mostraram eficazes nos testes de cicatrização da pele, diminuindo o tempo de reepitelização bem como restando a ação inflamatória na área lesada.

A atividade inseticida de extratos de *Spilanthes acmella* foi avaliada sobre a espécie *Periplaneta americana* (barata americana). O extrato das flores obtido com éter de petróleo foi o mais ativo em comparação com o extrato obtido com metanol e o extrato obtido com cloroformio das folhas e flores. O espilantol isolado dos extratos foi 1,3; 2,6 e 3,8 vezes mais eficaz que os inseticidas clássicos como cabaryl, bioresmethrin e lindano, respectivamente, em testes de aplicação tópica (Kadir et al., 1989).

A atividade fungistática e fungicida da espécie *Spilanthes mauritiana* sobre *Aspergillus spp* é relatada por Fabry (1995). No entanto, esta mesma espécie não apresentou atividade sobre *Candida spp*.

Ramsewak e colaboradores (1999) avaliaram a atividade do extrato de *Spilanthes acmella* L. var *olearaceae* frente a larvas de *Aedes aegyptii* e neonatos de *Helicoverpa zea* (lagarta parasita do milho). O extrato hexânico mostrou a maior atividade. O fracionamento deste extrato resultou em três amidas identificadas como N-isobutil-2E,6Z,8E-decatrienamida (espilantol ou afinina), undeca-2E,7Z,9E-acido trienoico isobutilamida e undeca-2E-em-8,10-acido dienoico isobutilamida.

O efeito diurético do extrato aquoso de flores de *Spilanthes acmella* Murr foi avaliado por Ratnasooriya e colaboradores (2004). Os autores relatam a forte ação diurética mostrada em ensaios com ratos.

Recentemente, o espilantol vem sendo utilizado na área cosmética como um ativo anti-sinais de envelhecimento. Segundo Bráz e colaboradores (2007), com a contração muscular, as estruturas da derme como o gel coloidal, células e fibras (colágeno e elastina, por exemplo) sofrem microtensões que alteram sua estrutura e funcionalidade. Com o tempo e a repetição dos movimentos, formam-se vincos nestes pontos de tensão da pele. O espilantol atua descontraindo e diminuindo estas microtensões e, conseqüentemente, reduz a formação e profundidade das rugas de expressão.

Várias destas aplicações já despertaram interesse comercial o que pode ser observado na revisão sobre o número de patentes utilizando espilantol ou extrato de *Spilanthes* apresentada a seguir.

2.3.3 - Aplicações: Patentes

Aplicações de espilantol já são conhecidas no estado da técnica. Várias patentes relacionadas à utilização de espilantol em dentifrícios e outras formulações para higiene oral foram depositadas na década de 80 e 90, sobretudo no Japão pela empresa Lion Corp. (Tsuchiya et al., 1976; JP 57036891, 1982; JP60075424, 1985; JP 60041606, 1985; Yoshida et al., 1986; Sugano et al., 1987; Fukuchi et al., 1987; Niazi, 1987; Tosha e Tetsuo, 1995). A função de anestésico suave, de potencializar a sensação de refrescância, de mascarar sabor adstringente de dentifrícios e como aromatizante em geral são alguns dos apelos

reivindicados nestes documentos e outros mais recentes (Tokumoto et al.; 2001; Johnson et al., 2003).

Já a empresa Natural Products (Japão) reivindica a ação inseticida de uma mistura de óleos extraídos de plantas, inclusive *Spilanthes acmella* através do documento JP 20023633012 (Oya e Tsukada, 2002).

Em produtos cosméticos, várias patentes também têm sido depositadas. A casa de perfumaria Takasago descreve preparações para banho contendo espilantol como um agente terapêutico no tratamento do reumatismo e condicionamento da pele (Moroe e Hosoda, 1985). Já no documento EP 1121927 (Nakatsu et al., 2001) a mesma empresa explora a sensação de formigamento provocada pela oleoresina de jambu. A invenção se aplica a produtos alimentícios, farmacêuticos e cosméticos. Uma concentração de 2,5% de oleoresina de jambu é citada como exemplo de formulação de um enxaguatório bucal.

Flammer e colaboradores (2003) da casa de perfumaria IFF (International Flavors & Fragrances Inc., USA) patentearam formulações de produtos de higiene pessoal tais como xampus, sabonetes e cremes contendo espilantol na formulação. O princípio ativo é usado com o apelo de potencializar a sensação de refrescância dos produtos.

Uma composição cosmética contendo espilantol, dentre outros extratos de plantas, foi também patenteada pela empresa FD Management (Mohammadi e Vargas, 2001). Segundo o documento, a formulação é efetiva contra agressões climáticas extremas sobre a pele.

A empresa Natura Cosméticos S.A. reivindicou, através do documento PI0500886-7 (Delarcina-Junior et al., 2005), um processo de preparação de um extrato de jambu (*Spilanthes (Acmella) oleracea*) livre de clorofila e o uso deste extrato em diversas composições cosméticas.

Uma composição cosmética contendo uma mistura de peptídeos e extrato de *Acmella oleracea* é o objeto do documento U.S. 20070048245 (Belfer, 2007). O extrato de *Acmella oleracea* é o componente principal da formulação. Segundo as reivindicações, uma concentração volumétrica de 0,6% de extrato bloqueia as contrações musculares rapidamente e uma concentração de 1,2% sustenta esta ação por um período de 24 horas

mostrando um efeito contínuo na suavização das rugas de expressão depois de 28 dias. O extrato utilizado é um extrato hidroetanólico.

Portanto, as citações mencionadas acima confirmam o potencial efetivo da utilização do extrato de jambu e reforça a relevância deste estudo.

2.4 - Obtenção de princípios ativos de matrizes vegetais

A extração é uma operação unitária que tem por objetivo a separação de substâncias de matrizes, sólidas ou líquidas, através de processos físicos ou químicos. Tradicionalmente, extratos vegetais são obtidos utilizando um ou mais solventes para extrair os princípios ativos contidos na matriz vegetal a ser tratada. Técnicas de extração por solventes, tais como a percolação, maceração, destilação a vapor e com Soxhlet são comumente empregadas para este fim (Scalia et al, 1999; Costa et al., 1999).

Contudo, qualquer que seja o processo de extração, fatores como rendimento (extrair a maior quantidade de extrato e/ou composto alvo), produtividade (utilizar o menor tempo de operação possível) e seletividade (extrair preferencialmente a substância de interesse) devem ser considerados. Todos estes fatores têm fortes implicações econômicas e podem determinar a viabilidade industrial do processo. Os processos convencionais normalmente requerem horas ou até dias para serem conduzidos (Yamasaki et al., 2001; Niazi, 2002; Pei et al., 2002; Leko, 2003; Sweet, 2003) e poucos parâmetros podem ser ajustados para controlar a seletividade do processo (Lang e Wai, 2001). O uso de solventes orgânicos muitas vezes resulta na necessidade de etapas adicionais de remoção do solvente, purificação e concentração do extrato. Adicionalmente, restrições na legislação são constantemente impostas para eliminação de resíduos de solventes de extratos e produtos, especialmente àqueles voltados para o uso na indústria alimentícia, farmacêutica e de cosméticos (Reverchon, 1997; Castro e Jiménez- Carmona, 2000). Portanto, a eliminação do solvente constitui muitas vezes uma etapa crítica, pois pode onerar os custos de manufatura, introduzir riscos de degradação do produto, além de acarretar perdas no rendimento.

Uma vez que os compostos ativos presentes em plantas estão usualmente em baixas concentrações, um grande esforço tem sido feito para desenvolver processos de extração

mais seletivos e efetivos para recuperação destes materiais (Lang e Wai, 2001). Portanto, técnicas de extração alternativas que proporcionem melhor qualidade e seletividade são altamente desejáveis. Conseqüentemente, a utilização de fluido supercrítico como uma técnica alternativa a estes processos tem sido extensivamente avaliada para a separação de princípios ativos a partir de material vegetal. Mas para avaliar a viabilidade da extração supercrítica em relação aos métodos tradicionalmente utilizados, considerando aspectos técnicos e econômicos, é necessário o estudo do processo de extração caso a caso. Referências a um grande número de material vegetal estudado e aplicações industriais podem ser encontradas na literatura especializada (Brunner, 1994; Reverchon, 1997; Bertucco e Vetter, 2001; Del Valle et al., 2005, Reverchon e De Marco, 2006).

Para um melhor entendimento desta tecnologia, apresenta-se a seguir uma descrição dos fluidos supercríticos, suas propriedades e aplicações na extração de princípios ativos de produtos naturais.

2.4.1 - Fluidos Supercríticos

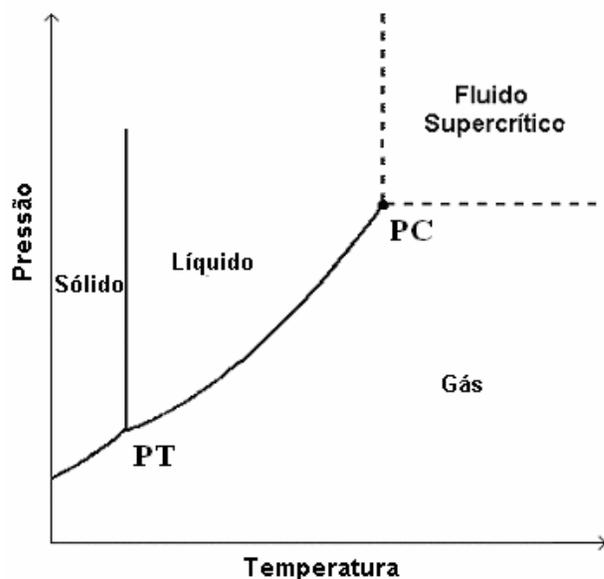


Figura 2.5 - Diagrama de fases esquemático para uma substância pura (PC: ponto crítico e PT: ponto triplo) (adaptado de Rizvi et al., 1986).

O estado supercrítico foi reportado pela primeira vez em 1822 por Cagniard de la Tour. Ele notou visualmente que a interface gás-líquido desaparecia quando a temperatura de certas substâncias era aumentada pelo aquecimento de cada uma delas em um recipiente

de vidro fechado. A este ponto, no qual o equilíbrio gás-líquido deixava de coexistir denominou-se ponto crítico (Figura 2.5). Portanto, uma substância encontra-se no estado supercrítico quando está a uma temperatura e a uma pressão acima de seus valores críticos ($T/T_c > 1$ e $P/P_c > 1$). No estado supercrítico as propriedades físico-químicas de um fluido assumem valores intermediários àqueles dos estados líquido e gasoso. Propriedades relacionadas à capacidade de solubilização, como a densidade de um fluido supercrítico aproximam-se daquelas típicas de um líquido, enquanto que propriedades relacionadas ao transporte de matéria, como a difusividade e a viscosidade, alcançam valores típicos de um gás. Assim, um fluido no estado supercrítico pode penetrar nos poros do material sólido mais efetivamente que os solventes líquidos e, conseqüentemente, resultar em uma maior transferência de massa e em extrações mais rápidas (Rizvi et al., 1986; McHugh e Krukoni, 1994; Lang e Wai, 2001).

As relações entre temperatura (T), pressão (P) e densidade (ρ) podem ser verificadas através da Figura 2.6. No ponto crítico, a derivada da densidade em relação à pressão, à temperatura constante, denominada compressibilidade isotérmica da substância, tende ao infinito e, portanto, na proximidade do ponto crítico, pequenas mudanças na pressão causam grandes variações na densidade. Pode-se observar ainda que esta variação na densidade torna-se menos acentuada à medida que a pressão se afasta da pressão crítica. Em temperaturas muito maiores que a temperatura crítica, altas pressões são requeridas para alcançar densidades de líquido. Desta forma, o poder de solubilização e a seletividade do solvente supercrítico podem ser ajustados através da manipulação das variáveis pressão e temperatura. Da mesma forma, uma fácil recuperação de solutos extraídos pode ser possível através da precipitação conseguida com a diminuição do poder de solubilização ou densidade do solvente supercrítico, permitindo ainda que este seja reciclado.

De maneira similar à densidade, os valores da viscosidade e difusividade são dependentes da temperatura e pressão e as mudanças nestas propriedades também são mais pronunciadas na região próxima ao ponto crítico. À pressão constante, a viscosidade do fluido supercrítico diminui com a temperatura até um mínimo, e em seguida aumenta com a temperatura. À temperatura abaixo do mínimo o fluido supercrítico comporta-se, em relação à viscosidade, como um líquido, isto é, a viscosidade decresce com o aumento da temperatura. À temperatura acima do mínimo, o fluido supercrítico comporta-se, em relação

à viscosidade, como um gás, isto é, a viscosidade aumenta com o aumento da temperatura (Brunner, 1994). A difusividade aumenta com a temperatura e diminui com a pressão (Taylor, 1996).

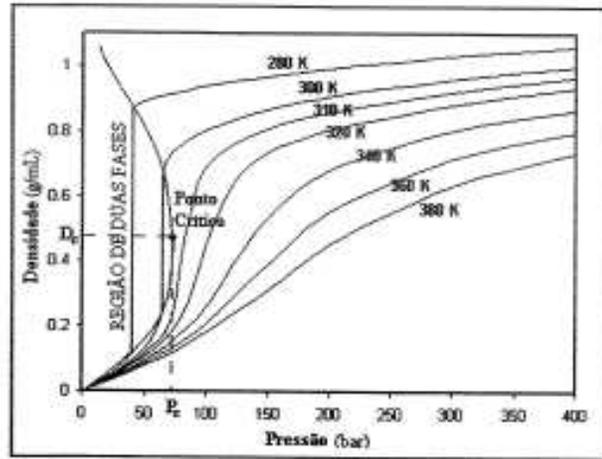


Figura 2.6 - Diagrama PρT para o dióxido de carbono (Kopcak, 2003).

Estas propriedades especiais dos fluidos supercríticos lhes conferem grandes vantagens como solventes em um processo de extração. Mas, além das propriedades físico-químicas, um fluido supercrítico deve preferencialmente possuir condições críticas moderadas, ser inerte, não tóxico, não inflamável, dentre outras. A Tabela 2.2 lista a temperatura e pressão críticas de vários fluidos. A diferença entre as propriedades sugere o uso de fluidos específicos de acordo com as características de cada processo (Taylor, 1996).

Dentre os vários fluidos possíveis, o dióxido de carbono (CO₂) é o fluido mais utilizado como agente de extração, pois apresenta uma baixa temperatura crítica, pressão crítica moderada, baixa toxicidade, baixo custo, fácil disponibilidade, não é inflamável e é praticamente inerte quimicamente (Rizvi et al., 1986). Adicionalmente, o dióxido de carbono supercrítico é considerado um solvente GRAS (“Generally Recognised as Safe”) e também permitido no processamento de materiais que possuem o apelo de “orgânico” (Jack, 2006).

Tabela 2.2 - Temperatura (Tc) e pressão (Pc) críticas de alguns fluidos (Clifford, 1999).

Fluido	Tc (°C)	Pc (bar)
Etileno	09	50
Xenônio	17	58
Dióxido de Carbono	31	74
Etano	32	49
Óxido Nitroso	37	72
Propano	97	43
Amônia	132	114
Água	374	221

De maneira geral, o dióxido de carbono comporta-se como um solvente lipofílico. A não polaridade deste solvente é considerada como a maior desvantagem da técnica quando o interesse é por frações polares. No entanto, este inconveniente tem sido contornado pelo aumento da polaridade do meio através da adição de pequenas quantidades de solventes polares denominados modificadores ou co-solventes (Taylor, 1996; Lang e Wai, 2001).

A adição de co-solvente proporciona um aumento de solubilidade em função de um aumento das forças de interação do fluido com o soluto (interações químicas ou físicas) e através do aumento da densidade; conseqüentemente ocorre o aumento do poder de solvatação. O fator predominante depende da natureza química dos componentes bem como das condições experimentais tais como temperatura, pressão e concentração (Ekart et al., 1993). Diversos trabalhos na literatura mostram o aumento da solubilidade em função da presença e quantidade de co-solvente. Uma revisão mais detalhada sobre as interações presentes nos sistemas com co-solventes pode ser encontrada em Azevedo (2005). O álcool etílico tem sido o co-solvente mais frequentemente proposto para melhorar o poder de solubilização do CO₂ supercrítico uma vez que sua presença (em traços), em geral, não compromete o uso do extrato como fármaco ou produto nutracêutico. O emprego de co-solvente é um recurso útil e às vezes imprescindível na extração de determinados

compostos, mas seu uso pode ser menos justificado quando o objetivo é apenas acelerar a extração ou quando existe a possibilidade de interferir nas características finais do extrato, como pode ocorrer, por exemplo, na extração de óleos essenciais (Reverchon, 1997; Reverchon e De Marco, 2006). Adicionalmente, uma vez que as substâncias utilizadas como co-solvente são líquidas, elas podem ser recuperadas juntamente com o extrato. Se o produto final não admite a presença de co-solventes, etapas subseqüentes de separação devem ser incluídas no processo para fornecer extratos livres de solvente (Bertucco e Vetter, 2001). Portanto, quando possível, é conveniente evitar o uso de co-solventes, já que uma das vantagens da tecnologia de extração com fluido supercrítico é exatamente a obtenção de extratos livres de solvente. No entanto, quando necessário, a quantidade utilizada é muito menor comparada à utilizada em um processo convencional de extração.

2.4.2 - Processamento de matrizes sólidas com fluido supercrítico

O processo de extração com fluido supercrítico pode ser dividido em duas etapas: a extração propriamente dita, na qual a matéria-prima e o solvente entram em contato resultando no extrato, e a separação que é a etapa de remoção do solvente do extrato.

Quanto ao modo de operação, os sistemas de extração podem ser classificados em batelada, semi-contínuo ou contínuo. Para material sólido, os sistemas operam normalmente em modo batelada ou semi-contínuo (Reverchon, 1997). Um outro arranjo possível é a alimentação e descarga contínua do sólido através de duas roscas sem fim para obter um processo contínuo. Entretanto, o projeto e a operação deste sistema não são simples (Reverchon e De Marco, 2006).

No processamento em batelada, o sólido é colocado no vaso de extração, o qual é alimentado com o solvente supercrítico até as condições de extração serem atingidas. O contato entre o solvente e a matriz é mantido por um determinado período de tempo (acima de algumas horas), uma vez que o objetivo é atingir a composição de equilíbrio. Após este período de contato, a válvula de saída é aberta permitindo a precipitação do soluto em um coletor através da descompressão do sistema. Uma extração pelo método em batelada pode não ser exaustiva e o extrato pode não representar a composição real do material solúvel contido na matriz (Reverchon, 1997).

No processo semi-batelada, que é o mais utilizado, o sólido é carregado no vaso de extração para obter um leito fixo de partículas (sementes, frutos, folhas, flores, caules). O sistema é aquecido até a temperatura de extração e alimentado com solvente supercrítico por meio de um compressor ou bomba até alcançar a pressão de operação. Atingidas as condições de processo, a válvula de redução de pressão é aberta e o solvente flui continuamente a uma vazão constante sobre o leito de material com a conseqüente extração do material. Um ou mais estágios de separação são utilizados para precipitar o soluto a partir do solvente supercrítico. Para extrações em pequena escala, a coleta pode ser realizada à pressão atmosférica e o solvente descartado ao ambiente.

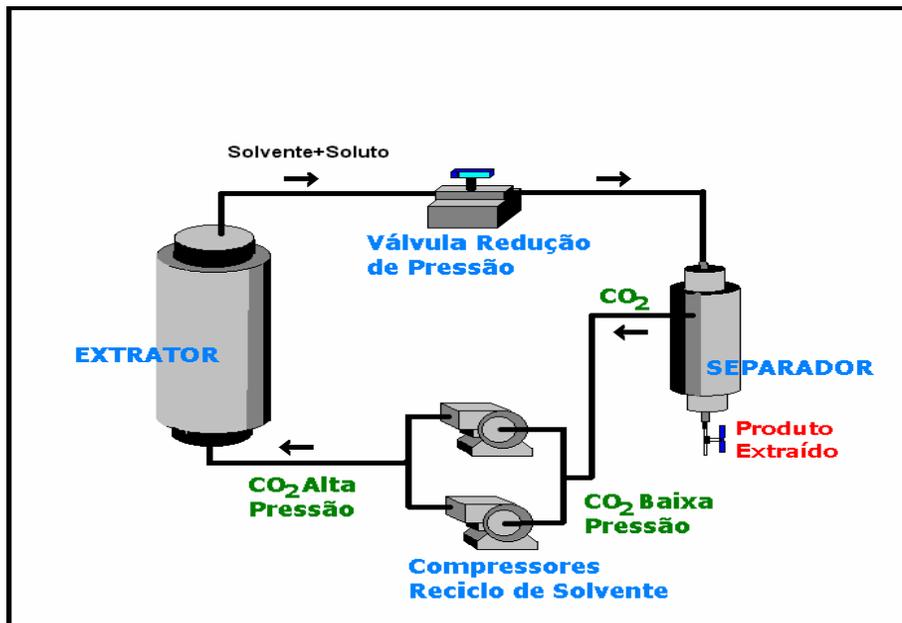


Figura 2.7 - Diagrama típico de um processo de extração (Azevedo, 2005)

Os sistemas de extração usualmente utilizam extratores de 20 a 500 mL (bancada) para testes preliminares (“screening”), pois fornecem uma idéia geral e rápida da influência dos diversos parâmetros e utilizam pequenas quantidades de material; extratores de 2 a 10 L para otimização do processo e extratores maiores, de 20 a 100 L, para estudos de ampliação de escala e desenvolvimento de novos produtos (Bertucco e Vetter, 2001). Vale ressaltar que esta classificação não é rígida e que dependendo do tipo de produto e demanda de mercado unidades na faixa de 20 a 100 L, por exemplo, são utilizadas em produção industrial. Em plantas industriais, o processo pode ser realizado em múltiplos estágios e a despressurização pode ser fracionada para permitir a obtenção de extratos com diferentes

composições, uma vez que a solubilidade dos compostos está intimamente ligada à densidade do solvente, função da pressão e temperatura do sistema. Em unidades de grande porte, o solvente é reciclado e o último estágio de separação deve ser mantido à pressão e temperatura adequadas para facilitar a etapa seguinte, que é a recompressão e retorno ao sistema, no caso de utilização de bombas, de maneira a reduzir os custos desta etapa.

A tecnologia do fluido supercrítico teve a sua primeira aplicação em larga escala na indústria alimentícia para descafeinação de café no início da década de 70. No fim da década de 80 e início da década de 90 as atividades de pesquisa nesta área se intensificaram e atualmente existem diversas unidades industriais espalhadas pelo mundo (Perrut, 2007). Porém, devido às particularidades dos sistemas de interesse, em especial aqueles envolvendo produtos naturais, não é possível convergir todo este conhecimento gerado para um processo único ou generalizado. Composição da matriz vegetal, diferenças na estrutura, localização e distribuição do princípio ativo na matriz vegetal, interação entre os diversos componentes, polaridade, dentre outros, são características inerentes a cada sistema e podem afetar o rendimento, a produtividade e a seletividade do processo, tornando a seleção das condições de processo mais complexa que a mera determinação de dados de solubilidade. Tamanho de partícula da matriz sólida, pressão, temperatura, vazão ou massa de solvente, podem afetar significativamente a cinética de extração. Desta forma, as atividades de pesquisa e desenvolvimento de processos para os mais diversos sistemas continuam de forma intensa e estes processos estão longe de estar exaustivamente estudados. Além disso, observa-se um crescente interesse na extração de substâncias de alto valor agregado (Reverchon e De Marco, 2006).

2.4.3 - Influência das variáveis de processo

O princípio básico para utilizar um fluido supercrítico como um meio de extração é a solubilidade. Primeiramente os compostos a serem extraídos devem ser solúveis no fluido supercrítico à pressão e temperatura moderadas. Entretanto, o conhecimento da solubilidade de um soluto no fluido supercrítico não garante a viabilidade do processo de extração para uma matriz particular (Taylor, 1996). Além da solubilidade, a resistência à transferência de massa é essencial para o processo de extração e deve ser avaliada para que, em uma determinada condição, uma recuperação baixa não seja erroneamente interpretada como

uma baixa solubilidade (Björklund et al., 1998). Isto é, outros mecanismos além da solubilidade podem ser determinantes na extração dos compostos de interesse. Portanto, a complexa relação entre termodinâmica (solubilidade) e cinética (transferência de massa) deve ser bem compreendida para estabelecer apropriadamente um processo de extração supercrítica (Reverchon e De Marco, 2006).

Na Figura 2.8 estão representadas curvas típicas de extração dependendo da natureza do soluto e das condições de operação. Na ordenada encontra-se o rendimento (a razão entre a quantidade de material de interesse extraído e a quantidade total do material contido na amostra) e na abscissa encontra-se a quantidade de solvente utilizada. Observam-se três regiões distintas nas curvas de extração. A primeira região (1) é controlada pela solubilidade do soluto no fluido e quanto maior a solubilidade do soluto no fluido, maior será o ângulo de inclinação desta parte da curva. A curva **A** representa o comportamento do soluto com maior solubilidade no fluido supercrítico, a curva **C** representa o soluto com a menor solubilidade. A segunda região (2) é denominada de transição, onde ocorre uma desaceleração das taxas de extração, pois a quantidade de soluto na superfície da partícula diminui e inicia-se a difusão do soluto solubilizado pelo solvente, do interior da partícula para a superfície da mesma. Na terceira região (3) não existe mais soluto na superfície facilmente acessível ao solvente; esta é a região controlada pela taxa de difusão do soluto (contido no interior das partículas) para o seio do solvente. Por isso, devido à grande resistência à transferência de massa, as taxas de extração são menores nesta região. 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 (Kopcak, 2003). O objetivo é atingir o rendimento de extração desejado dentro da primeira região, ou seja, da região que apresenta a maior taxa de extração, do contrário o processo pode não ser econômico (Bertucco e Vetter, 2001)

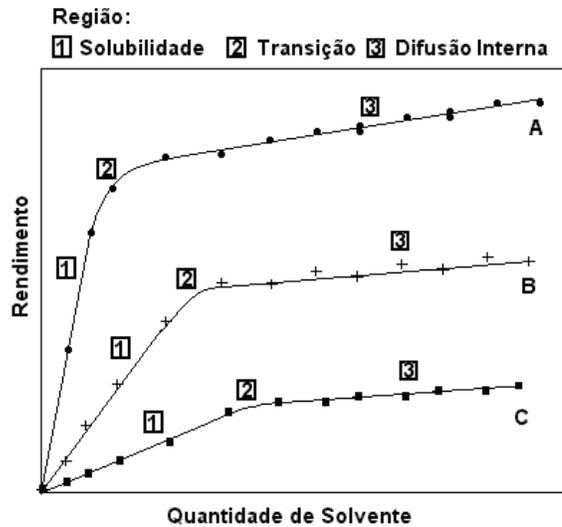


Figura 2.8 - Representação gráfica de curvas de extração típicas utilizando fluido supercrítico.

2.4.3.1 - Efeito da interação com a matriz sólida

A concentração dos componentes do extrato pode ser muito menor que a solubilidade real do soluto puro, devido às interações presentes entre os componentes e a matriz sólida. Um exemplo ilustrativo mostrado por Brunner (1994) é a extração de cafeína de grãos de café. A solubilidade da cafeína pura em dióxido de carbono é aproximadamente 0,4% em peso (4.000 ppm) a 77 °C e 300 bar, mas a concentração da cafeína, extraída de grãos de café, em dióxido de carbono é aproximadamente 200 ppm nas mesmas condições.

O efeito da matriz vegetal também foi estudado por Björklund e colaboradores (1998), que determinaram as taxas de extração de um mesmo soluto em diferentes matrizes sólidas. No experimento foi estudada a extração de clevidipina impregnada em filtros de papel e misturada com esferas de vidro, esferas de aço inoxidável e areia, utilizando CO₂ supercrítico a 283 bar e 40 °C e uma vazão de 4,0 mL/min. A mesma taxa de extração foi obtida para a clevidipina impregnada em esferas de vidro e aço inoxidável com recuperação de 80% da massa impregnada. Entretanto, a recuperação da clevidipina impregnada em papel de filtro foi de apenas 5%, mostrando a influência do efeito da matriz na cinética de extração.

Saldaña (2002) estudou a influência da matriz vegetal para vários sistemas alcalóides + CO₂ supercrítico. As diferenças encontradas nos valores de solubilidade entre o sistema modelo (componente puro) e o sistema real (matriz vegetal) foram atribuídas a interações dos componentes encontrados na matriz vegetal. A autora ressalta a dificuldade do uso de dados binários para predizer o comportamento de sistemas complexos como a extração de produtos naturais.

Uquiche e colaboradores (2005) compararam o valor estimado para a solubilidade da capsaicina presente na pimenta malagueta com a solubilidade da capsaicina pura. Os autores definem solubilidade aparente como a solubilidade afetada pela matriz sólida e obtida através da inclinação inicial da curva de extração e solubilidade real como a solubilidade para o sistema binário capsaicina + CO₂. O valor estimado para a solubilidade aparente da capsaicina presente na pimenta ($7,3 < C < 14,3$ mg/kg) foi muito menor que a solubilidade real da capsaicina ($C=1,34$ g/kg a 40 °C e 320 bar). A diferença observada, segundo os autores, pode estar relacionada a limitações na disponibilidade do soluto, a efeitos de interação do soluto com a matriz e a presença de outros componentes incluindo lipídios que podem atuar como co-solventes.

2.4.3.2 - Dependência do tamanho da partícula

O tamanho da partícula do material vegetal e sua distribuição podem influenciar significativamente a extração, se os mecanismos de transferência de massa interna constituírem a etapa controladora do processo de extração. Neste caso, a extração dependerá fortemente do comprimento e da geometria do caminho de difusão. Partículas grandes, com pequena área interfacial levam a um processo de extração onde predomina o mecanismo de difusão resultando em longos períodos de extração. Se a transferência de massa da superfície da partícula para o seio do fluido ou o equilíbrio de fases são as etapas controladoras do processo, o tamanho da partícula não afeta a taxa de extração significativamente (Reverchon, 1997; Björklund et al., 1998).

Reverchon (1997) relata dados sobre o tempo de extração em função do tamanho das partículas de folhas de manjeriço. Para amostras de 0,55 mm, o tempo necessário para se atingir o rendimento máximo do processo foi de 5 horas, enquanto que um tempo de 2

horas foi suficiente quando se utilizou amostra pulverizada de 0,17 mm. Este é um comportamento típico de processo controlado pela difusão.

Sovová e colaboradores (1994) investigaram a extração de óleo de sementes de uva com dióxido de carbono supercrítico, variando o diâmetro das partículas das sementes. Os resultados reproduzidos na Figura 2.9 mostram que a região de solubilidade aumenta à medida que o diâmetro diminui. Com a redução do tamanho da partícula a área interfacial aumenta e uma maior quantidade de óleo fica mais acessível ao solvente.

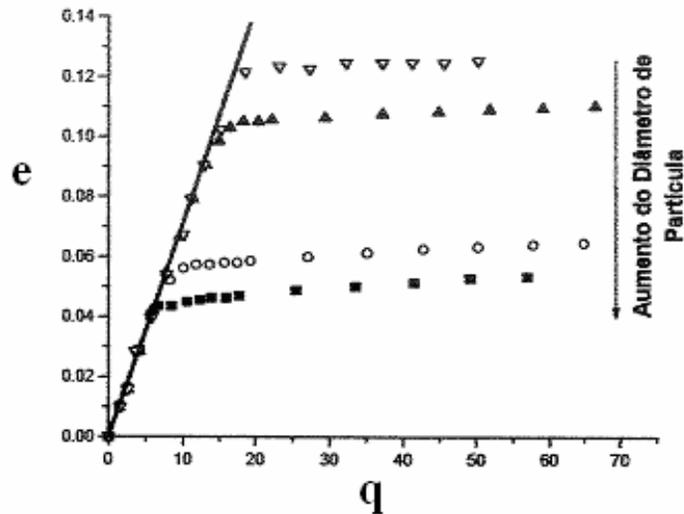


Figura 2.9 - Influência do diâmetro de partícula na extração de óleo de sementes de uva com dióxido de carbono supercrítico, e: quantidade de óleo extraído/quantidade óleo inicial; q: massa de solvente/massa de óleo inicial. (Adaptado de Sovová et al., 1994).

Resultados de rendimentos em função do diâmetro para a extração de óleo de sementes de uva são também apresentados por Fiori (2007). Neste estudo uma pequena variação no diâmetro da partícula (de 0,510 para 0,49 mm) resultou em uma variação significativa na curva de extração, sobretudo na região controlada pela difusão. O autor atribuiu o resultado às aproximações inerentes ao método de determinação das dimensões das partículas como um valor médio (diâmetro médio de Sauter), sugerindo que, embora os diâmetros sejam numericamente muito próximos as distribuições de diâmetro na amostra são diferentes.

A redução do tamanho da partícula através de pré-tratamento mecânico é

comumente utilizada para aumentar a área superficial e também disponibilizar o soluto através do rompimento das estruturas celulares do material vegetal, facilitando a transferência de massa do material sólido para o fluido supercrítico (Sovová et al, 1994; Eggers et al, 2000). Portanto, como regra geral, o decréscimo no tamanho de partícula aumenta a taxa de extração. Entretanto, partículas muito pequenas podem levar a extração ineficiente (Eggers et al., 2000; Reverchon e De Marco, 2006), sendo a granulometria do material sólido um requisito importante na operação e manutenção de uma unidade industrial (Perrut, 2000). Segundo Bertucco e Vetter (2001), o material sólido alimentado ao extrator deve ter tamanho médio de partículas de 0,4 a 0,8 mm. Partículas muito menores em um processo em escala industrial podem acarretar problemas operacionais, tais como diminuir o escoamento do solvente devido à compactação do leito, obstruir filtros e formar canais preferenciais.

Decréscimo no rendimento de extração com o decréscimo no diâmetro de partícula tem sido relatado na literatura. Kopcak (2003) estudou a influência do tamanho da partícula na quantidade de cafeína extraída de grãos de guaraná. As extrações foram conduzidas a 50 °C e 234 bar, utilizando dióxido de carbono supercrítico e etanol (5% em peso) como co-solvente. Diâmetros de partículas na faixa de 0,091mm a 0,775 mm foram avaliados. O autor observou um diâmetro ótimo de extração igual a 0,180 mm; diâmetros maiores que este valor resultaram em menores rendimentos de cafeína; diâmetros menores que 0,180 mm, apesar da maior área superficial e maior disponibilidade do soluto, resultaram em uma maior desaceleração na taxa de extração. O autor atribui a menor taxa de extração à aglutinação das partículas mais finas formando agregados com diâmetros aparentemente maiores que 0,180 mm. Comportamento semelhante foi observado por Sábio e colaboradores (2003) na extração de licopeno e β -caroteno de tomate. Neste estudo, o efeito é atribuído à não homogeneidade ao longo do leito devido à compactação e formação de canais preferenciais, quando partículas muito pequenas (0,080 mm) foram utilizadas.

A utilização de partículas com diâmetro médio de 0,250 a 2,00 mm é usualmente relatada na literatura (Reverchon e De Marco, 2006). Já Bertucco e Vetter (2001) recomendam que materiais muito finos sejam peletizados.

Del Valle e colaboradores (2003) avaliaram a extração com CO₂ supercrítico de pimenta malagueta pré-peletizada. A influência do diâmetro dos “pellets”, dentre outras

condições, foi analisada. A taxa de extração aumentou com o decréscimo no diâmetro dos “pellets”. Na modelagem dos dados experimentais foi assumido que a fração de soluto disponível independe do diâmetro da amostra. Esta hipótese foi baseada no pré-tratamento sofrido pela matriz: moagem inicial, peletização a alta pressão, que rompe extensivamente as células, e moagem posterior dos “pellets” em diferentes tamanhos.

Em trabalho posterior, o mesmo grupo de pesquisadores analisou a influência da peletização no aumento do rendimento volumétrico (massa de extrato por unidade de tempo por unidade de volume do extrator) do processo de extração, bem como a influência das condições de pré-processamento, teor de umidade e tamanho das partículas, antes da peletização para o mesmo material (Uquiche et al., 2005). Os “pellets” foram produzidos com teor de umidade inicial de 15 e 30 % e com flocos intactos e moídos ($d_p \leq 0,425$ mm). Quatro tipos de “pellets” foram obtidos em três tamanhos diferentes (0,803; 1,44 e 2,03 mm). Os resultados mostram que a granulometria inicial do material de origem tem maior influência no tamanho dos poros, na conectividade entre eles e na difusividade efetiva dos solutos de interesse do que o teor de umidade. As maiores taxas de extração foram obtidas com a extração dos “pellets” provenientes do material em flocos intactos, devido à maior porosidade e conectividade obtida com este material, o que favoreceu a transferência de massa. Portanto, materiais muito finos não necessariamente resultaram em melhores rendimentos, mesmo peletizados. Embora a carga do vaso de extração tenha sido otimizada, já que os “pellets” apresentaram em média, uma densidade aparente de 2,5 a 3,0 vezes maior que o material original, os resultados apresentados pelos autores mostram um rendimento global de oleoresina abaixo do esperado, 50% daquele obtido com Soxhlet. Esse fato chama a atenção para a necessidade de uma otimização cuidadosa, uma vez que o aumento da carga do extrator pode não compensar o menor rendimento obtido.

Por outro lado, há casos em que é necessário manter a integridade da matriz, por exemplo, grãos de café e folhas de chá. Nestes casos o tamanho da partícula não é considerado como um parâmetro de processo (Brunner, 1994).

2.4.3.3 - Pré-tratamento térmico da matriz

Além do pré-tratamento mecânico, o pré-tratamento térmico também influencia o

rendimento da extração. Assim como nas técnicas tradicionais utilizando solventes orgânicos, na extração de produtos naturais com fluido supercrítico utiliza-se tanto material vegetal fresco como material desidratado. Segundo Lang e Wai (2001), material fresco é mais indicado quando os componentes desejáveis são muito voláteis ou instáveis. Mas o processamento de material previamente secado é o mais comumente utilizado. Ibáñez e colaboradores (1997) avaliaram a influência do processo de secagem em amostras de alecrim. Segundo os autores o processo de secagem por liofilização foi o que proporcionou o maior rendimento de óleo essencial, seguido pelos processos de secagem em estufa a 45 °C e evaporação a vácuo a 35 °C. Para a extração da fração de anti-oxidante, a secagem em temperatura ambiente e em local ventilado foi o método que proporcionou melhores resultados. O material seco pode também ser congelado antes do processo de moagem para evitar aquecimento e degradação (Catchpole et al., 2002).

Em relação à extração de óleos vegetais, Eggers e colaboradores (1996) reportaram que a influência da umidade na transferência de massa de óleos é negligenciável na faixa de 3 a 12% de água; teor de umidade acima deste valor reduz o rendimento do processo devido ao intumescimento das membranas da matriz vegetal e bloqueio dos sítios lipofílicos. Resultado semelhante é relatado por Saldaña (2002) no estudo da extração de manteiga de amêndoas de cacau utilizando CO₂ seco e saturado com água. Segundo o estudo, a água passa a competir com o óleo na formação de interações com o CO₂. Por outro lado, a presença de água pode viabilizar o processo de extração, como ocorre na extração da cafeína. A cafeína está fortemente ligada à matriz vegetal e a água atua como um modificador da matriz, permitindo a disponibilidade deste soluto. Saldaña e colaboradores (2002) relataram este efeito no estudo de extração de alcalóides; uma eficiência de 98 % na remoção de cafeína de sementes de guaraná é alcançada quando utilizado CO₂ saturado com água.

2.4.3.4 - Dependência da vazão

A vazão do solvente pode controlar a extração se as condições de equilíbrio ou se a transferência de massa da superfície da partícula para o fluido é o fator predominante durante o processo de extração. Um exemplo ilustrativo é apresentado na Figura 2.10.

Björklund e colaboradores (1998) estudaram as taxas de extração de óleos lubrificantes aplicados sobre material inerte em função da vazão. O sistema óleo lubrificante Drawsol 2345N, cuja curva de extração está mostrada na Figura 2.10, representa uma situação típica na qual a resistência externa à transferência de massa é importante. Um aumento da vazão de fluido supercrítico resultou em um maior rendimento de extração. O rendimento obtido foi proporcional ao aumento da vazão.

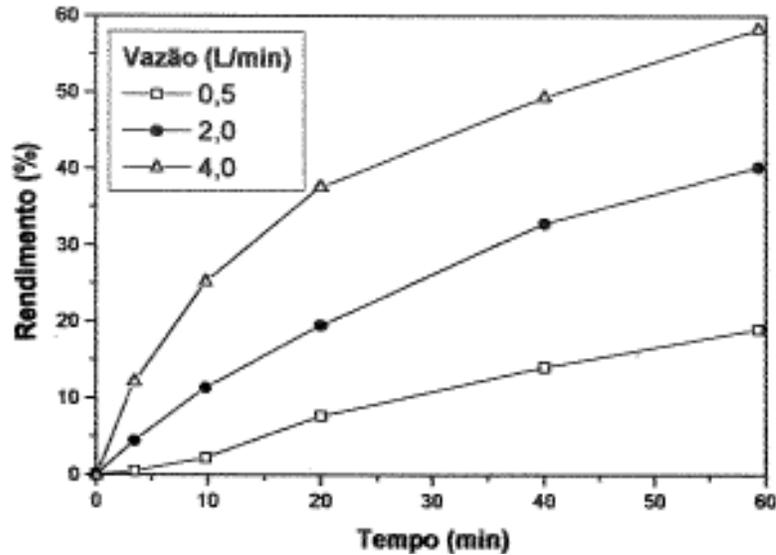


Figura 2.10 - Extração de óleo lubrificante (Drawsol 2345N) aplicado sobre tampões (Björklund et al., 1998).

Este mesmo sistema poderia ser representado em função da massa de CO₂. Neste caso as curvas de extração praticamente se sobrepõem indicando claramente que o rendimento em função da massa de CO₂ não é afetado significativamente pela vazão de solvente, pelo menos no início da extração. Isto significa que a concentração de saída do extrato independe da vazão reforçando que a condição de saturação foi atingida. Saldaña (2002) e Saldaña e colaboradores (2002) relataram o mesmo comportamento quando analisaram a influência da vazão na extração da cafeína das sementes de guaraná a 400 bar e 70 °C. As vazões de 5,7 e 9,4 g/min de CO₂ foram avaliadas e o rendimento obtido foi proporcional à massa de solvente utilizada.

Por outro lado, se o mecanismo de resistência à transferência de massa interna é a etapa controladora do processo, a vazão do solvente não influenciará significativamente a cinética de extração, como observado Björklund e colaboradores (1998) na extração de um

segundo óleo (Uniq DP101) a partir de depressões sobre esferas metálicas (Figura 2.11). As maiores quantidades de material extraído foram obtidas a menores vazões. A difusão do soluto a partir da matriz modelo limitou o processo de extração. Comportamento semelhante é relatado por Reverchon e colaboradores (1995) na extração de óleo de sálvia.

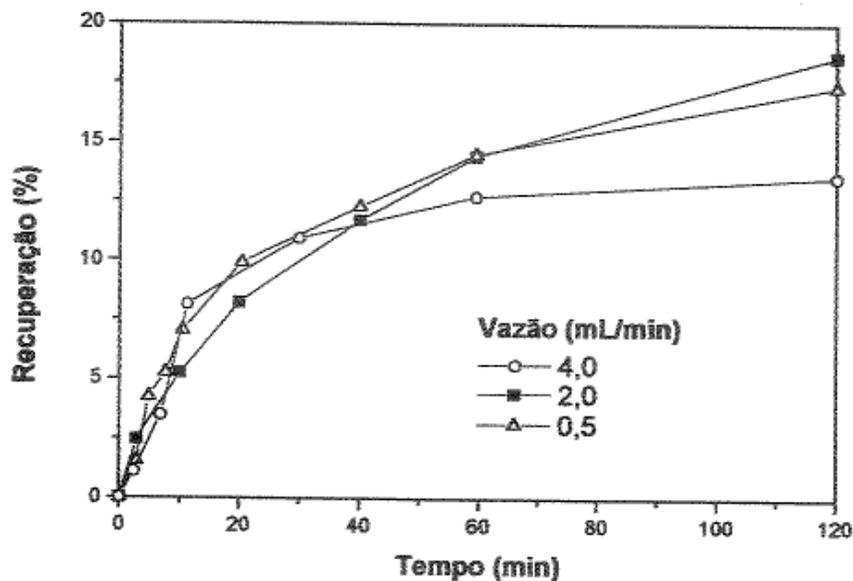


Figura 2.11 - Extração de óleo lubrificante aplicado sobre esferas metálicas (Björklund et al., 1998).

2.4.3.5 - Dependência da pressão e da temperatura

O aumento da pressão, à temperatura constante, causa um aumento na densidade do fluido supercrítico, aumentando o seu poder de solubilização. Por outro lado, o aumento da temperatura, à pressão constante, gera uma redução na densidade do fluido e um aumento na pressão de vapor do soluto. A redução da densidade acarreta uma redução no poder de solubilização; já o aumento da pressão de vapor favorece uma maior solubilização do soluto no solvente supercrítico. Portanto, o aumento da temperatura à pressão constante pode tanto aumentar a solubilidade do soluto quanto diminuí-la. A influência da pressão e temperatura pode ser mais facilmente compreendida através da Figura 2.12. A uma temperatura de 323 K observa-se um aumento da solubilidade com o aumento da pressão. Se for considerada uma segunda isoterma em uma temperatura mais baixa, 313 K, por exemplo, verifica-se que a solubilidade do soluto nesta temperatura será maior para as mesmas

pressões, antes do ponto de cruzamento a 130 atm. Este efeito é conhecido como comportamento retrógrado. A explicação clássica para este fenômeno é a existência dos 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 e o aumento da pressão de vapor do soluto passa a ser predominante ocorrendo o fim da região retrógrada (Rizvi et al., 1986; McHugh e Krukoni, 1994) e estabelecendo-se um comportamento típico, ou seja, o aumento da solubilidade do soluto com o aumento da temperatura. O término da região retrógrada é marcado pela pressão de cruzamento, isto é, a pressão na qual as isotermas se interceptam e representa a pressão limite a partir da qual aumentos de temperatura aumentarão a solubilidade do composto (Chimowitz e Pennisi, 1986).

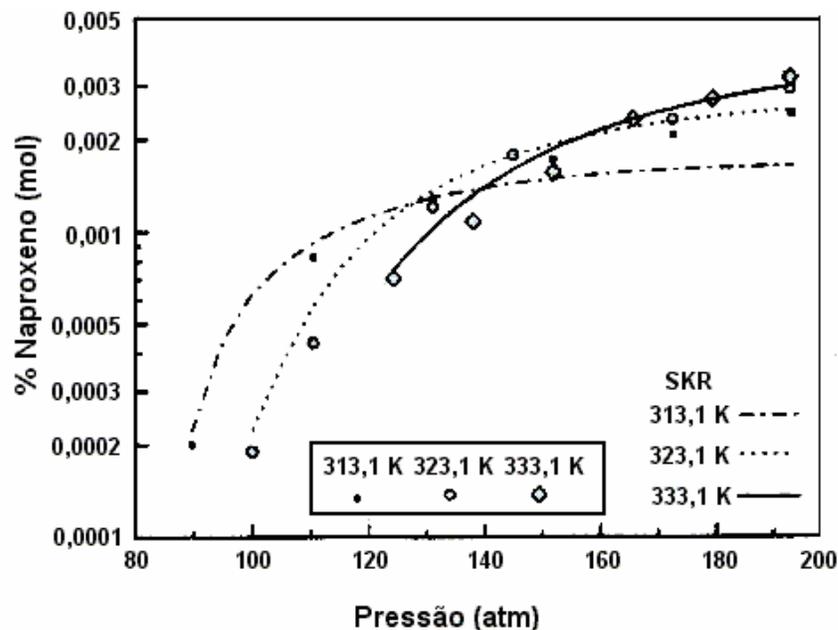


Figura 2.12 – Efeito da pressão e da temperatura sobre a solubilidade de naproxeno em CO2 supercrítico (McHugh e Krukoni, 1994).

Dados experimentais mostram que o valor da pressão de cruzamento difere entre as substâncias puras. Além disso, este valor para um soluto específico pode variar consideravelmente dependendo do sistema no qual o soluto está presente. A pressão de cruzamento para 2,3-dimetilnaftaleno em etileno é 120 bar; enquanto que em dióxido de carbono a pressão de cruzamento é 145 bar (Kurnik et al (1981) *in*: Chimowitz e Pennisi,

1986). Resultados semelhantes são relatados por Azevedo e colaboradores (2003) no estudo da solubilidade da manteiga de cupuaçu utilizando CO₂ e etano supercríticos. A pressão de cruzamento para o sistema utilizando etano supercrítico foi 26 MPa, enquanto que a pressão de cruzamento observada para o sistema com CO₂ supercrítico foi 31,7MPa.

Kopcak e Mohamed (2004) estudaram a solubilidade de cafeína em dióxido de carbono supercrítico e co-solventes e verificaram que a adição de co-solventes em diferentes concentrações desloca a pressão de cruzamento devido ao deslocamento do ponto crítico do solvente supercrítico.

O conhecimento das pressões de cruzamento possibilita a exploração desta característica no desenvolvimento de processos de separação. No caso de dois solutos, cada par de isotermas de solubilidade dos solutos apresenta pelo menos um ponto de cruzamento. Se estes pontos estão a pressões diferentes, a temperatura do sistema pode ser manipulada a uma pressão intermediária acarretando a precipitação de um dos solutos, como proposto por Chimowitz e Pennisi (1986) para separar misturas de 1,10-decanodiol e ácido benzóico utilizando CO₂ supercrítico. Resultados interessantes são apresentados na extração do alcalóide monocrotalina extraído da *Crotolaria spectrabilis*. O extrato foi analisado como duas frações, uma de alcalóide e outra de lipídios. A Figura 2.13 apresenta o comportamento de solubilidade em função da temperatura e pressão para as duas frações consideradas. Após a etapa de extração realizada a 328 K e 14,77 MPa, o extrato (constituído pela monocrotalina + solvente + lipídios) foi alimentado a um segundo extrator mantido a 308 K e 14,77 MPa acarretando a precipitação da monocrotalina. Embora tenha ocorrido também precipitação da fração lipídica, atribuída a complexidade da amostra, o fator de enriquecimento na pureza (razão monocrotalina/ lipídio) foi 1,86, mostrando a possibilidade de exploração do comportamento retrógrado nos processos de separação (Schaeffer et al., 1988).

Em muitos casos não é possível evitar a co-extração de algumas famílias de compostos, mas é possível induzir a precipitação seletiva de diferentes famílias de compostos explorando as diferentes condições de saturação no fluido supercrítico e também a presença da região retrógrada. Portanto, é possível obter um produto final de maior pureza que aquele obtido na extração alterando as condições de pressão e temperatura nos estágios de separação.

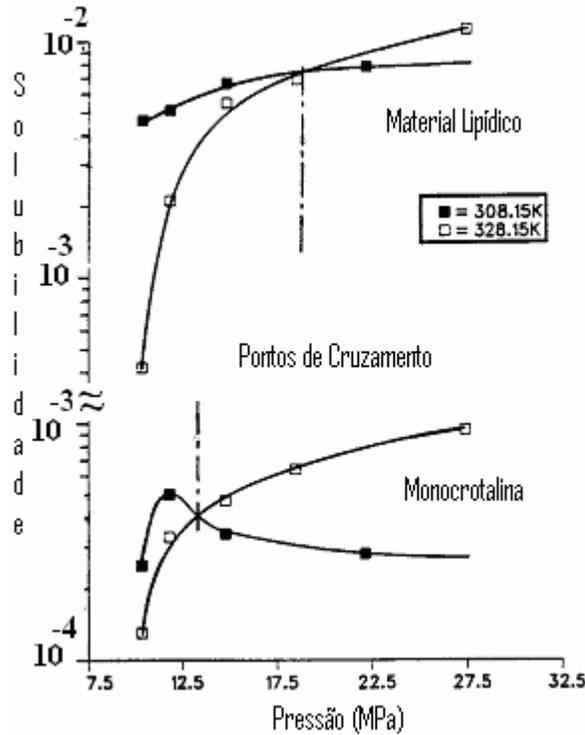


Figura 2.13 - Solubilidade (fração mássica) da monocrotalina e de material lipídico da *Crotalaria spectrabilis* com 90% de CO₂ e 10% de etanol. (Adaptado de Schaeffer et al., 1988).

2.4.3.6 - Extração dos componentes ativos do gênero *Spilanthes*

Os métodos correntes citados na literatura para obtenção do extrato de jambu ou isolamento do espilantol a partir de material vegetal normalmente utilizam solventes orgânicos como hexano (Ramsewak et al., 1999) ou mistura de solventes polares e não polares. Estes processos, geralmente, resultam em um extrato de coloração verde escura devido à extração simultânea de outros compostos, principalmente clorofila. O documento mais recente encontrado PI0500886-7 (Delarcina-Junior et al., 2005) reivindica um processo de preparação de extrato de jambu (*Spilanthes olearaceae*) livre de clorofila. O documento descreve um processo no qual os agentes responsáveis pela cor são removidos por hidrólise básica da clorofila. Uma mistura de solventes orgânicos, preferencialmente hexano e metanol, é utilizada juntamente com outras etapas de purificação. Apesar da elevada recuperação de espilantol relatada, rendimento global (razão entre a quantidade extraída e a

quantidade admitida como presente no material vegetal através de uma técnica de extração tomada como padrão) em torno de 85% e concentração do ingrediente ou composto ativo (razão entre a massa de espilantol e a massa total do extrato) em torno de 28%, este processo apresenta algumas desvantagens: possibilidade de presença de resíduos orgânicos no extrato final, temperaturas elevadas de processamento que podem danificar ou destruir outros compostos úteis, resultando em um produto de qualidade inferior, e a necessidade de etapas adicionais de purificação para separar o solvente do produto natural de interesse. Considerando uma produção em escala industrial, uma grande quantidade de solventes orgânicos seria requerida. O alto custo de descarte ou recuperação deste material é outra desvantagem aos processos descritos no estado da técnica. Mesmo que estes processos utilizem solventes com grau alimentício como etanol (álcool etílico) os problemas relacionados à cor verde escura, a menor seletividade e a necessidade de etapa adicional de purificação permanecem.

Em relação à extração de plantas do gênero *Spilanthes* com fluido supercrítico, foi encontrada na literatura apenas uma referência. Stashenko e colaboradores (1996) realizaram a extração dos metabólitos secundários voláteis de *Spilanthes americana* (Mutis) por dois processos: destilação por arraste a vapor e extração com CO₂ supercrítico. Segundo os autores, não apenas a parte da planta estudada (flores, folhas e caules), como os métodos de extração utilizados afetaram a composição dos extratos. Os extratos obtidos do caule com CO₂ supercrítico foram ricos em sesquiterpenos (> 40%), enquanto os extratos obtidos das folhas e flores foram ricos em compostos nitrogenados (43 e 27% respectivamente) e compostos oxigenados (36 e 23% respectivamente). A destilação por arraste a vapor resultou em um conteúdo de sesquiterpenos de 32% para o caule, 28% para as folhas e 20% para as flores e uma proporção maior de compostos oxigenados (28, 52 e 32%) e monoterpenos (27,10 e 42%) em relação aos correspondentes obtidos com CO₂ supercrítico. Apenas traços de compostos nitrogenados (amidas) foram encontrados nestes extratos. Alguns hidrocarbonetos pesados (C:20) provenientes dos pigmentos das flores e graxas foram isolados com CO₂ supercrítico, mas não por destilação. Segundo os autores, a extração com CO₂ supercrítico foi tanto seletiva quanto altamente eficiente no isolamento de sesquiterpenos, hidrocarbonetos pesados e das amidas características desta espécie. O trabalho limitou-se a um estudo fitoquímico. Influências das condições operacionais bem como da cinética do processo não foram estudadas.

Até o presente momento não se tem conhecimento do estudo de extração de espilantol com fluido supercrítico com foco na avaliação da influência das condições operacionais, sobretudo, no rendimento, na seletividade, na cinética da extração e nas características das frações obtidas.

Portanto, os objetivos desta tese estão direcionados para preencher importantes lacunas científicas identificadas nesta revisão da literatura quanto ao desenvolvimento do processo de extração do espilantol a partir de jambu utilizando CO₂ supercrítico. Além do aspecto científico e do caráter de originalidade deste trabalho, a natureza aplicada e o forte interesse comercial nos resultados desta tese apontam para o preenchimento de outra lacuna, a tecnológica, conforme explicitado a partir da revisão em bancos de patentes também apresentada neste capítulo.

CAPÍTULO 3: MATERIAIS E MÉTODOS

Neste capítulo são abordados os materiais, os métodos de análise, os equipamentos e os procedimentos utilizados neste trabalho.

3.1 - Matérias-primas

Partes aéreas da espécie *Spilanthus acmella* var *oleraceae* ou *Spilanthus oleraceae* previamente secadas em estufa com circulação de ar a 45 °C, umidade em torno de 5% (\pm 1%) e grosseiramente trituradas foram doadas pela empresa Natura Cosmético S.A. Durante a realização dos ensaios, dois lotes diferentes de plantas foram utilizados. O primeiro lote, proveniente de Belém do Pará, foi utilizado nos ensaios exploratórios de extração supercrítica e nas extrações convencionais utilizando solventes orgânicos realizadas na etapa inicial do trabalho. O segundo lote de material, proveniente do interior do estado de São Paulo, foi utilizado no estudo da influência dos parâmetros de processo e demais ensaios realizados na etapa seguinte do trabalho.

Os solventes etanol (Merck), acetato de etila (Merck), hexano (Quimex), metanol (Quimex), clorofórmio deuterado (Cambridge Isotope Laboratories) e acetonitrila (grau HPLC, Merck) foram adquiridos junto a fornecedores locais (Salvador, BA). Dióxido de carbono (99,8%) foi adquirido da empresa White Martins, Campinas, SP. O padrão de espilantol foi doado pela empresa Natura Cosméticos S.A.

3.1.1 - Preparo do material vegetal

O material, composto por caules, folhas e flores grosseiramente triturados, foi peneirado em um agitador de peneiras (Bertel, Brasil) utilizando um sistema de peneiras padrão (Série Tyler, E.U.A). O material foi dividido em frações de 50 gramas e agitado por vibração no peneirador por 20 minutos na frequência máxima. As frações retidas em cada peneira foram acondicionadas separadamente em sacos plásticos para caracterização inicial da amostra. As frações maiores ($d_p > 0,500$ mm) foram novamente trituradas em um moinho (Wallita) e amostras com diâmetros médios de Sauter de 0,180; 0,280; 0,350 e

0,500 mm foram obtidas através da mistura das várias frações, mantendo a proporção de caules, folhas e flores presentes no material original. Este material foi acondicionado em sacos de alumínio, armazenado a temperatura inferior a -10 °C e utilizado nos ensaios. Este procedimento foi adotada nas duas etapas do trabalho.

3.2 - Extração com solventes orgânicos

As extrações utilizando solventes orgânicos foram conduzidas no Departamento de Química Orgânica do Instituto de Química da Universidade Federal da Bahia (UFBA). Os objetivos destes ensaios foram:

i-) Caracterizar quimicamente o material vegetal: a composição do material vegetal depende fortemente de condições edafoclimáticas tais como local de plantio, época de colheita, adubação, chuvas, dentre outras. Uma vez que as referências disponíveis tratam da identificação e ou isolamento do espilantol com solventes orgânicos, procedimentos semelhantes foram adotados para avaliar, qualitativamente e quantitativamente, a presença do princípio ativo de interesse nos lotes de material estudados, antes de submetê-los a extração com CO₂ supercrítico. Esta etapa foi conduzida através de maceração em hexano e maceração em hexano seguida de metanol em temperatura ambiente.

ii-) Avaliar o rendimento do processo de extração supercrítica comparando-o com o rendimento obtido pelas técnicas convencionais: a realização destes ensaios mostrou-se necessária para avaliar os resultados obtidos na extração supercrítica (segunda etapa), uma vez que os dados presentes na literatura sobre extração de espilantol de jambu utilizando fluido supercrítico são escassos e restringem-se a uma avaliação fitoquímica, sem referências à evolução do processo em função do tempo e da massa de solvente utilizada.

iii-) Comparar os diversos processos de extração: o processo utilizado comercialmente no Brasil é o processo de extração com etanol a quente. Como esta tese de doutorado teve

também como objetivo avaliar uma alternativa a este processo, extrações por refluxo de solvente utilizando etanol foram conduzidas para comparação dos rendimentos obtidos.

3.2.1 - Extração por maceração a frio

O processo de maceração a frio (temperatura ambiente) foi realizado utilizando hexano e metanol em um erlenmeyer de 500 mL. A relação volume de solvente (mL) por massa de material vegetal (g) foi de 10:1. O processo consistiu em manter o material vegetal em contato com hexano por nove dias com troca do solvente a cada três dias. Após o período de nove dias, a matriz vegetal previamente extraída com hexano foi colocada em contato com o solvente de polaridade maior (metanol), seguindo o mesmo procedimento anterior. Este processo é baseado nos procedimentos adotados pelo Grupo de Estudos de Substâncias Naturais (GESNAT) do Instituto de Química da UFBA e informações da literatura (Sweet, 2003). Após maceração, o solvente foi evaporado em um sistema de rotaevaporação (Heildoph Instruments, Alemanha), mantendo a temperatura entre 30 e 40 °C, e a massa de extrato quantificada. O material foi acondicionado em frasco âmbar e armazenado em geladeira para posterior análise.

3.2.2 - Extração por refluxo de solvente

O processo de extração por refluxo de solvente utilizou etanol como solvente. O sistema de extração é constituído por uma manta de aquecimento com controlador de voltagem (Fisaton, Brasil) e um balão de fundo redondo de 500 mL acoplado a um condensador de refluxo (Figura 3.1). O material vegetal e o solvente foram alimentados no balão. A relação volume de solvente (mL) por massa de material vegetal (g) foi de 10:1. O processo consistiu em aquecer o material vegetal imerso em etanol. A solução foi levada à ebulição com o auxílio da manta de aquecimento e o solvente recirculado por 2 horas (tempo de refluxo). Após a extração, o material foi filtrado em papel quantitativo. O resíduo foi lavado até completar-se um volume de 250 mL em balão volumétrico. Uma alíquota de 0,5 mL da solução foi retirada, acondicionada em frasco âmbar e armazenada em geladeira para posterior análise. A solução restante foi concentrada até a evaporação

completa do solvente em um sistema de rotaevaporação (Heildoph Instruments, Alemanha) e a massa de extrato quantificada.



Figura 3.1 – Montagem experimental para a extração por refluxo de solvente

3.3 - Extração Supercrítica

3.3.1 - Equipamento

Os ensaios de extração supercrítica foram conduzidos no Laboratório de Engenharia de Produtos e Processos em Biorrecursos da Faculdade de Engenharia Química da Universidade Estadual de Campinas (LEPPBio/FEQ/UNICAMP), utilizando o equipamento descrito por Azevedo (2005). O equipamento permite o controle independente das variáveis pressão e temperatura e da vazão de solvente, além da possibilidade de alteração na configuração através de um sistema de válvulas. O equipamento possui duas bombas em paralelo, P-1 e P-2, marca Milton Roy, modelo 396 - 89, adquiridas da empresa Thermo Separation Products, Fremont, CA, USA, que possibilitam uma vazão individual de 46 a 460 mL/h, e uma pressão máxima de descarga de 414 bar.

As bombas são do tipo deslocamento positivo possuindo na sucção uma válvula de retenção (Autoclave Engineers), que permite o fluxo em um único sentido, e um filtro de linha (Autoclave Engineers), que impede danos por eventuais contaminantes presentes no fluido. Para garantir que o solvente e o co-solvente cheguem à sucção da bomba no estado líquido, cada linha possui um trocador de calor tipo casco e tubo. A solução refrigerante (solução aquosa de etileno glicol 30% v/v) é suprida aos trocadores de calor por um refrigerador Neslab, modelo CFT-25 que resfria o fluido até -2°C.

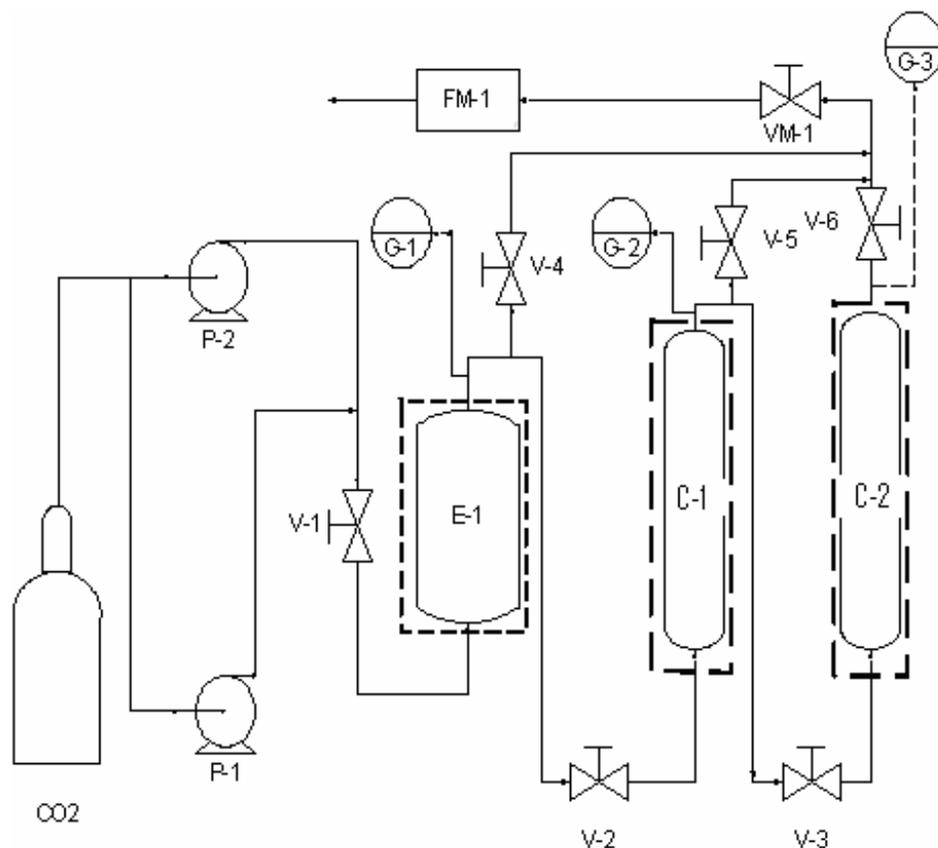


Figura 3.2 – Equipamento de extração supercrítica (Azevedo, 2005):

E-vaso de extração, G-manômetros, P-bombas, C-colunas de Separação, V-válvulas de bloqueio, VM-válvula micrométrica, FM-medidor totalizador de vazão

O equipamento possui um extrator de 300mL (E-1) (h=18,5 cm, Di=4,5 cm) fabricado em aço inoxidável 316SS, projetado para resistir a pressões de até 372 bar, na temperatura de 343 °C, e duas colunas (C-1 e C-2) de alta pressão (De=2,54cm,

Di=1,27cm, h=30 cm). O extrator possui no seu interior um termopar que registra a temperatura interna. Ao redor do extrator encontra-se uma camisa de aquecimento elétrico ligada a um controlador de temperatura (Eurotherm, Reston, Virginia, USA). As colunas são mantidas dentro de fornos e o controle de temperatura é realizado através de um regulador de voltagem. A medida de temperatura é tomada na superfície externa da coluna através de termopares tipo J. No extrator e colunas, a entrada localiza-se na parte inferior e a saída na parte superior. Nas tubulações que ligam as bombas aos extratores, existem válvulas do tipo gaveta (V-2, V-3, V-4, V-5 e V-6) que permitem operar separadamente cada um dos vasos, e uma válvula de segurança (V-1) com disco de ruptura para proteger o extrator de pressões acima do limite do equipamento. A pressão nos extratores é monitorada através de manômetros de 0 a 689,5 bar instalados na saída da tubulação e fornecidos pela Autoclave Engineers. Encontra-se também um monitor digital de pressão HEISE modelo 901A (G-1), que permite registrar a pressão com precisão de $\pm 0,5$ bar. A fase fluida, após deixar o extrator, passa por uma válvula micrométrica (Autoclave Engineers) que permite regular a vazão e controlar a pressão da saída até condições ligeiramente superiores à pressão atmosférica. Neste processo de passagem através da válvula ocorre a condensação/precipitação do soluto, que é recolhido no separador. Para evitar a possibilidade de congelamento da válvula e do CO₂ em função da expansão do gás (efeito Joule-Thompson), uma fita de aquecimento envolve a válvula e parte da tubulação a jusante. A tubulação de saída ainda é provida de dois filtros, um coalescente e um de carvão ativo, que permitem a retirada de eventuais impurezas da corrente de gás, que segue para o totalizador de fluxo tipo mássico (FM-1) (EG&G Technologies).

3.3.2 - Extração com CO₂ puro e com adição de co-solventes – ensaios preliminares

Para explorar a capacidade dos solventes supercríticos, CO₂ puro e adicionado de co-solventes (CO₂ + etanol e CO₂ + acetato de etila) foram empregados na extração de espilantol da planta *Spilanthes acmella* var *oleraceae*. As extrações foram realizadas a 40 °C e pressões de 276 bar. A vazão do solvente foi mantida em 1,0 L/min. Esta vazão foi adotada com base nos trabalhos de Azevedo (2005). A coluna (C-1) localizada a jusante do vaso de extração de 300 mL foi empacotada com material vegetal e em cada extremo da coluna foi colocada uma tela de inox, esferas de vidro e um tampão de lã de vidro para preencher o leito e evitar arraste de partículas finas. Amostras de aproximadamente 10 g de

material vegetal moído (diâmetro médio de 0,180 mm) e secado por 12 horas em estufa com circulação de ar (marca Tecnal, modelo TE-3941) a 45 °C foram utilizadas nos ensaios.

CO₂ puro:

Para os experimentos com CO₂ puro o extrator atuou como um vaso pulmão e a segunda coluna C-2 não foi utilizada, sendo isolada através do fechamento das válvulas V-3 e V-6. Nestes experimentos, CO₂ foi primeiramente alimentado ao vaso de extração de 300 mL, e o sistema levado às mesmas condições de pressão e temperatura da coluna, na qual estava contida o material vegetal a ser extraído. Após equalizar as condições de processo no sistema, a válvula micrométrica VM foi aberta lentamente, de maneira a manter a pressão constante no extrator e a vazão no nível desejado. O extrato foi recuperado no frasco separador imerso em banho de gelo e através da lavagem da linha de saída da válvula micrométrica com etanol. Etanol foi também adicionado ao frasco separador para aumentar a recuperação do extrato precipitado. Este solvente foi escolhido por ser o mesmo solvente utilizado nas análises por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). Nestes experimentos, foram coletadas frações a intervalos de tempo determinados pela passagem de 100 L ou 180 g de CO₂. A cada coleta a quantidade de solvente foi determinada pelo medidor totalizador de fluxo tipo mássico descrito anteriormente.

A solução de extrato obtida foi transferida para um balão volumétrico de 100 mL. Uma alíquota de 0,5 mL foi retirada para análise por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), de acordo com a metodologia descrita na seção 3.4.3 e a solução restante foi concentrada até a evaporação completa do solvente em um sistema de rotaevaporação (Heildoph Instruments, Alemanha) para quantificação da massa de extrato. A massa de extrato obtida foi corrigida considerando a alíquota retirada.

CO₂ com co-solventes:

Para os experimentos com CO₂ e a adição de co-solventes (CO₂ + etanol e CO₂ + acetato de etila), o CO₂ foi bombeado até o extrator, previamente alimentado com etanol (130 mL) ou acetato de etila (130 mL) e mantido nas mesmas condições de pressão e temperatura do vaso extrator. Em seguida, o dióxido de carbono supercrítico saturado com um dos co-solventes foi conduzido ao vaso no qual se encontrava o material vegetal.

Amostras foram coletadas após a passagem de 50 L de CO₂ pelo extrator. Após a retirada de cada amostra, o extrator foi aberto e o volume do co-solvente completado para 130 mL, de maneira que a composição do solvente alimentado na coluna se mantivesse constante durante todo o processo.

A solução de extrato foi preparada e a massa quantificada como descrito anteriormente.

3.3.3 - Extração com CO₂ puro – avaliação dos parâmetros de processo

Para a avaliação da influência das variáveis de processo (pressão, temperatura, vazão e diâmetro de partícula) sobre o rendimento global de extrato e rendimento de espilantol, ensaios de extração utilizando CO₂ supercrítico foram realizados na faixa de temperatura de 40 a 60 °C e pressões entre 76 e 352 bar. O extrator foi preparado utilizando em cada uma das extremidades uma tela de inox para evitar arraste de material e esferas de vidro com a finalidade de completar o leito. Na realização destes ensaios, aproximadamente $12 \pm 0,5$ g de material vegetal foram alimentados ao extrator. O solvente foi bombeado lentamente para o extrator, a fim de prevenir o arraste do soluto. Atingidas as condições de operação, as extrações foram realizadas através do método dinâmico com fluxo contínuo. Vazões de 1,0 e 2,0 L/min de gás expandido (CNTF) foram inicialmente avaliadas. Amostras foram coletadas após a passagem de 45 ou 90 g no início da extração e a cada 180 g de CO₂ na fase final, de acordo com o experimento. Cada ponto experimental representa a média de 2 ou 3 experimentos independentes. As amostras de extrato foram coletadas por precipitação do material ao despressurizar a mistura através de uma válvula micrométrica e através da lavagem da linha de saída da válvula micrométrica com etanol. O extrato precipitado foi coletado em frasco de vidro (kitassato) imerso em banho de gelo. Etanol foi adicionado no frasco separador para aumentar a recuperação do extrato. A massa de CO₂ foi determinada através do medidor totalizador de fluxo mássico. A solução de extrato obtida foi transferida para um balão volumétrico de 100 mL. Uma alíquota de 0,5 mL foi retirada para análise por CLAE, de acordo com a metodologia descrita na Seção 3.4.3 e a solução restante foi concentrada até a evaporação completa do solvente em um sistema de rotaevaporação (Heildoph Instruments, Alemanha) para quantificação da massa de extrato. A massa de extrato obtida foi corrigida considerando a alíquota retirada.

Em todos os ensaios realizados neste trabalho, após o final do experimento o sistema foi lavado com etanol quente até que a solução de lavagem saísse incolor. Antes que um novo experimento fosse iniciado, o equipamento era seco utilizando ar comprimido e dióxido de carbono pressurizado.

3.4 - Métodos analíticos

Nesta seção são apresentados os métodos analíticos empregados na identificação e determinação das concentrações de espilantol nos extratos, bem como os métodos utilizados na identificação da composição química dos mesmos. A caracterização das frações obtidas foi realizada através de cromatografia em camada delgada (CCD), cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), cromatografia gasosa e espectrometria de massa (CG-MS) e por ressonância magnética nuclear de ^1H e ^{13}C (RMN), de acordo com a necessidade e especificidade da amostra. As análises de CCD e RMN foram realizadas no DQO/IQ/UFBA e as análises de CLAE e CG-MS foram realizadas no laboratório de Tecnologia Química da empresa Natura Cosméticos S.A.

3.4.1 - Cromatografia em Camada Delgada (CCD)

A análise por cromatografia em camada delgada (CCD) foi utilizada para verificar de forma rápida a presença de espilantol nas amostras. A análise de CCD foi realizada em cromatoplasmas de sílica gel 60 F254 (Merck). A fase móvel foi composta de hexano: acetato de etila na proporção 1:1. Este sistema de eluição foi o que apresentou melhor resolução dentre vários testados. As placas foram reveladas utilizando irradiações em luz ultravioleta (UV) no comprimento de onda de 254 nm e vapores de iodo. Os extratos eram aplicados juntamente com uma alíquota de uma solução contendo o padrão de interesse para comparação.

3.4.2 - Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

Os espectros de RMN de ^1H e ^{13}C foram registrados em um espectrômetro Gemini 2000 (Varian Associates, E.U.A) operando com frequências do hidrogênio a 300 MHz e do carbono a 75 MHz. O solvente utilizado para dissolução das amostras e obtenção dos

espectros de RMN foi clorofórmio deuterado (CDCl_3). Esta análise foi realizada na caracterização inicial das amostras de extratos obtidas a diferentes condições.

Os deslocamentos químicos (δ) foram expressos em partes por milhão (ppm) e foram referenciados pelo pico pertencente à fração não deuterada do clorofórmio para RMN de ^1H (7,27 ppm) e para RMN de ^{13}C (77,0 ppm).

As multiplicidades das absorções foram indicadas segundo a convenção: s (simpleto), d (duplete), dd (duplo duplete), t (triplete), dt (duplo triplete).

3.4.3 - Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)

A análise por cromatografia líquida de alta eficiência foi realizada utilizando um cromatógrafo Alliance com detector PDA 2996 (Waters, E.U.A), coluna X-terra RP18 (4,6 x 250 mm, 5 μm), fase móvel composta por acetonitrila e água na proporção 70:30 com vazão de 1 mL/min. Uma alíquota de 0,5 mL da solução de extrato previamente preparada foi filtrada em filtros de 0,22 μm . Parte da solução filtrada (20 μL) foi injetada no cromatógrafo para quantificação da concentração ($\mu\text{g/mL}$) de espilantol na amostra através de uma curva analítica previamente construída com o padrão de espilantol. A curva analítica relaciona a área integrada do pico referente ao espilantol puro com a concentração da solução padrão. A curva analítica e o cromatograma para o padrão de espilantol são apresentados no Anexo A.

3.4.4 - Cromatografia Gasosa - Espectrometria de massas (CG-EM)

Os espectros de massas foram obtidos através de ionização por elétrons (IE) a 70 eV em espectrômetro Shimadzu, modelo QP-2010, com detector seletivo de massas (MSD) quadrupolo, equipado com coluna Capilar Rxi-5MS, com 30 m de comprimento, 0,25mm de diâmetro interno e 0,25 μm de espessura de filme. A temperatura do injetor foi mantida a 220 $^{\circ}\text{C}$ e a programação do forno de 60 a 250 $^{\circ}\text{C}$, com taxa de aquecimento 3 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$. A identificação dos componentes foi realizada através da comparação dos espectros de massa com os padrões contidos no banco de dados da biblioteca de espectros, “NIST Mass Spectral Library”.

CAPÍTULO 4: RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste capítulo são apresentados os resultados experimentais obtidos no decorrer da tese de doutorado. Os resultados são discutidos com base em fundamentos teóricos e observações experimentais.

O trabalho experimental foi dividido em duas etapas: ensaios preliminares e ensaios sistemáticos para avaliação da influência dos parâmetros de processo. Em ambas as etapas o material vegetal foi preparado de acordo com a metodologia descrita na Seção 3.1.1 e discutida na Seção 4.1.

4.1 - Preparo do material vegetal

O material vegetal tal como recebido, composto por uma mistura de caules, folhas e flores grosseiramente triturados, foi peneirado para caracterização do diâmetro médio das partículas. Observou-se, visualmente, uma grande heterogeneidade entre as diversas frações retidas nas peneiras. Nas peneiras de 28 mesh e maiores o material retido era predominantemente composto por caules. Já na peneira de 32 mesh o material retido era basicamente inflorescências. Como foi observado visualmente que as frações retidas em cada peneira diferiam uma das outras, surgiu a preocupação em padronizar a amostra de forma que esta fosse constituída por caules, folhas e flores na mesma proporção do material original. Assim, todas as amostras utilizadas nos ensaios de extração foram reconstituídas pela mistura de várias frações na mesma proporção do material original. Por exemplo, todas as amostras continham 36% (Tabela 4.1) da fração retida na peneira de 28 mesh ($d_p \geq 0,707$ mm), composta principalmente por caules, mas já com o diâmetro reduzido para a faixa de interesse (por exemplo, $d_p \leq 0,500$ mm). Embora este procedimento, de manter em diferentes lotes a mesma proporção de caules, folhas e flores do material não processado mecanicamente não seja viável em escala industrial, é importante nas etapas de investigação científica. Extrações de amostras constituídas por proporções diferentes poderiam levar à conclusão equivocada sobre o rendimento do processo, já que a quantidade de ativo é diferente em cada parte da planta e as diferentes estruturas do material vegetal (isto é, sementes, raízes, folhas, flores, etc) podem apresentar diferentes mecanismos de transferência de massa (Reverchon e Marrone, 1997). Diferentes

rendimentos em extrato (0,57 e 1,18%) foram relatados por Pereira (2003) na extração de *Tabernaemontana catharinensis* quando se utilizou amostra composta por casca da árvore, galhos grossos e folhas e amostra composta por galhos finos e folhas, respectivamente.

A presença das diferentes estruturas é inerente a qualquer material composto por partes aéreas, mas acredita-se que conclusões equivocadas podem ser evitadas com o procedimento descrito.

Tabela 4.1 - Distribuição granulométrica do material vegetal original

Diâmetro da peneira, d# (mm) / (mesh)	Fração retida (%)	Característica da fração
0,707 / 28	36,5	constituída principalmente de caules e algumas flores inteiras
0,500 / 32	23,3	constituída predominantemente por inflorescências
0,297 / 48	12,9	constituída por inflorescências, mas apresentando também fragmentos de coloração verde (provavelmente folhas)
0,210 / 65	7,4	constituída principalmente por inflorescências, mas apresentando também fragmentos de coloração verde (provavelmente folhas)
0,149 / 100	6,3	aspecto homogêneo, predominância da cor verde
0,105 / 150	5,8	aspecto homogêneo, predominância da cor verde
0,75 / 200	4,7	aspecto homogêneo, predominância da cor verde
<75	3,1	finos, predominância da cor marrom (terra)

4.2 - Extração com solventes orgânicos

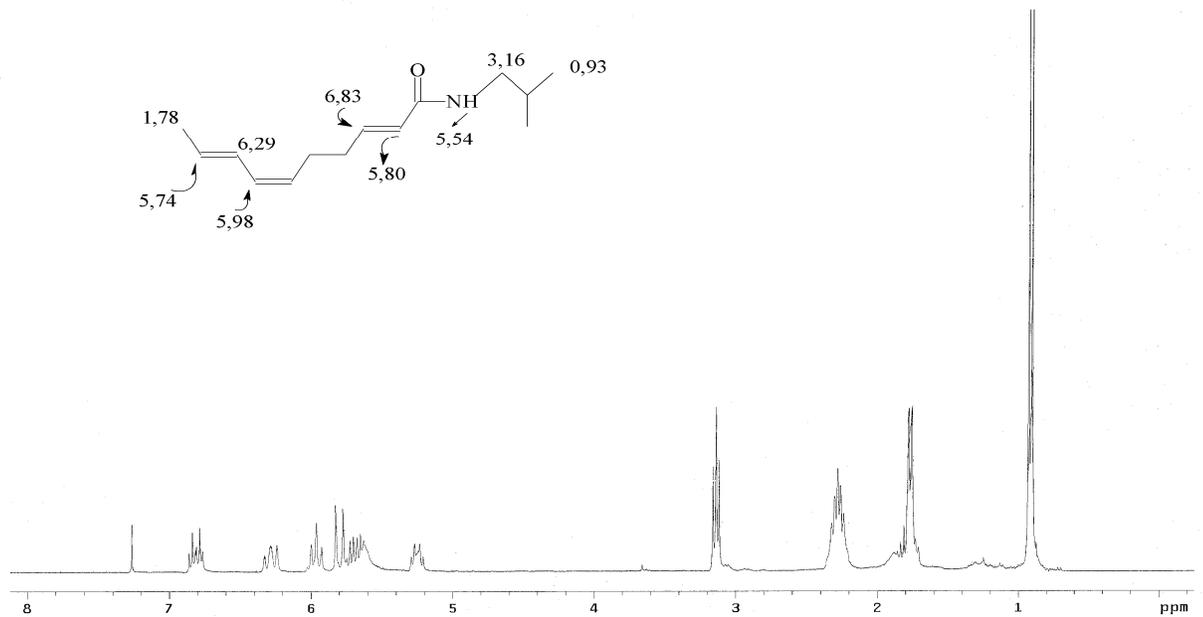
Métodos convencionais de extração por maceração a frio e por refluxo de solvente foram conduzidos para melhor caracterização da matriz vegetal e para comparação das composições dos extratos e rendimentos obtidos em cada processo.

4.2.1 - Rendimento global de extrato e rendimento de espilantol – maceração a frio e extração por refluxo

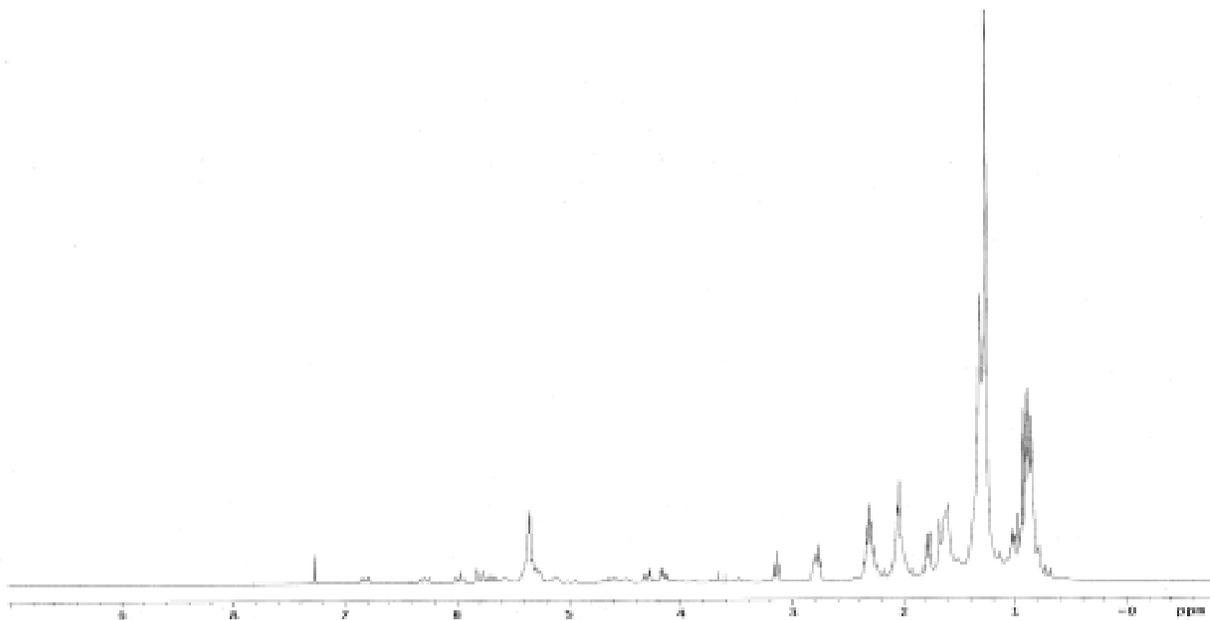
O rendimento global (% base seca - b.s.) do extrato (massa total de extrato/massa de planta seca) obtido através de maceração a frio em hexano foi de 2,78% (média de três extrações com desvio de $\pm 0,11\%$), para a extração do material vegetal tal como adquirido (diâmetro médio 1,3 mm), isto é, sem redução posterior do tamanho das partículas. Extrações posteriores utilizando o material triturado (diâmetro médio de 0,180 mm) resultaram em um rendimento médio maior, de $4,66\% \pm 0,4\%$ (b.s.). Esta extração foi realizada com o objetivo de verificar se a amostra adquirida continha realmente a substância de interesse.

A presença de espilantol no extrato hexânico pode ser deduzida a partir da análise dos espectros de RMN de ^1H (Figura 4.1 **a** e **b**). No espectro de RMN de ^1H foram observados sinais de hidrogênios olefinicos como o duplo tripleto em 6,83 ppm (15,3 e 6,6 Hz) e o duplete em 5,80 ppm (15,3 Hz) correspondentes aos hidrogênios α e β da ligação dupla conjugada com o grupo carbonílico da amida. Além de sinais em 6,29 ppm, 5,98 ppm e 5,74 ppm que foram atribuídos respectivamente aos hidrogênios H-8, H-7 e H-9 da molécula de espilantol. O sinal do hidrogênio H-6 não foi observado, pois o mesmo está sobreposto a outros hidrogênios de outras moléculas presentes no extrato e que se encontram na região entre 5,0 e 5,40 ppm. A presença de um dublete em 1,78 ppm (6,6 Hz) indica a existência de um grupo metílico alílico H-10. O grupo isobutílico foi caracterizado pela presença dos sinais em $\delta 3,16$ t (6,6 Hz) correspondente ao H-11 e pelo dublete em 0,93 ppm (6,6 Hz) correspondentes aos grupos metílicos H-13 e H-14. O espectro apresenta também sinais referentes à presença de outras moléculas, notadamente materiais graxos, com sinais intensos em 1,26, 0,9 e 5,35 ppm.

A comparação destes dados com os encontrados na literatura (Ramsewak et al., 1999) e com os dados obtidos para o padrão de espilantol confirma a presença de espilantol nos extratos obtidos.



(a)



(b)

Figura 4.1 - Espectros de RMN de ^1H para: (a) padrão de epilantol e (b) extrato hexânico.

No extrato metanólico obtido após maceração em hexano não foi detectada a presença de isobutilamidas. O rendimento global de extrato metanólico foi de 6,47% (b.s.) para o material vegetal com diâmetro médio de 1,3 mm. Do ponto de vista qualitativo, tanto os extratos hexânicos quanto os metanólicos apresentaram coloração verde musgo, com aspecto quase sólido após a evaporação do solvente (concreto). Ramsewak e colaboradores (1999) relataram a obtenção de rendimentos de 2,2% (b.s.) para o extrato hexânico e 6,17% (b.s.) para o extrato metanólico obtidos através da extração seqüencial de flores de *Spilanthes acmella*. Embora estes valores sejam próximos aos valores de 2,78% e 6,47%, obtidos no presente trabalho, respectivamente para o extrato hexânico e metanólico, o material extraído por Ramsewak e colaboradores (1999) é composto apenas de flores e o diâmetro de partículas não é informado, dificultando uma comparação mais precisa dos resultados.

O rendimento global de extrato (% b.s.) para o material de diâmetro médio de 0,180 mm submetido a extração por refluxo de solvente com etanol foi de 12% (média de três extrações, com desvio de $\pm 0,62\%$).

A quantificação do espilantol em cada extrato foi realizada por CLAE, como descrito na Secção 3.4.3. Não há na literatura relatos recentes sobre a quantificação do teor de espilantol e outras isobutilamidas na espécie *Spilanthus oleraceae*. Publicações datadas da época da elucidação da estrutura química do composto citam rendimentos em torno de 1,0% (Acree et al., 1945; Jacobson, 1957). Nigrinis e colaboradores (1986) realizaram estudo fitofarmacológico de flores da espécie *Spilanthus americana* (Mutis), relatando um rendimento da fração anestésica ativa igual a 0,013%.

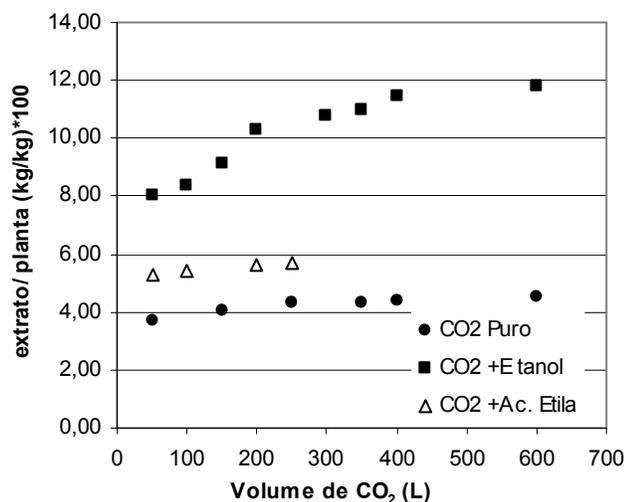
O rendimento de espilantol (massa de espilantol/massa de planta seca) nos extratos obtidos por maceração em hexano foi da ordem de 0,18% ($\pm 0,023\%$) para a amostra (tal como recebida) de diâmetro médio 1,3 mm e 0,26% ($\pm 0,011\%$) para a amostra triturada (diâmetro médio 0,180 mm). Rendimento semelhante foi obtido através do processo de extração por refluxo de solvente com etanol, 0,25% ($\pm 0,017\%$) para a amostra de mesmo diâmetro médio, isto é, 0,180 mm. De acordo com os ensaios realizados, não houve diferença significativa no rendimento de espilantol obtido através dos dois processos: maceração a frio em hexano e extração por refluxo de solvente com etanol para o diâmetro

de interesse igual a 0,180 mm. Portanto, conforme o objetivo inicial, foi realizada a caracterização do material vegetal quanto a presença de espilantol.

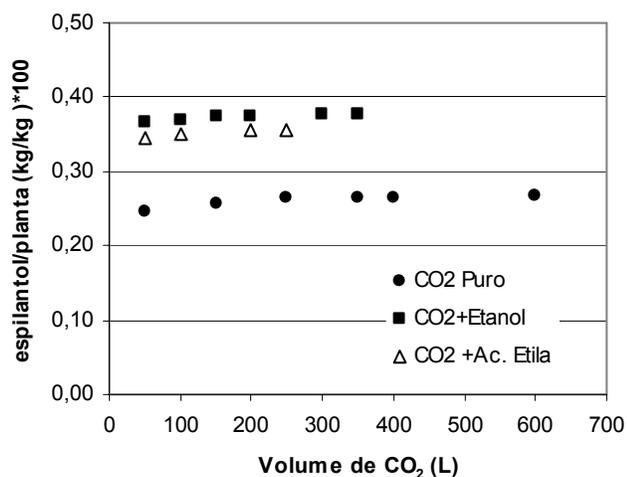
4.2.2 - Rendimento global de extrato e rendimento de espilantol obtidos utilizando CO₂ puro e CO₂ + co-solventes

Alguns ensaios preliminares de extração com CO₂ supercrítico foram conduzidos para comparar, quantitativamente, este método de extração com os valores obtidos através da extração por refluxo de solvente utilizando etanol, tomado como método de referência. Análises por RMN de ¹H também foram realizadas com o objetivo de identificar a presença de outros compostos no extrato em função da condição de extração. Inicialmente, utilizaram-se CO₂ puro, CO₂ saturado com etanol e CO₂ saturado com acetato de etila a pressão de 276 bar, temperatura de 40 °C, diâmetro médio de partícula igual a 0,180 mm e vazão de solvente de 1,0 L/min (CNTP), com o objetivo de avaliar o ganho no rendimento e a influência na seletividade com o uso de co-solventes. Frações de extrato foram retiradas a cada 50 minutos ou 50 L de CO₂ e verificou-se que nestas condições praticamente todo o material já havia sido extraído e, portanto, não foi possível detectar a primeira região da curva de extração (Figura 4.2 (a) e (b)).

Os espectros de RMN do material extraído com CO₂ puro indicaram a presença de espilantol e material graxo (provavelmente hidrocarbonetos de cadeia longa contendo insaturações), como componentes principais, assim como verificado para o extrato hexânico. Porém, alguns sinais presentes no espectro do extrato hexânico não foram detectados para o extrato com CO₂ puro, sugerindo que a extração com CO₂ puro é mais seletiva em relação ao espilantol do que a extração com hexano.



(a)



(b)

Figura 4.2 - Rendimentos obtidos a 276 bar, 40 °C, vazão de 1,0 L/min para extrações com CO₂ puro e CO₂ + co-solventes: (a) rendimento de extrato e (b) rendimento de espilantol.

A primeira e última fração dos extratos obtidos com CO₂ puro e CO₂ + co-solventes também foram analisadas por RMN. Os espectros mostram uma predominância de material graxo para estes extratos. A Figura 4.3 mostra os espectros obtidos para a primeira e última fração de extrato coletadas utilizando CO₂ puro como solvente. Na última fração (600 L de CO₂) analisada, os sinais característicos do espilantol foram significativamente menos intenso que os sinais obtidos na primeira fração (100 L de CO₂), o que está de acordo com

os resultados apresentados na curva de extração mostrada na Figura 4.2 **b**. Os espectros de RMN não indicaram a presença de espilantol para as últimas frações coletadas com co-solventes.

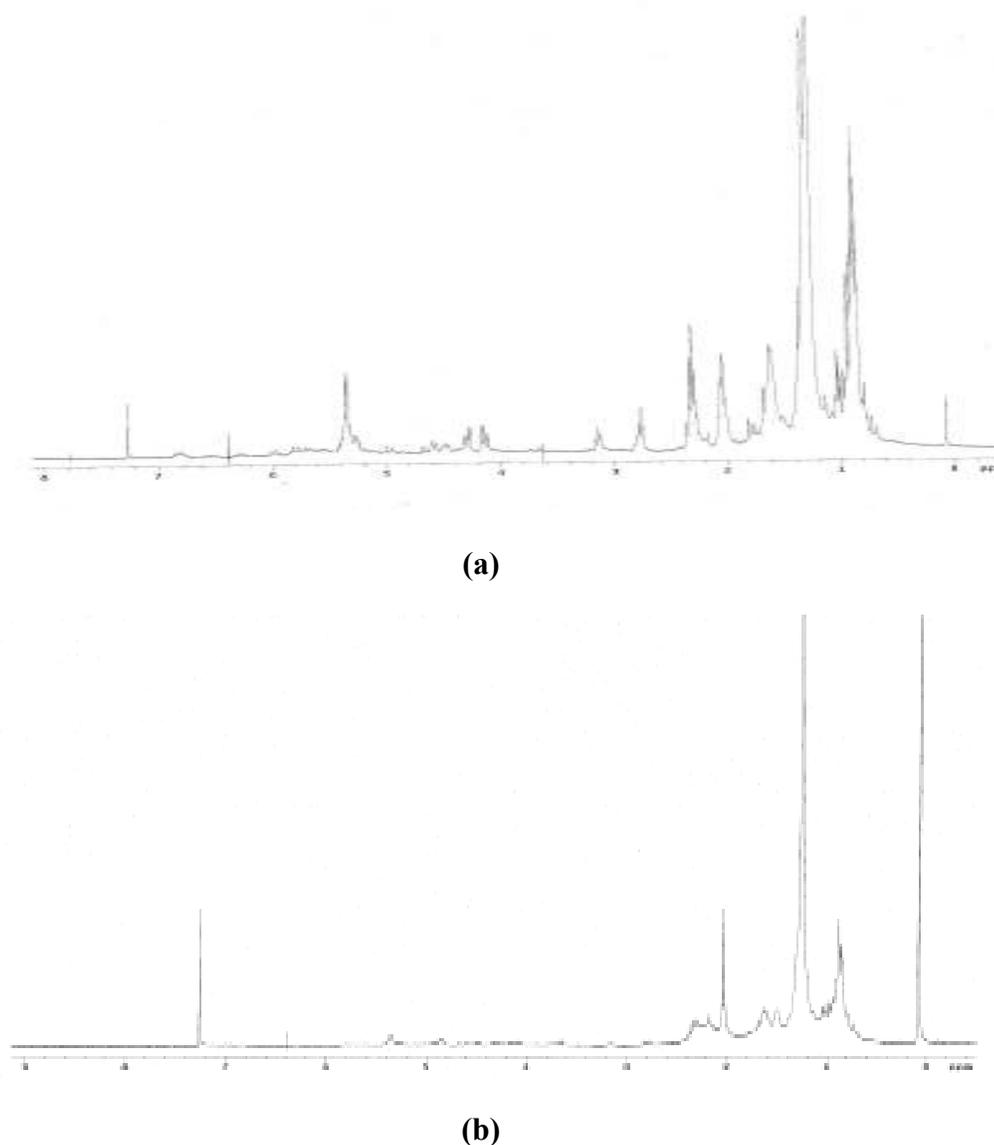


Figura 4.3 - Espectros de RMN de ^1H para os extratos obtidos com CO_2 puro a 276 bar, 40 °C: (a) 100 L de CO_2 e (b) 600 L de CO_2 .

O rendimento global de extrato e o rendimento de espilantol, bem como a porcentagem de recuperação do espilantol (razão entre a massa de espilantol extraída e a massa de espilantol inicial) e a fração mássica de espilantol no extrato (razão entre a massa de espilantol presente no extrato e a massa total de extrato) para cada um dos processos estão resumidos na Tabela 4.2. A extração com CO_2 supercrítico puro a 276 bar e 40 °C

apresentou rendimentos em extratos (4,53%) semelhantes aos obtidos com maceração em hexano (4,66%) e o rendimento com CO₂ supercrítico saturado com etanol apresentou rendimento comparável ao obtido na extração por refluxo de solvente utilizando etanol (12%). Em relação ao rendimento de espilantol, considerando o erro experimental, os três métodos de extração resultaram no mesmo rendimento para a condição avaliada (276 bar, 40 °C e vazão 1,0 L/min). A adição de co-solventes resultou em rendimentos de extrato e espilantol maiores que aqueles obtidos com CO₂ puro, como mostrado na Tabela 4.2.

Tabela 4.2 - Resultados de extração obtidos nos processos com CO₂ puro e CO₂ saturado com co-solvente.

	Maceração em Hexano	Refluxo por solvente	CO₂ puro	CO₂+ etanol	CO₂+Ac. de Etila
Rendimento global do extrato (% b.s)	4,66 ± 0,4	12,0 ± 0,62	4,53	11,83	5,72
Rendimento de espilantol (%b.s)	0,26 ± 0,011	0,25 ± 0,017	0,27	0,37	0,34
Recuperação do espilantol (%)	104	100	107	148	136
Massa espilantol/massa extrato *100%	5,6	2,1	6,0	3,1	6,0

Embora os rendimentos com co-solventes tenham sido superiores àquele obtido com CO₂ puro, os extratos possuem o mesmo aspecto daqueles obtidos através dos processos convencionais (coloração verde musgo), enquanto que as frações obtidas com CO₂ puro apresentaram coloração variando de amarela intensa à levemente esverdeada. Além disso, as frações mássicas de espilantol nos extratos (relação massa de espilantol por massa de extrato) obtidos com co-solventes não são superiores a obtida com a extração com dióxido de carbono supercrítico puro, resultado este esperado, uma vez que a presença de co-solventes pode tornar o processo menos seletivo devido à extração de outros materiais (Brunner, 1994). Resultados similares foram relatados por Catchpole e colaboradores (2002) na extração de erva de São João e de alcamidas de *Echinacea purpúrea* na presença

de etanol como co-solvente. Os autores ressaltam o aumento na extração de substâncias indesejáveis tais como pigmentos e graxas de alta massa molecular com a utilização de co-solventes. O aspecto do extrato é um fator importante e a cor é um atributo de grande valor mercadológico, sobretudo para a indústria cosmética, já que os extratos disponíveis na cor verde escura ou variação intensa da cor verde têm sua aplicação restrita e conseqüentemente um menor valor comercial. Além disso, sabe-se que a remoção ou redução do teor de clorofila e outros pigmentos responsáveis pela coloração escura dos extratos é um fator importante para expandir a aplicação dos extratos e agregar valor ao produto final (Delarcina Junior et al., 2005). Portanto, a utilização de co-solventes neste caso implicaria inevitavelmente em etapas posteriores de refino e purificação dos extratos. Os processos de purificação e remoção de pigmentos descritos na literatura normalmente requerem uma série de etapas físicas e químicas, temperaturas elevadas e materiais onerosos, além de possíveis perdas na recuperação (Beharry et al., 1994; Muralidhara et al., 2002).

Portanto, optou-se por trabalhar com CO₂ puro e aperfeiçoar as condições operacionais de forma a alcançar um rendimento igual ou superior ao obtido através do processo convencional utilizado na indústria, avaliar a co-extração de pigmentos e obter extratos livres de solvente com características que melhor atendam às necessidades do mercado, sem necessitar de etapa adicional de purificação. Desta forma, aproveita-se uma das principais vantagens da tecnologia de extração com fluido supercrítico, que é a obtenção de extratos livres de solvente residual através de uma tecnologia limpa com grande apelo comercial.

4.3 - Extração com CO₂ puro – Avaliação da influência das variáveis de processo

Nesta etapa, um segundo lote de material vegetal foi utilizado. O material vegetal foi preparado de acordo com a metodologia descrita na Seção 3.1.1 e discutida na Seção 4.1 deste capítulo. A caracterização qualitativa não se fez necessária, porque nesta etapa mais informações estavam disponíveis, uma vez que o material já estava sendo utilizado industrialmente. A caracterização química da matéria-prima foi realizada apenas através da

quantificação de espilantol obtido pela extração por refluxo de solvente, método tomado como referência.

O material vegetal foi preparado de forma a obter frações de diâmetros médios maiores que aqueles utilizados nos ensaios preliminares, evitando possíveis problemas de aglomeração e compactação do leito em escala industrial com um material de diâmetro menor. Diâmetros de 0,280 e 0,500 mm (diâmetro médio de Sauter) foram utilizados. As amostras foram submetidas a extrações por refluxo de solvente com etanol para quantificação de espilantol. A porcentagem de espilantol obtida (média de três extrações) e o desvio em relação à média estão apresentados na Tabela 4.3.

Tabela 4.3 - Rendimento de espilantol (% b.s) obtido através de extração por refluxo de solvente em função do diâmetro médio de partícula.

Amostra (d#, mm)	0,280 mm	0,500 mm
% espilantol	0,43 ± 0,063	0,27 ± 0,016

De acordo com os resultados obtidos, este lote de material apresentou uma maior concentração de espilantol que o lote utilizado nos ensaios preliminares. Como discutido anteriormente, estas variações em função da fonte de matéria-prima e de condições edafoclimáticas são esperadas e constantemente relatadas na literatura (Povh e Meireles, 2001; Uquiche e colaboradores, 2005; dentre outros). Este lote de matéria-prima foi utilizado em todos os ensaios apresentados a seguir.

4.3.1 - Diâmetro médio do material

A influência do tamanho médio das partículas na cinética de extração foi analisada através das extrações com dióxido de carbono supercrítico à pressão de 248 bar e temperatura de 40 °C. Para isso as amostras caracterizadas acima, de diâmetros médios 0,280 e 0,500 mm, foram submetidas à extração. Analisando os dados apresentados na Figura 4.4 observa-se que o maior diâmetro (0,500 mm) resultou em menores rendimentos

de extração. Conforme esperado, este resultado mostra que, quanto menor o diâmetro da partícula, mais facilmente o solvente alcança o soluto devido a maior disponibilidade do soluto na superfície e menor resistência a difusão intrapartícula.

O diâmetro de 0,280 mm foi escolhido para todos os ensaios por apresentar uma recuperação de espilantol consideravelmente maior (80%) em relação à obtida com o diâmetro de 0,500 mm (46%). Além disso, uma vez que a amostra é composta por partes aéreas, as amostras de maior diâmetro apresentam maior heterogeneidade. Sabe-se que não apenas o tamanho de partícula, mas a sua distribuição afeta a cinética de extração. O diâmetro escolhido está dentro da faixa de tamanho de partículas usualmente utilizada na extração com fluido supercrítico (Reverchon e de Marco, 2006).

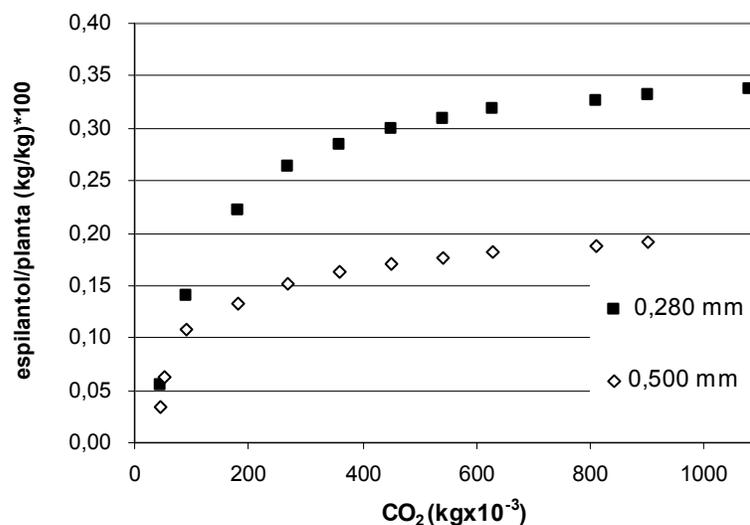
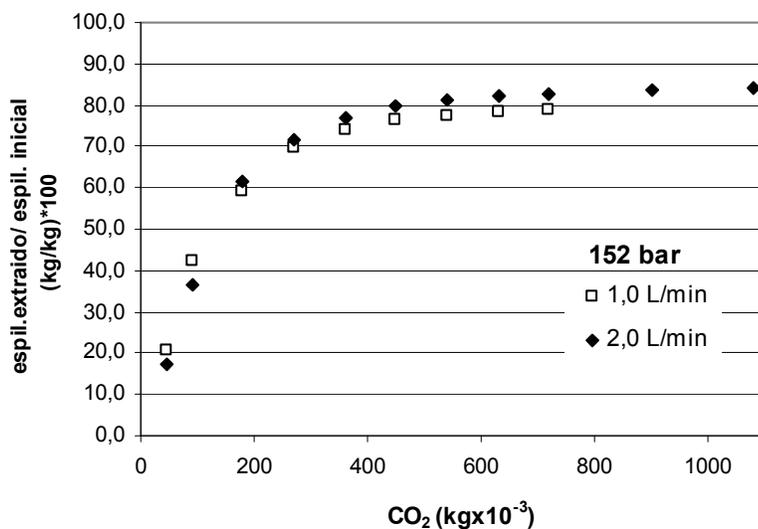


Figura 4.4 – Curva de extração do espilantol em função do diâmetro médio de partícula a 248 bar e 40 °C.

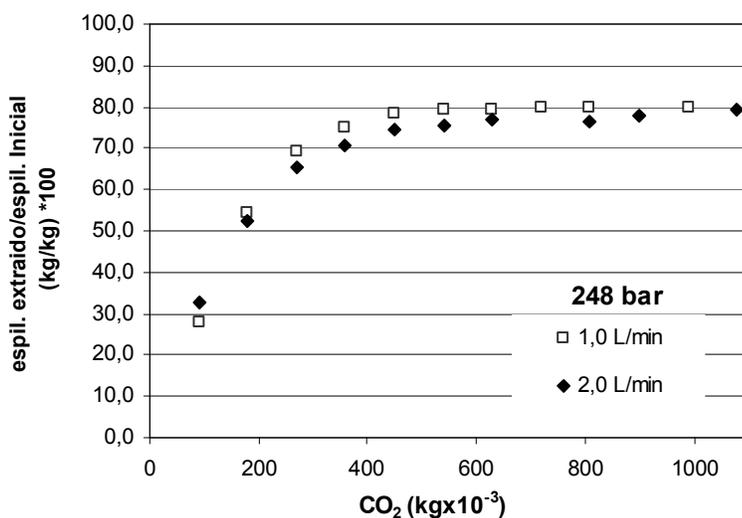
4.3.2 - Vazão

A faixa de vazão analisada, 1,0 a 2,0 L/min, foi determinada com base nas restrições do equipamento, nos trabalhos anteriores utilizando o mesmo sistema (Azevedo, 2005) e em observações experimentais para o sistema estudado. Para vazões maiores que 2,8 L/min observou-se que arraste do material extraído. Além disso, acima desta vazão, para pressões maiores que 200 bar, foram observadas flutuações significativas de pressão durante o experimento.

As Figuras 4.5 (a) e (b) mostra as curvas cinéticas de extração de espilantol presente no material vegetal em função da massa de solvente utilizada a diferentes vazões, para a pressão de 152 bar (a) e 248 bar (b), respectivamente, e temperatura de 40 °C.



(a)



(b)

Figura 4.5 – Influência da vazão de solvente no rendimento de extração de espilantol em função da massa de CO₂: (a) 152 bar, 40 °C e (b) 248bar, 40 °C.

Analisando os resultados apresentados nas Figuras 4.5 (a) e (b), verifica-se que o rendimento de extração de espilantol em função da massa de solvente não é afetado pela vazão do solvente. Isso significa que a transferência do soluto para a fase fluida é rápida o

suficiente mesmo a vazões maiores que 1,0 L/min. Na região controlada pela termodinâmica, primeiro estágio da extração, o aumento de vazão não aumenta significativamente o rendimento, já que a pressão e temperatura são as variáveis (intensivas) que ditam o equilíbrio de fases e, conseqüentemente, a solubilidade do espilantol no CO₂ supercrítico. Portanto, a concentração de soluto na saída é pouco sensível à variação na vazão do solvente, e seu valor deve estar próximo ao da concentração de equilíbrio. Comportamento semelhante foi relatado em diversos trabalhos tais como na extração de l-mentol de folhas de menta (Goto et al., 1993), na extração de cafeína de sementes de guaraná (Saldaña et al, 2002) e na extração de oleoresina de pimenta (Uquiche et al., 2005).

De acordo com os resultados obtidos, a vazão de 2,0 L/min foi escolhida para conduzir os ensaios. Isso permitiu a condução dos experimentos em um menor tempo.

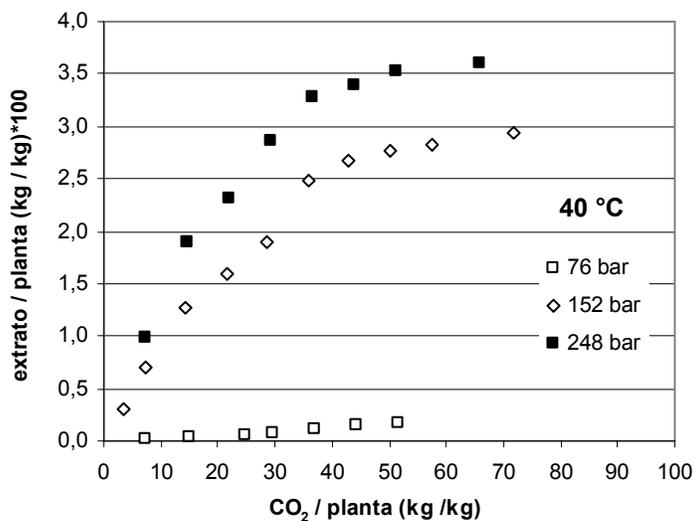
4.3.3 - Pressão e temperatura

Extrações do material com diâmetro médio de 0,280 mm e teor inicial de espilantol de 0,43% foram realizadas com dióxido de carbono supercrítico na faixa de temperatura de 40 a 60 °C e pressões entre 76 e 352 bar. A vazão de CO₂ utilizada em todos os ensaios foi 2,0 L/min (CNTP) ou 6×10^{-5} kg/s. O rendimento global para as extrações com dióxido de carbono supercrítico, bem como o aspecto do extrato, depende das condições operacionais utilizadas na extração. Em todos os ensaios foram alimentadas $12 \pm 0,5$ g de material vegetal seco. Os ensaios foram realizados pelo menos em duplicata e uma boa reprodutibilidade entre os dados foi conseguida. O desvio médio apresentado foi de 3,2% para o rendimento global de extrato e 2,9 % para o rendimento de espilantol. Frações de extrato foram coletadas após a passagem de 50 L de CO₂ nas primeiras 3 horas de extração e 100 L de CO₂ nas horas seguintes. Para alguns ensaios uma coleta inicial a 25 L de CO₂ foi também realizada. Os valores de densidade estimados utilizando a equação de Peng-Robinson em função das condições experimentais avaliadas estão apresentadas na Tabela 4.4 e os resultados obtidos são discutidos em seqüência.

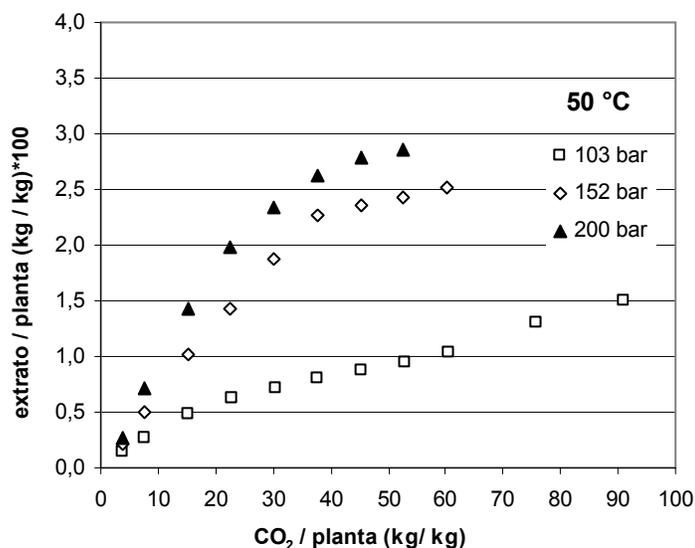
Tabela 4.4 - Condições experimentais de extração de espilantol com CO₂ supercrítico.

T (°C)	P (bar)	Densidade (kg/m ³)
40	76	244,30
40	152	750,55
40	248	883,43
40	352	963,71
50	103	405,92
50	152	660,13
50	200	762,35
50	352	920,63
60	152	566,22
60	248	770,87
60	352	876,96

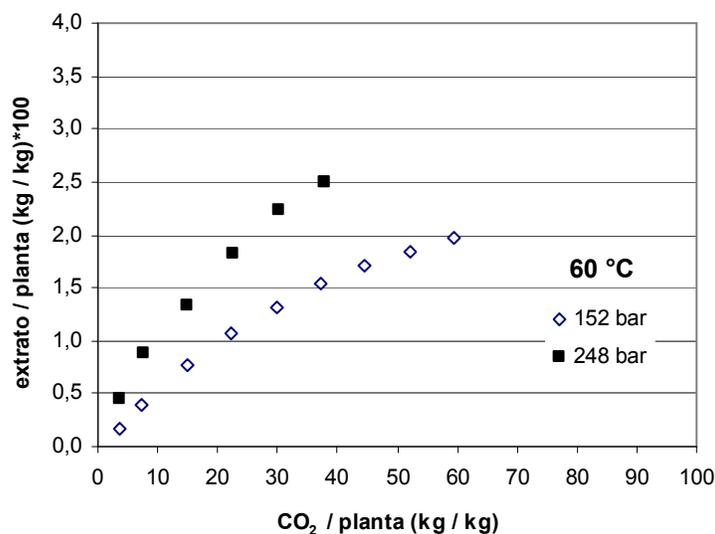
Como pode ser observado nas curvas de extração apresentadas nas Figuras 4.6 (a), (b) e (c), incrementos na pressão à temperatura constante resultaram em maiores rendimentos de extrato (massa de extrato por massa de planta seca) em todas as temperaturas avaliadas: (a) 40 °C; (b) 50 °C e (c) 60 °C.



(a)



(b)



(c)

Figura 4.6 - Curvas de extração global utilizando CO₂ supercrítico: (a) 40 °C; (b) 50 °C e (c) 60 °C.

Em geral, incrementos na pressão à temperatura constante favorecem a extração devido ao aumento da densidade e conseqüentemente do poder de solubilização do solvente. O efeito da densidade pode ser facilmente avaliado. Para as isotermas de 50 °C (Figura 4.6 (b)), 125 minutos de extração, correspondente a aproximadamente 37 kg CO₂

/kg planta, o rendimento em extrato obtido foi 0, 80, 2,27 e 2,63% a pressões de 103, 152 e 200 bar, respectivamente. Portanto, um acréscimo na pressão de 103 para 152 bar (acrécimo de 49 bar) acarretou um aumento no rendimento global de extrato de 84%. Já o acréscimo na pressão de 152 para 200 bar (acrécimo de 48 bar) resultou em um aumento no rendimento global de extrato de apenas 16%. Essa diferença no rendimento para uma mesma variação na pressão pode ser explicada em função da densidade do gás nestas condições. A variação na densidade torna-se menos acentuada à medida que a pressão se afasta da pressão crítica, como discutido na Seção 2.4.1. O aumento na pressão de 103 para 152 bar a 50 °C resulta em uma variação de densidade de 254,22 kg/m³, enquanto que o aumento na pressão de 152 para 200 bar a 50 °C resulta em uma menor variação de densidade (102,22 kg/m³), o que pode ser visualizado na Tabela 4.4. O mesmo comportamento é observado nas demais temperaturas.

A influência da densidade pode ser identificada também na Figura 4.7, que representa a solubilidade aparente do extrato, obtida através da inclinação da primeira região da curva de extração, em função da densidade do solvente.

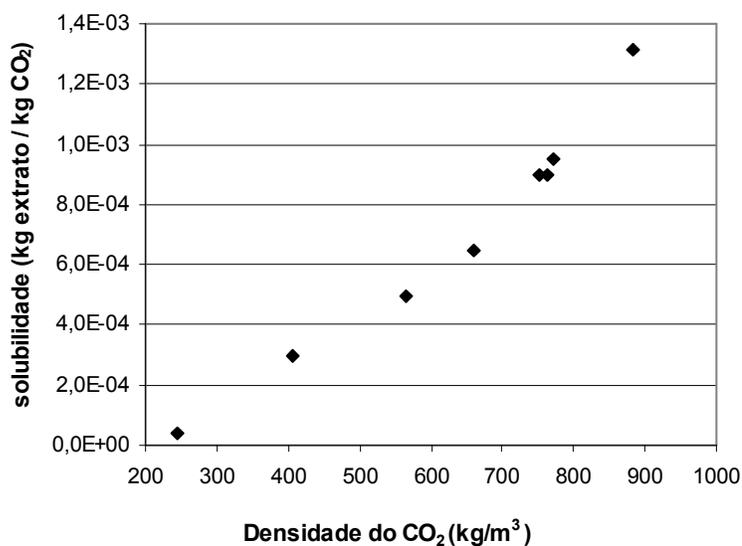
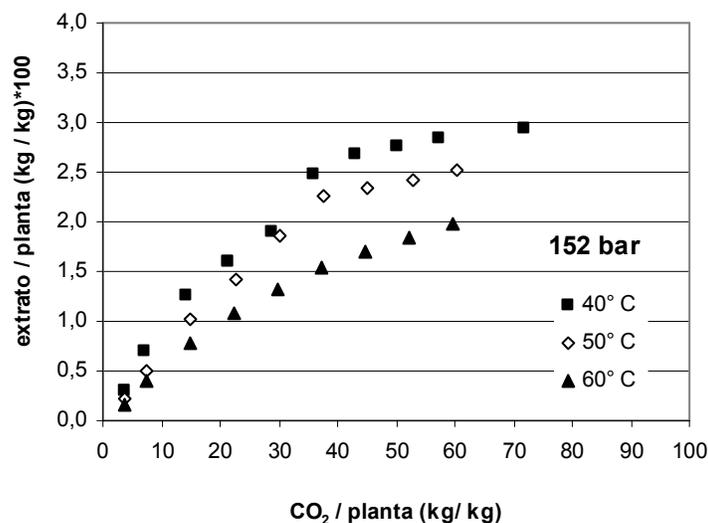
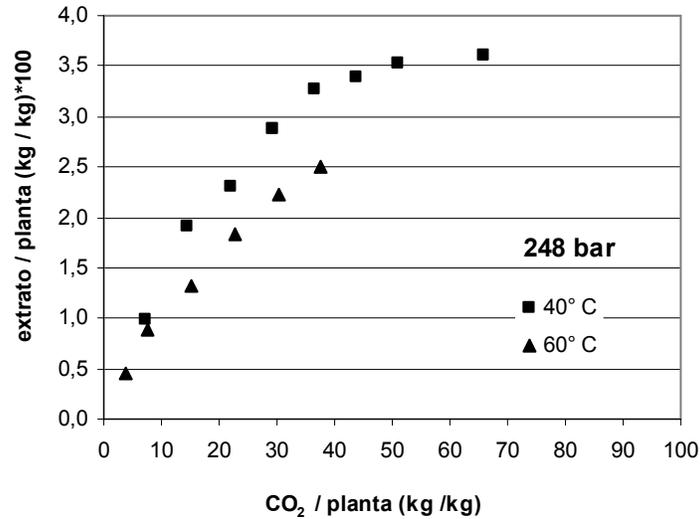


Figura 4.7 - Solubilidade aparente do extrato em função da densidade do CO₂.

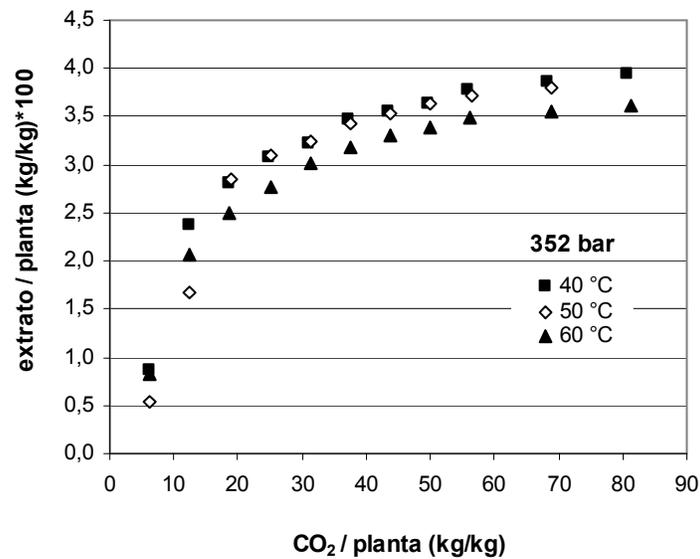
Como esperado, o aumento na solubilidade corresponde ao aumento na densidade do solvente. Resultados semelhantes são relatados por diversos autores, como Sábio et al. (2003) na extração de licopeno e Azevedo (2005) na extração de óleo de café.

O efeito da temperatura, à pressão constante, sobre o rendimento global de extrato pode ser analisado através das Figuras 4.8 (a), (b) e (c). O rendimento global de extrato diminui com o aumento da temperatura nas condições avaliadas, sendo que o efeito da temperatura torna-se menos pronunciado a maiores pressões. Para a isobárica de 152 bar em 125 minutos de extração, correspondente a aproximadamente 37 kg CO₂/kg planta, o rendimento em extrato obtido a 40 °C foi de 2,48%. Ao elevar esta temperatura para 60 °C o rendimento em extrato foi de 1,55%, uma queda de 37,5% no rendimento. Enquanto que à pressão de 248 bar, o incremento na temperatura de 40 °C para 60 °C resultou em uma queda no rendimento de 23%. Considerando o erro experimental, não foram observadas diferenças significativas no rendimento global à pressão de 352 bar para temperaturas de 40, 50 e 60 °C. Os dados indicam, portanto, que dentro das faixas de temperatura e pressão estudadas, a pressões elevadas a temperatura passa a ter menor influência no comportamento de solubilidade.

**(a)**



(b)



(c)

Figura 4.8 - Curvas de extração global utilizando CO₂ supercrítico: (a) 152 bar, (b) 248 bar e (c) 352 bar.

A redução observada no rendimento com o aumento da temperatura caracteriza o comportamento retrógrado comumente encontrado nos sistemas de extração supercrítica. Embora o aumento da temperatura, à pressão constante, resulte num aumento da pressão de vapor do soluto, o efeito predominante observado nos resultados acima é a redução da densidade e, conseqüentemente, do poder de solubilização do solvente supercrítico, com o

aumento da temperatura. A menor influência da temperatura a 352 bar está relacionada às menores variações na densidade com a temperatura a esta pressão que aquelas ocorridas a 152 bar, por exemplo. Portanto, este comportamento pode ser um indicativo da proximidade do fim da região retrógrada. Esta hipótese é reforçada analisando as isotermas de rendimento global de extrato obtido em função da pressão (Figura 4.9). Os rendimentos utilizados na construção da Figura 4.9 referem-se aos rendimentos obtidos no final do período de taxa de extração constante. É possível verificar na figura a convergência das três isotermas em torno de 350 bar, indicando a proximidade do ponto de cruzamento (“crossing-over”), onde o efeito da pressão de vapor do soluto compensa o decréscimo na solubilidade causado pela redução da densidade do fluido supercrítico na maior temperatura. Os resultados sugerem que a partir deste ponto, a solubilidade passa a ter um comportamento típico com a temperatura, isto é, a solubilidade aumenta com o aumento da temperatura.

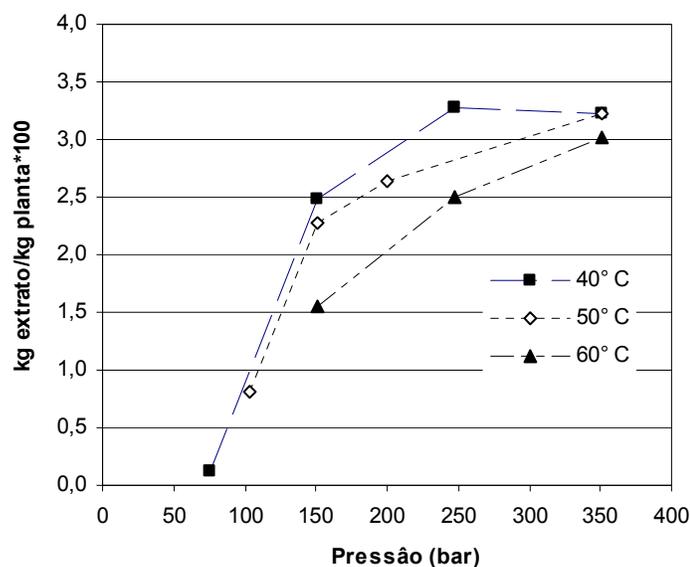
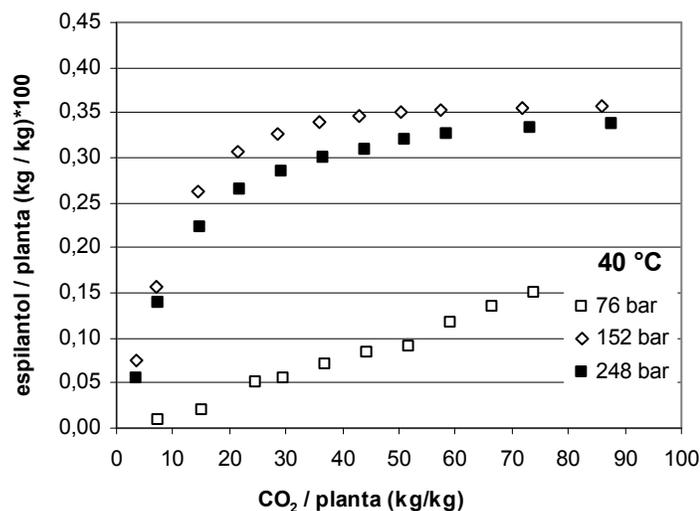


Figura 4.9 - Isotermas de rendimento global em extrato em função da pressão.

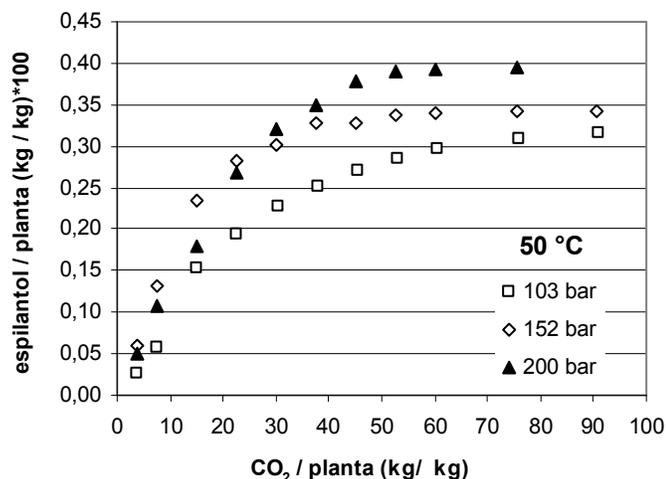
Comportamentos similares foram apresentados por Simándi e colaboradores (2002) na extração de dente-de-leão, por Quispe-Condori e colaboradores (2004) na extração de *Artemisia annua* L. e por Azevedo (2005) na extração de óleo de café. Entretanto, as pressões de cruzamento variaram para os diferentes sistemas, o que era esperado, já que a pressão de cruzamento é uma propriedade característica do sistema soluto-solvente (Foster et al., 1991).

A Figura 4.9 ainda sugere a pressão de cruzamento inferior próxima a 100 bar. No entanto, mais dados experimentais seriam necessários para verificar a ocorrência do ponto de cruzamento nesta região. Segundo Foster e colaboradores (1991) muitas vezes esta pressão de cruzamento inferior não é observada devido exatamente à escassez ou imprecisão de dados experimentais na vizinhança da pressão crítica do solvente. Comportamentos diferentes também podem ser encontrados. Três pontos de cruzamento foram observados para o sistema CO₂ + manjeriço (Leal et al., 2004). O resultado é atribuído à complexidade da composição química dos extratos vegetais.

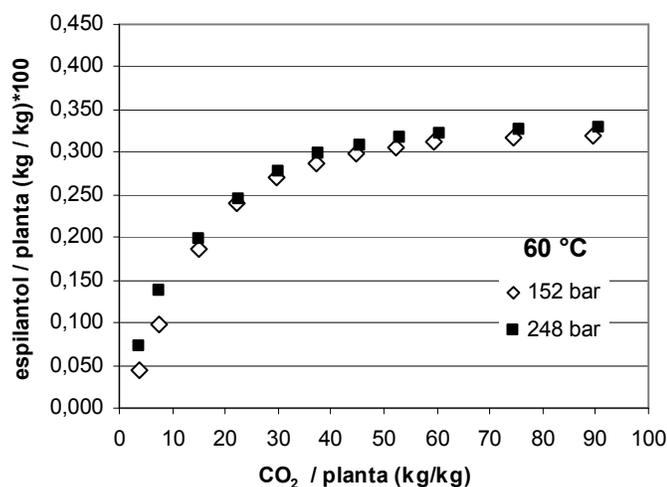
A quantidade de espilantol recuperada em cada fração de extrato foi determinada como descrito na Seção 3.4.3. O resultado em termos de rendimento de espilantol requer uma análise mais detalhada que os resultados em termos de extrato. As curvas de extração de espilantol em função da massa de solvente por massa de planta seca obtidas a 40, 50 e 60 °C são mostradas nas Figuras 4.10 (a), (b) e (c). A menor distância entre as isobáricas apresentadas para o espilantol sugere, a princípio, que a pressão, à temperatura constante, tem menor influência sobre o rendimento de espilantol do que sobre o rendimento de extrato. Isto pode ser verificado comparando as Figuras 4.6 e 4.10.



(a)



(b)



(c)

Figura 4.10 - Curvas de extração de espilantol utilizando CO₂ supercrítico:

(a) 40 °C, (b) 50 °C e (c) 60 °C.

A Figura 4.10 (c) mostra o efeito da pressão na extração de espilantol a 60 °C. Não houve diferença significativa entre os rendimentos obtidos a 152 e 248 bar. Portanto, o aumento da densidade de 566,22 kg/m³ (152 bar, 60 °C) para 770,87 kg/m³ (248 bar, 60 °C) não resultou em melhores rendimentos de espilantol. Já a 50 °C, incrementos na pressão e conseqüentemente na densidade favoreceram a extração. Embora, a taxa de

extração no período inicial, caracterizada pela inclinação da curva, parece ser ligeiramente maior a 152 bar que a 200 bar (Figura 4.10 (b)). Comparando as curvas de extração de espilantol obtidas a 40 °C, na Figura 4.10 (a), observa-se que o aumento da densidade favoreceu a extração de espilantol quando a pressão foi elevada de 76 bar (244,3 kg/m³) para 152 ou 248 bar. Por outro lado, o aumento da densidade teve um efeito negativo sobre o rendimento de espilantol quando a pressão foi elevada de 152 bar (750,55 kg/m³) para 248 bar (883,43 kg/m³), semelhante àquele observado no primeiro período de extração quando elevou-se a pressão de 152 (660,13 kg/m³) para 200 bar (762,35 kg/m³) a 50 °C. Estes resultados indicam que densidades maiores, acima de 750 kg/m³, por exemplo, não favorecem a extração de espilantol, provavelmente devido à competição que ocorre entre os diversos solutos presentes na matriz vegetal. Portanto, os resultados sugerem a existência de uma densidade ou faixa de densidade ótima para a extração de espilantol. Para melhor visualizar estes efeitos o rendimento de espilantol em função da densidade é mostrado na Figura 4.11.

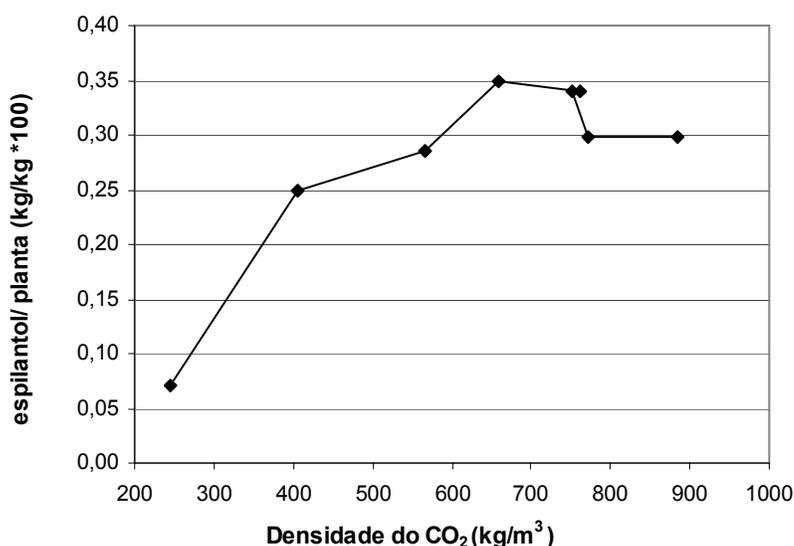


Figura 4.11 - Rendimento de espilantol em função da densidade do CO₂.

Através desta figura observa-se claramente que o rendimento de espilantol aumenta com o aumento da densidade até um valor de aproximadamente 660 kg/m³, mantem-se praticamente constante até 750 kg/m³ e a partir desta densidade o rendimento diminui. Variação no rendimento de espilantol não foi observada para densidades entre 770,87 e 883,43 kg/m³. Uma vez que o rendimento global de espilantol obtido no final da

extração tende a convergir para valores entre 0,30 e 0,35%, os rendimentos considerados nesta análise foram aqueles obtidos com 125 minutos de extração ou aproximadamente 37 kg CO₂/ kg planta, o que corresponde a primeira e segunda região na curva de extração de espilantol.

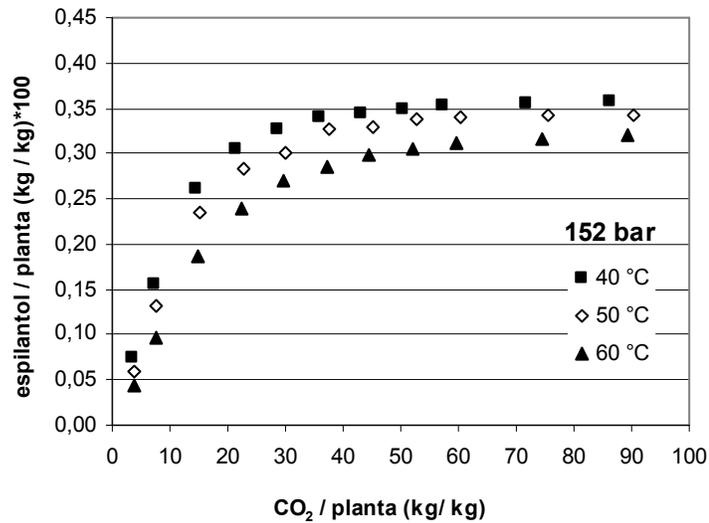
Por outro lado, como analisado anteriormente, densidades maiores favorecem o rendimento em extrato. Portanto, este comportamento pode ser associado com a composição da mistura extraída, uma vez que o aumento da pressão a uma dada temperatura resulta no aumento do poder de solubilização do solvente supercrítico possibilitando a extração de outros compostos preferencialmente em relação ao espilantol. O aumento da co-extração de compostos de alta massa molecular a altas pressões é citado por Reverchon (1997). Resultados similares são apresentados na literatura. Kopcak (2003) avaliou a influência da pressão, na faixa de 179 a 300 bar, na extração de cafeína de sementes de guaraná com CO₂ supercrítico e etanol como co-solvente à temperatura de 70 °C. A melhor recuperação de cafeína, segundo o estudo, foi obtida com a menor pressão. Rodrigues e colaboradores (2003), estudando a extração de óleo de sementes de anis com CO₂ supercrítico em pressões entre 80 bar e 180 bar a 30 °C, obtiveram uma solubilidade máxima do óleo a 100 bar, enquanto que o rendimento de extrato aumentou com a pressão.

Uma curva de rendimento em função da densidade, semelhante à apresentada na Figura 4.11, foi obtida para a extração de *cis*-β-caroteno de *Mentha spicata* L. com CO₂ supercrítico a 50 °C, por Gómez-Pietro e colaboradores (2007). O rendimento máximo de *cis*-β-caroteno foi obtido a uma densidade de CO₂ supercrítico entre 650 e 750 kg/m³. No entanto, os autores não atribuem, a princípio, este resultado à menor seletividade, mas sim a uma possível degradação do material, já que o mesmo comportamento não foi observado para o isômero *trans*- β-caroteno.

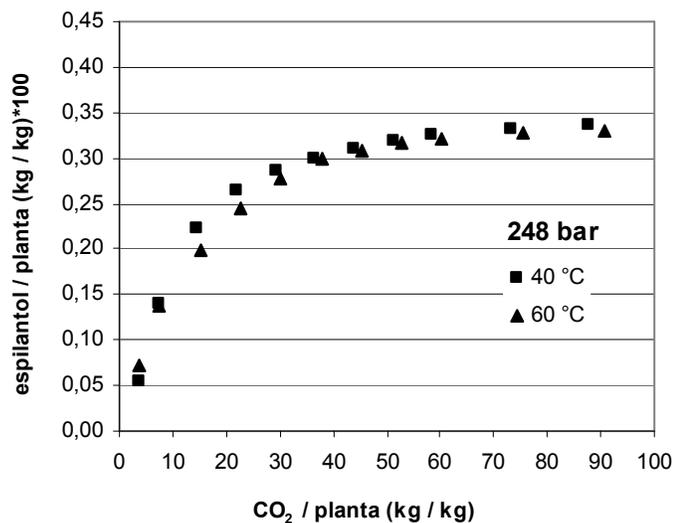
O efeito da temperatura, à pressão constante, sobre o rendimento de espilantol é similar ao observado para os extratos. O rendimento de espilantol, assim como obtido para o extrato, diminui com o aumento da temperatura nas condições avaliadas, sendo que o efeito da temperatura torna-se menos pronunciado a maiores pressões. A influência da temperatura pode ser analisada através das Figuras 4.12 (a), (b) e (c).

Para a isobárica de 152 bar em 125 minutos de extração, correspondente a aproximadamente 37 kg CO₂/kg planta, o rendimento em espilantol obtido a 40 °C foi de

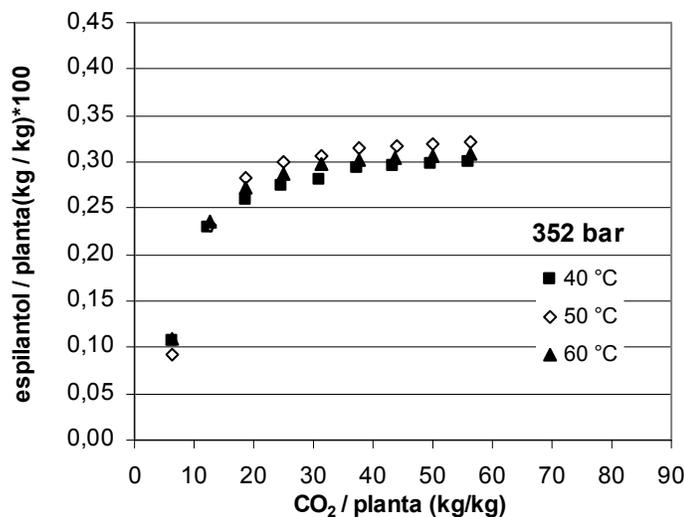
0,34%. Ao elevar esta temperatura para 60 °C o rendimento em extrato foi de 0,29%, uma queda de aproximadamente 15% no rendimento. Já à pressão de 248 bar e 352 bar, considerando o erro experimental, não houve diferença significativa quando a temperatura foi elevada de 40 para 60 °C. Os resultados sugerem que o término da região retrógrada para o espilantol ocorre em uma pressão inferior àquela observada para o extrato. Portanto, como realizado para o extrato, o rendimento de espilantol foi analisado em função da pressão de extração (Figura 4.13). Entretanto, a ausência de dados experimentais na condição intermediária de temperatura (50 °C) para a pressão de 248 bar impede, a princípio, a confirmação desta hipótese.



(a)



(b)



(c)

Figura 4.12 - Curvas de extração de espilantol utilizando CO₂ supercrítico: (a) 152 bar, (b) 248 bar e (c) 352 bar.

Vale ressaltar que os rendimentos utilizados na construção da Figura 4.13 referem-se aos rendimentos obtidos com aproximadamente 37 kg CO₂/kg planta. Embora este valor não corresponda necessariamente ao período de taxa de extração constante de espilantol, ele foi mantido para facilitar a comparação entre os valores de rendimentos de extrato e de espilantol.

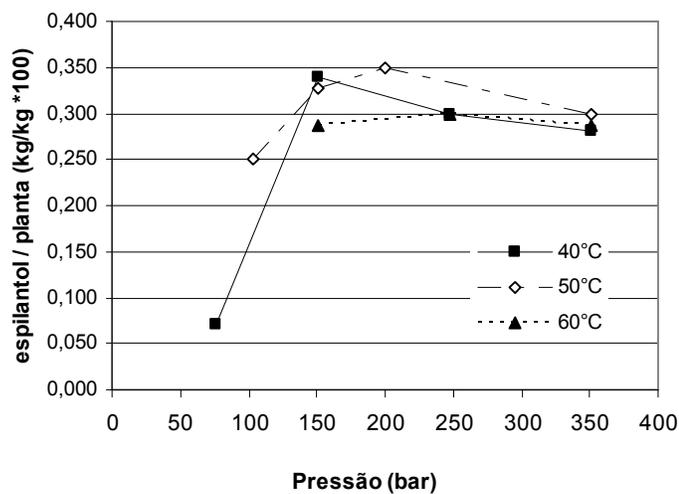


Figura 4.13 - Isotermas de rendimento de espilantol obtido com 37 kg CO₂/kg planta em função da pressão.

Rendimentos de espilantol a 248 bar e 50 °C foram obtidos utilizando o primeiro lote de planta com teor de 0,25% de espilantol (ensaios preliminares). Um rendimento de espilantol de 0,17% foi obtido com 37 kg CO₂/kg planta, o que corresponde a uma recuperação de 68% da quantidade inicial de espilantol. Os pontos de cruzamento das isotermas de 40° e 60 °C à pressão de 248 bar, mostrados na Figura 4.13 ocorrem a um rendimento de espilantol de 0,29%, que corresponde a exatamente 68% de recuperação do espilantol presente inicialmente no segundo lote do material vegetal. Com base nesta observação, os dados obtidos nos ensaios preliminares foram utilizados para estimar o rendimento de espilantol a 248 bar e 50 °C e foi inserido na Figura 4.13, resultando na Figura 4.14, na qual o símbolo asterisco (*) refere-se ao valor estimado para o rendimento de espilantol.

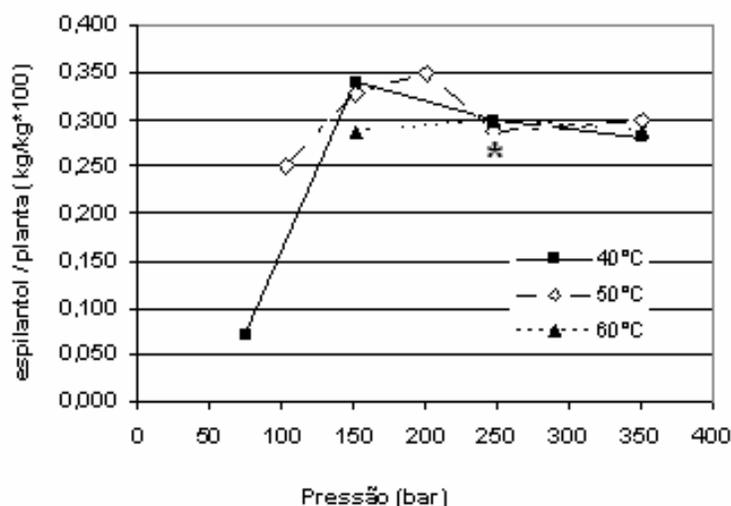


Figura 4.14 - Isotermas de rendimento de espilantol obtido com 37 kg CO₂/kg planta em função da pressão (* valor estimado através dos ensaios preliminares).

O comportamento observado na Figura 4.14 reforça aqueles obtidos nas Figuras 4.12 (b) e (c), isto é, que o término da região retrógrada para o espilantol ocorre em uma pressão inferior àquela observada para o extrato, uma vez que a partir de 248 bar não foi observada influência da temperatura sobre o rendimento de espilantol. Este comportamento é mantido até a pressão de 352 bar. Pressões acima de 352 bar não foram avaliadas.

Das curvas de extração apresentadas para o extrato e para o espilantol pode-se obter o rendimento global de extrato e o rendimento global de espilantol, respectivamente,

isto é, a quantidade máxima de extrato ou de espilantol que pode ser obtida a partir da matéria-prima a uma dada condição de processo.

A partir dos rendimentos de extrato e rendimentos de espilantol obtidos com CO₂ supercrítico e da quantidade de espilantol presente inicialmente no material vegetal, pode-se obter o rendimento do processo de extração supercrítica e a pureza relativa dos extratos em função do tempo de extração ou da massa de CO₂ utilizada, como descritos a seguir.

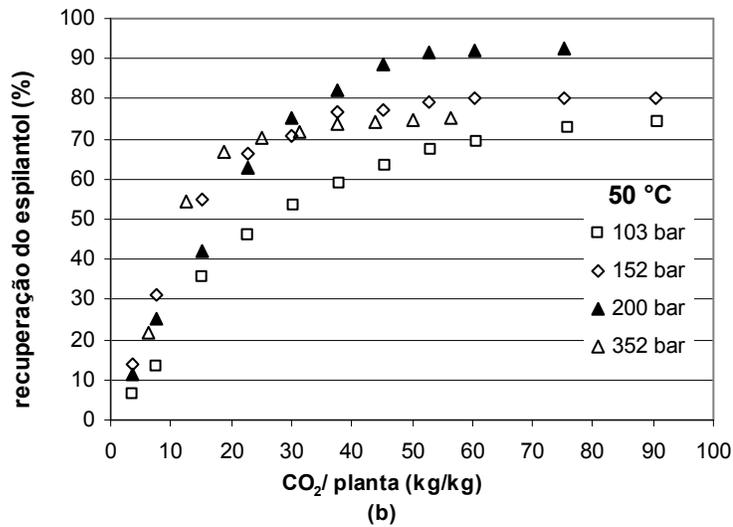
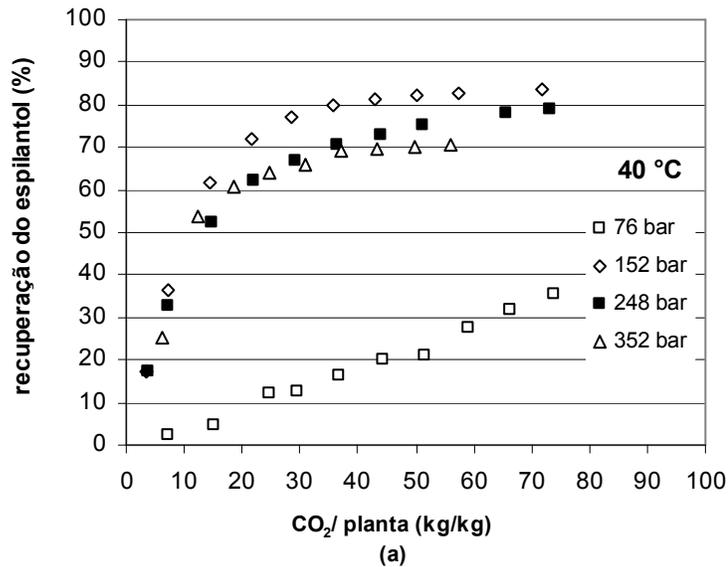
4.3.4 - Recuperação do espilantol

O termo recuperação do espilantol utilizado neste trabalho refere-se à razão entre a massa de espilantol precipitada após expansão do CO₂ supercrítico em cada condição de processo e a massa presente inicialmente no material vegetal (Tabela 4.3), obtida através do processo de extração por refluxo de solvente e quantificada por CLAE. A recuperação do espilantol é, portanto, uma medida do rendimento de processo com CO₂ supercrítico em relação ao processo tomado como referência.

A porcentagem de espilantol extraído em função da massa de CO₂ por massa de planta é mostrada nas Figuras 4.15 (a), (b) e (c). Com exceção das pressões mais baixas utilizadas neste trabalho (76 e 103 bar) verifica-se que em geral, para as demais condições utilizadas, 70 a 80% do espilantol inicialmente presente no material vegetal foram extraídos com aproximadamente 37 kg CO₂/ kg planta. Este volume de solvente corresponde ao primeiro período de extração, ou seja, à região com taxa de extração constante para os extratos e ao primeiro e segundo períodos para o espilantol. A análise com base na curva cinética dos extratos deve-se ao fato que o espilantol está presente em baixas concentrações no material vegetal e, portanto, o extrato é mais representativo do sistema, ao invés do espilantol.

Um aumento de 50% na massa de CO₂ por massa de planta, isto é um aumento de 37 kg/kg para 54 kg/kg resultou em acréscimos no rendimento de espilantol de apenas 3%, 5% e 1,6% para as condições 152 bar e 40 °C, 248 bar e 40 °C e 352 bar e 40 °C, respectivamente. Incrementos de 4% e 1,6% no rendimento foram obtidos a 152 bar e 50 °C e 352 bar e 50 °C. Na temperatura de 60 °C incrementos de 4,8%, 4,0% e 1,3% foram obtidos a 152 bar, 248 bar e 352 bar, respectivamente. Portanto, a partir deste ponto o aumento no rendimento é pouco significativo e as curvas assumem um comportamento

assintótico. Aumentos maiores são obtidos para as condições de 103 e 200 bar a 50 °C. Nestas condições, aumento de aproximadamente 9% no rendimento é obtido com o aumento na massa de CO₂ de 37 para 54 kg/kg. Já a 76 bar, embora o aumento seja apenas de 5%, o comportamento assintótico não foi observado devido a menor taxa de extração apresentada nesta condição. Portanto, dentre as condições avaliadas, a condição de extração de 200 bar e 50 °C foi a que apresentou o rendimento máximo em espilantol correspondente a uma recuperação de mais de 90% da quantidade inicialmente presente no material vegetal.



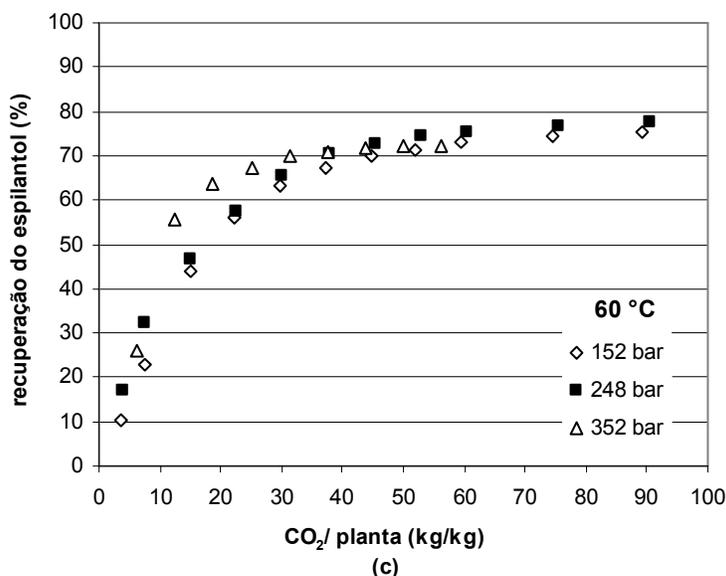


Figura 4.15 - Recuperação do espilantol em função da pressão e temperatura: (a) 40 °C, (b) 50 °C e (c) 60 °C.

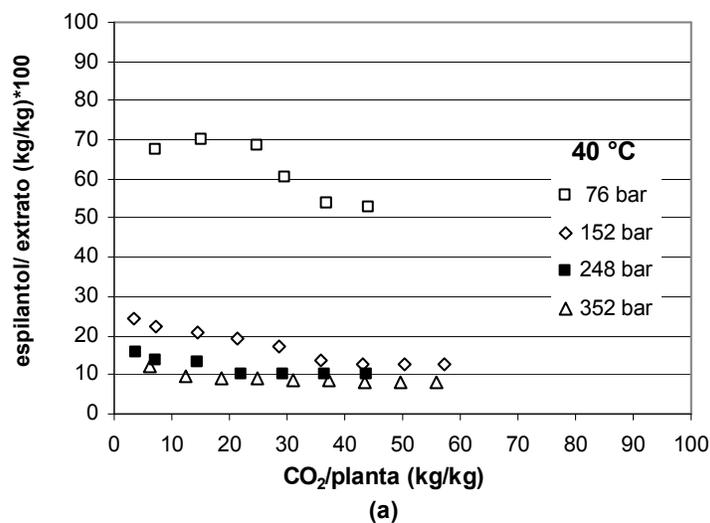
No entanto, não apenas a porcentagem de recuperação é importante na escolha da melhor condição operacional. Fatores como a massa de extrato obtida, que determinará juntamente com a massa de espilantol extraída a pureza relativa do extrato, e aspectos qualitativos, tais como a coloração do extrato, podem ser decisivos na escolha da melhor ou melhores condições de extração. Dependendo da qualidade final dos extratos, etapas posteriores de concentração e purificação podem ser requeridas. Sendo assim, além da quantidade recuperada de espilantol, cada fração de extrato obtida foi avaliada quanto à fração mássica de espilantol e o aspecto físico do extrato.

4.3.5 - Fração mássica de espilantol nos extratos

A fração mássica de espilantol presente no extrato foi determinada através da razão entre a massa de espilantol e a massa de extrato presente em cada amostra coletada. Essa razão permite avaliar a pureza relativa do extrato obtido em cada condição estudada e a seletividade do solvente relativa ao espilantol. A fração mássica de espilantol é uma função das variáveis de processo. Durante o processo de extração, a fração mássica de espilantol decresce como pode ser observado nas Figuras 4.16 (a), (b) e (c). Isso indica que no início da extração as amostras possuem uma concentração mássica de espilantol maior e com o prosseguimento da extração outros compostos são extraídos. Em geral, as variações

na fração mássica com o tempo são similares para a maioria das condições avaliadas e extratos com concentrações mássicas em torno de $13 \pm 5 \%$ em espilantol são obtidos no final do período de extração avaliado. Comportamento diferente e extratos mais ricos em espilantol foram obtidos com densidades de solvente menores, isto é, densidade igual a 244,30 e 405,92 kg/m^3 referentes às condições de 76 bar e 40 °C e 103 bar e 50 °C, respectivamente. O aumento da densidade resulta em um maior rendimento de extrato, como discutido anteriormente (Figura 4.7), mas não necessariamente em um maior rendimento de espilantol (Figura 4.11).

Portanto, para maiores densidades de solvente ocorre um aumento na co-extração de outros compostos. Resultados experimentais obtidos no estudo de extração de óleos essenciais mostram que para temperaturas de extração entre 40 e 50 °C e pressões iguais ou menores que 100 bar, compostos de maior massa molecular geralmente não são co-extraídos (Reverchon, 1997). Isso explica, juntamente com os resultados obtidos neste trabalho, as maiores concentrações mássicas de espilantol obtidas nas condições de menor densidade do solvente supercrítico.



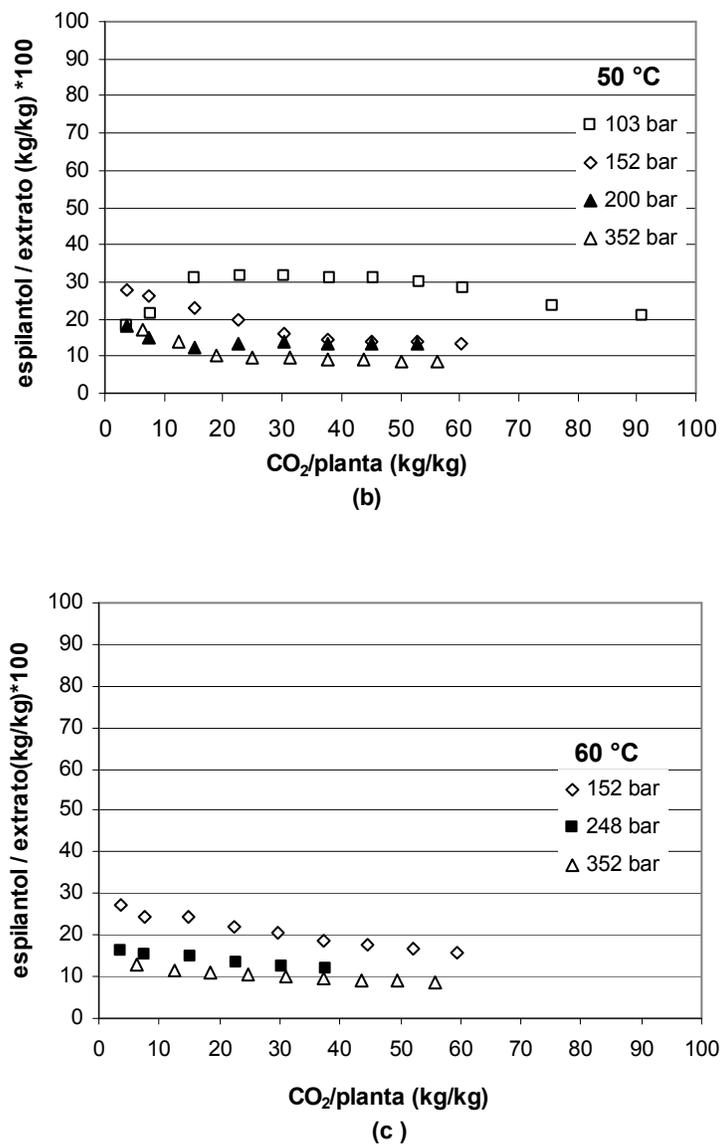


Figura 4.16 – Fração mássica de spilantol em função da temperatura, pressão e massa de CO₂: (a) 40 °C, (b) 50 °C e (c) 60 °C.

A concentração mássica de spilantol nos extratos obtida após 125 minutos de extração, correspondente a aproximadamente 37 kg CO₂/kg planta, está resumida na Tabela 4.5.

Tabela 4.5 - Fração mássica de espilantol nos extratos em função da densidade.

T (°C)	P (bar)	Densidade (kg/m ³)	Espilantol/ extrato (g/g) (%)
40	76	244,30	53,8
40	152	750,55	13,7
40	248	883,43	9,9
40	352	963,71	8,5
50	103	405,92	31,1
50	152	660,13	14,4
50	200	762,35	13,3
50	352	920,63	9,2
60	152	566,22	18,5
60	248	770,87	11,9
60	352	876,96	9,5

A concentração mássica de espilantol presente nos extratos comerciais já purificados e concentrados está em torno de 16%. Uma concentração mássica de 28% em espilantol é conseguida através de um processo de extração com hexano e metanol seguido de etapas de purificação, segundo relatado no documento PI0500886-7 (Delarcina-Junior et al., 2005). Portanto, os resultados conseguidos neste trabalho são satisfatórios considerando que o extrato final é obtido em uma única etapa, sem a necessidade de processos posteriores de purificação e concentração e sem utilização de solventes tóxicos.

Análises por cromatografia gasosa – espectrometria de massa (CG-EM) também foram conduzidas para os extratos obtidos a 103 bar e 50 °C e os extratos obtidos a 200 bar e 50 °C. De um modo geral, as análises mostraram a presença de dois picos predominantes, um deles sendo o espilantol, confirmado através do espectro de massa, e o segundo pico relativo a um hidrocarboneto de cadeia longa contendo uma insaturação, identificado como 1-trideceno. Os espectros indicam um extrato constituído principalmente por material graxo e espilantol, confirmando os resultados obtidos, inicialmente, por RMN. O espectro para o extrato obtido a 103 bar e 50 °C é mostrado na Figura 4.17.

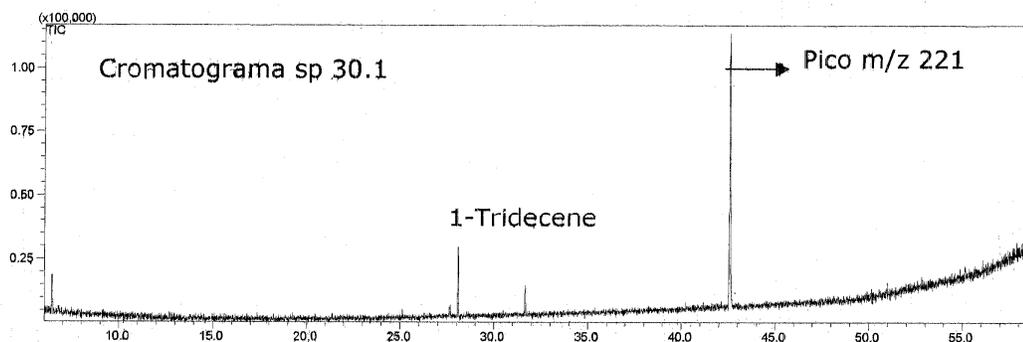


Figura 4.17 – Espectro de massa para o extrato obtido a 103 bar e 50 °C.

Além do rendimento do processo e da concentração de ativo presente no extrato final, outro fator de grande importância que deve ser considerado na escolha da melhor ou melhores condições de processo, e que foi avaliado neste trabalho, é o aspecto final do extrato. Como já mencionado, o aspecto do extrato é um fator comercial de grande importância e a cor é um atributo de grande valor mercadológico, sobretudo na indústria cosmética, já que os extratos comerciais disponíveis na cor verde escura ou variação intensa da cor verde têm sua aplicação restrita e conseqüentemente um menor valor comercial. Sabe-se que a remoção ou redução do teor de clorofila e outros pigmentos responsáveis pela coloração escura dos extratos é um fator importante para expandir a aplicação dos extratos e agregar valor ao produto final (Delarcina-Junior et al., 2005).

A aparência dos extratos, assim como a concentração mássica de espilantol, depende da condição operacional utilizada na extração. Os extratos apresentaram coloração variando de amarelo pálido a amarelo claro para as extrações realizadas nas menores densidades. A intensidade da cor aumentou com o aumento da densidade, obtendo-se algumas frações levemente acastanhadas e verdes para condições de maior densidade. O escurecimento na coloração dos extratos reforça a menor seletividade do CO₂ supercrítico em relação ao espilantol nessas condições. Em determinadas condições operacionais, a coloração do extrato também sofreu alteração com o tempo de extração. As primeiras frações obtidas a 248 bar e 40 °C, por exemplo, foram levemente esverdeadas. A partir da quarta fração, correspondente a 100 minutos de extração, as frações tiveram uma coloração verde intensa. Nas frações obtidas a 352 bar houve predominância de tons castanhos e verdes, independente da temperatura e do tempo de extração. O aumento da densidade

favorece o aumento de extração de clorofila (Vági et al., 2002; Macías-Sanchez et al., 2005). Em nenhuma condição estudada a cor foi tão escura quanta aquelas obtida no processo de maceração em hexano ou por refluxo de solvente utilizando etanol ou utilizando CO₂ supercrítico adicionado de co-solventes. Todas as condições analisadas neste trabalho resultaram em extratos muito mais claros que aquele atualmente produzido no Brasil. Resultados semelhantes são citados no estudo da extração de piretrina a partir de extrato hexânico (Kiriamiti et al., 2003) e na extração de artemisinina (Quispe-Condori et al., 2005).

Portanto, para estabelecer a melhor ou melhores condições operacionais para o processo de obtenção de espilantol de extrato de jambu, os seguintes fatores foram estudados: o rendimento da extração, a porcentagem de recuperação do espilantol a partir da matriz vegetal, a concentração mássica do espilantol no extrato, e o aspecto final do extrato obtido. Estes fatores são considerados para a determinação das melhores condições de processo para obtenção de espilantol da planta jambu visando a sua aplicação, sobretudo, na indústria cosmética.

Do ponto de vista do rendimento do processo em termos de recuperação de espilantol, dentre as condições estudadas, a pressão de 200 bar e 50 °C foi a que apresentou melhor rendimento (90%). A pureza relativa do extrato obtido nesta condição (13%) é também satisfatória. No entanto, nesta condição ocorre um escurecimento da cor do extrato com o decorrer da extração. Portanto, a possibilidade de interromper a extração para evitar a co-extração de materiais indesejáveis pode ser considerada, caso a cor do produto limite a sua aplicação. Por outro lado, deve haver um tempo ótimo de extração no qual a matéria-prima não seja subutilizada e a taxa de recuperação não seja tão baixa.

Em termos de pureza relativa, a maior concentração mássica de espilantol no extrato foi obtida a 76 bar e 40 °C (50% em espilantol). No entanto, esta condição foi a que apresentou a menor recuperação de espilantol, apenas 16%. Uma vez que o espilantol é um princípio ativo de alto valor comercial, uma pureza relativa elevada pode justificar um menor rendimento global. Por outro lado, a taxa de extração nesta condição é baixa e um tempo muito longo de extração pode ser requerido. Tempos maiores de extração implicam em maior ocupação do equipamento e um número menor de ciclos de extração, o que impacta o custo final do extrato.

Um bom equilíbrio entre rendimento, pureza relativa e aspecto final do extrato foi obtido utilizando densidades intermediárias, isto é, entre 400 e 750 kg/m³. Os resultados indicam que mais de uma condição operacional pode ser utilizada de maneira satisfatória na obtenção de extrato de jambu. Mais especificamente, os resultados indicam que há uma faixa de densidade mais conveniente para atender os fatores mais relevantes tais como rendimento (extrair a maior quantidade de extrato e/ou composto alvo), produtividade (utilizar o menor tempo de operação possível) e seletividade (extrair preferencialmente a substância de interesse). Portanto, a decisão técnica deve ser suportada por uma avaliação financeira, já que além dos fatores mencionados, variáveis como a cinética de extração, a pressão e a temperatura podem afetar o custo de manufatura.

CAPÍTULO 5: ESTUDO DA VIABILIDADE FINANCEIRA

Neste capítulo é apresentado um estudo preliminar de viabilidade financeira do processo de obtenção do extrato de jambu com dióxido de carbono supercrítico. Devido ao potencial de uso do extrato de jambu em diversas formulações cosméticas, alimentícias e farmacêuticas e ao fato que as condições de processo devem satisfazer tanto aspectos de qualidade quanto econômicos, neste capítulo é apresentada a influência das condições operacionais sobre o custo de manufatura do extrato e sobre o retorno financeiro do investimento para algumas das condições de extração.

5.1 – Revisão da literatura

Estudos de viabilidade financeira e estimativa preliminar de custo do processo de extração de produtos naturais com fluido supercrítico ainda são escassos na literatura aberta se comparados ao grande número de publicações a respeito da viabilidade técnica desse processo.

Cygnarowicz-Provost (1996) apresenta uma revisão de estudos de viabilidade financeira do processo de extração com fluido supercrítico. No estudo de desidratação de acetona, se apenas os custos de utilidades são minimizados, o processo com fluido supercrítico mostrou-se competitivo quando comparado à destilação; se os custos de equipamentos são incluídos na análise, o processo deixa de ser economicamente competitivo, uma vez que acetona é um produto de grande volume e baixo valor comercial. Por outro lado, para a extração de β -caroteno do caldo de fermentação, apesar da alta pressão requerida, o processo com fluido supercrítico mostrou-se atraente. Além disso, a adição de apenas 1% de etanol como co-solvente aumentou substancialmente a solubilidade do soluto e isso teve grande impacto na redução de custo do processo. β -caroteno é um produto de alto valor agregado e seu preço pode absorver os custos do equipamento de alta pressão. Embora os estudos apresentem muitas simplificações, a análise é válida, porque mostra os tipos de produtos para os quais a extração com fluido supercrítico pode ser viável. Estes estudos referem-se à extração de líquidos, o que permite a alimentação do extrator através de bombas e a operação em modo contínuo.

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

Sievers e Eggers (1996) compararam o processo de extração de lúpulo com CO₂ supercrítico com a extração sólido-líquido utilizando cloreto de metileno. Os resultados foram apresentados em termos de consumo de energia nas várias etapas do processo. O custo do processo supercrítico torna-se menor à medida que a energia do sistema é reaproveitada ou otimizada através da integração energética. Por exemplo, utilizando o calor retirado no condensador para aquecer o vaso extrator e o vaso evaporador, a demanda energética do processo supercrítico tornou-se da mesma ordem de grandeza que a do processo convencional de extração sólido-líquido.

Em um trabalho posterior, Sievers (1998) analisou o custo energético de quatro arranjos diferentes de processo para extração de óleo de soja. Os processos diferiam entre si pela presença ou não de trocadores de calor antes do vaso extrator, do vaso separador e da entrada da bomba ou compressor. O custo energético variou com o arranjo e com os parâmetros de processo estudados: pressão de extração, pressão de separação e temperatura de extração. O autor investigou também a sensibilidade do custo com a precisão dos dados de solubilidade e do custo da energia mecânica. Segundo o autor, imprecisões de $\pm 5\%$ nos dados de solubilidade e variações no custo de energia de $\pm 23\%$ não impactaram no custo total do processo.

Bertucco e Vetter (2001) apresentaram alguns estudos econômicos para processos de extração com fluido supercrítico. O custo de produção é analisado em função de diversas variáveis tais como densidade “bulk” do material, utilização de um ou mais extratores; utilização de compressor ou bomba; densidade do solvente supercrítico, dentre outras. As avaliações foram feitas para plantas industriais com extratores de 0,6 a 5 m³ de volume.

No Brasil, dois trabalhos de avaliação preliminar de custo se destacam: Mendes e colaboradores (2002) e Rosa e Meireles (2005).

Mendes e colaboradores (2002) apresentaram uma metodologia para o estudo de avaliação financeira do processo de concentração de vitamina E presente no destilado da desodorização do óleo de soja com CO₂ supercrítico. O ponto de partida para o estudo foi a disponibilidade de matéria-prima (subproduto da indústria de óleo de soja) e o custo das

Capítulo 5: Estudo da Viabilidade Financeira

matérias-primas e produtos no mercado brasileiro, além dos rendimentos experimentais obtidos utilizando CO₂ supercrítico. A metodologia adotada utilizou correlações disponíveis na literatura para estimativa do custo dos equipamentos que compõem a unidade de extração. A viabilidade financeira do processo, analisada para o mercado brasileiro, é apresentada em termos de índices econômicos tais como taxa de retorno do investimento (TRI) e tempo de retorno de investimento (TR). Segundo o estudo, ambos os processos analisados para a concentração de vitamina E a partir do destilado da desodorização do óleo de soja, com reciclo e sem reciclo do solvente, são viáveis financeiramente. Embora o processo sem reciclo de solvente tenha apresentado índices econômicos mais atrativos, devido ao uso de menor quantidade de equipamentos, os autores reforçam a importância do reciclo do solvente para evitar danos ao meio-ambiente.

Rosa e Meireles (2005) apresentaram uma metodologia simplificada para determinar os custos de manufatura de extratos obtidos por tecnologia supercrítica. Os autores basearam-se na metodologia descrita por Turton e colaboradores (1998). O ponto de partida para os cálculos foi o custo de uma unidade de extração de tamanho e configuração padrão, isto é, comumente utilizada na indústria para o processamento de ervas, condimentos, pigmentos naturais, dentre outros. O critério de ampliação de escala utilizado foi baseado na premissa que o desempenho da unidade industrial é o mesmo da unidade de laboratório, se forem mantidos constantes o tamanho de partículas, a densidade do leito e a relação entre a massa da matriz sólida e a vazão de dióxido de carbono. Utilizando esta metodologia, custos de manufatura para oleoresina de gengibre e óleo de cravo (Rosa e Meireles, 2005), para extração de alcalóides de *Tabernaemontana catharinensis* (Pereira et al., 2007) e óleos voláteis de macela e vetiver (Vasconcellos, 2007) foram estimados. O custo estimado pela metodologia é o custo de manufatura e não o preço de venda do produto.

Em todos os trabalhos citados acima, a metodologia, as considerações e simplificações diferem muito entre si. Isso se deve em parte à especificidade do sistema estudado, se a alimentação é líquida ou sólida, se o produto já está disponível comercialmente e, portanto, se há uma demanda conhecida, e em parte pela disponibilidade de dados financeiros e de dados experimentais.

No estudo do processo de extração de jambu, a análise da viabilidade do investimento foi conduzida através da estimativa preliminar do custo de manufatura do

Capítulo 5: Estudo da Viabilidade Financeira

extrato adotando o método dos fatores, de acordo com a equação proposta por Turton e colaboradores (1998) e de uma avaliação financeira utilizando dados estimados baseados na produção e no preço do extrato disponível comercialmente. O custo de manufatura foi determinado para quatro condições de extração, dentre aquelas estudadas e apresentadas no Capítulo 4: 103 bar, 50 °C; 152 bar, 40 °C; 152 bar, 60 °C e 200 bar, 50 °C. As condições foram escolhidas levando-se em consideração fatores como rendimento da extração, concentração mássica de espilantol no extrato e o aspecto final do extrato obtido, como discutido na Seção 4.3.5.

5.2 – Custo de manufatura

O custo de manufatura é o custo relacionado com a operação de manufatura da planta de processo. Este custo pode ser determinado através da soma dos vários custos envolvidos na produção tais como custos diretos, custos indiretos e despesas gerais.

Os custos diretos, como a denominação sugere, estão diretamente relacionados com a taxa de produção e são compostos pelos custos de matéria-prima, mão-de-obra, utilidades, manutenção, dentre outros. Custos como impostos, seguros e depreciação não são dependentes da taxa de produção e são conhecidos como custos indiretos. Despesas gerais incluem custos administrativos, distribuição e venda, pesquisa e desenvolvimento, dentre outros (Ulrich, 1984).

A estimativa do custo de manufatura é usualmente feita através da estimativa individual dos vários fatores que influenciam ou compõem o custo final (Thuesen e Fabrycky, 1993). O método dos fatores, em geral, considera que todos os custos envolvidos na manufatura podem ser descritos em função de alguns custos principais. Neste trabalho adotou-se a equação proposta por Turton e colaboradores (1998). Estes autores consideram como custos principais o investimento, o custo de mão de obra operacional, o custo de utilidades, o custo de tratamento de resíduos e o custo da matéria-prima. Desta forma, cada um destes componentes do custo é multiplicado por um fator de ponderação, de acordo com a Equação (5.1):

$$COM = 0,304FCI + 2,73COL + 1,23(CUT + CWT + CRM) \quad (5.1)$$

onde:

COM = custo de manufatura (US\$)

FCI = investimento (US\$)

COL = custo de mão de obra operacional (US\$)

CUT = custo das utilidades (US\$)

CWT = custo de tratamento de resíduo (US\$)

CRM = custo de matérias-primas (US\$)

Detalhes sobre a equação e a decomposição dos fatores de ponderação utilizados no cálculo do custo de manufatura estão descritos em Turton e colaboradores (1998).

5.2.1 - Custo relativo ao investimento

Segundo Bertucco e Vetter (2001), uma das maneiras mais simples de cortar custos num projeto de ampliação de escala é utilizar unidades de tamanhos padronizados. Tamanhos fora dos padrões implicam em projetos especiais e na disponibilidade dos componentes tais como bombas, compressores, válvulas, tubulações etc. e podem onerar ou até mesmo inviabilizar o investimento. Portanto, em processos em batelada com material sólido é aconselhável utilizar unidades com tamanhos padronizados e determinar a capacidade para o material de interesse multiplicando a densidade do leito (massa de sólidos pelo volume do extrator) pelo volume do extrator.

Na avaliação do investimento para obtenção de extrato de jambu foi considerada uma unidade composta por dois vasos extratores de 50 L cada um, dois vasos separadores, um reservatório de CO₂, um condensador, dois pré-aquecedores, um evaporador, unidade de refrigeração, um condensador e uma bomba para compressão do CO₂. Os dois vasos extratores possibilitam maior flexibilidade na operação e permitem manter a unidade operando mesmo durante a alimentação e descarga de um extrator individual. A determinação da capacidade da unidade de extração foi feita através da densidade aparente do material e do volume requerido para atender uma determinada demanda de mercado.

Capítulo 5: Estudo da Viabilidade Financeira

O tamanho da unidade considerada é muito menor que o usual para ervas e especiarias que utilizam unidades de tamanho médio entre 200 e 800 L (Bertucco e Vetter, 2001), sendo mais comum em torno de 400 L (Rosa e Meireles, 2005).

A escolha do tamanho da unidade de extração de 50 L justifica-se, primeiramente, por esta capacidade atender a demanda atual do mercado interno para o extrato de jambu, com flexibilidade. A demanda atual do mercado brasileiro é relativamente pequena já que a aplicação ainda está restrita a uma única categoria de produto do segmento cosmético. É sabido que um dos fatores responsáveis pela limitação na aplicação do extrato do jambu é a qualidade do produto que restringe a aplicação em maior quantidade nas formulações. Segundo, como dito anteriormente, não se tem registro, até o presente momento, de unidade industrial ou semi-industrial de extração com fluido supercrítico em operação no Brasil. E, embora as vantagens da tecnologia sejam amplamente divulgadas, a tecnologia muitas vezes é desconsiderada como rota tecnológica mesmo antes de uma avaliação econômica preliminar. Sendo assim, considerou-se a possibilidade de avaliar unidades menores com foco no desenvolvimento futuro de novos produtos e mercado e cujo investimento pode ser justificado com base numa necessidade real: o desenvolvimento de extrato contendo espilantol com características que melhor atendam as demandas atuais do mercado.

Partiu-se da premissa que a unidade será instalada em um parque industrial existente e com todas as facilidades disponíveis, portanto, os custos com terreno, construção civil, infra-estrutura, laboratório, dentre outros, que seriam parte do investimento fixo não foram considerados nesta análise.

O preço da unidade foi obtido através de orçamentos com empresas fornecedoras, americana e européia, especializadas na tecnologia com fluido supercrítico. Cotações entre US\$520.000,00 (quinhentos e vinte mil dólares) e US\$1.260.000,00 (um milhão duzentos e sessenta mil dólares), relativos a uma unidade para operação a alta pressão (até 500 bar) foram obtidas. Unidades operando a menor pressão (até 300 bar) também foram orçadas e apresentaram custo mais competitivos. Para esta unidade orçamentos em torno de US\$400.000,00 (quatrocentos mil dólares) foram fornecidos. O valor de US\$520.000,00 (quinhentos e vinte mil dólares) foi utilizado nos cálculos apresentados inicialmente e as demais variações no preço da unidade, em função de diferentes fornecedores e especificação técnica, foram avaliadas através de uma análise de sensibilidade do custo em relação ao investimento.

Em função do volume da unidade considerada e do seu custo, o investimento para o preenchimento inicial da tubulação com dióxido de carbono foi desconsiderado como sugerido por Rosa e Meireles (2005).

5.2.2 - Custo da mão-de-obra operacional

De acordo com os fornecedores do equipamento, para a escala considerada (2 vasos de 50 L), e devido ao nível de automação da planta, apenas um operador por turno é requerido. O custo de mão-de-obra foi estimado com base no salário de um operador com atividade similar. Vale ressaltar que este custo é para atividade exercida no Brasil e já considera o adicional referente a alguns encargos trabalhistas. O custo por hora utilizado foi de US\$7,00/h.

A unidade é operada em batelada, mas a utilização de dois vasos extratores permite que as atividades de carregamento, pressurização, despressurização, descarregamento e limpeza de um extrator sejam realizadas durante a operação de extração no segundo extrator utilizando-se a mesma mão-de-obra.

5.2.3 - Custo das matérias-primas

As matérias-primas utilizadas são partes aéreas de jambu (*Spilanthes acmella* var *oleraceae*) e dióxido de carbono.

O custo estimado para o material vegetal pré-processado é de US\$3,50/kg. O pré-processamento inclui as etapas de secagem e moagem. Este custo parece elevado quando comparado com custo de outros materiais vegetais citados na literatura tais como US\$0,062/kg para erva mate (Pereira et al., 2007), US\$0,505/ kg para cravo e US\$0,495/kg para gengibre (Rosa e Meireles, 2005). A justificativa é que o jambu utilizado industrialmente é cultivado através de agricultura orgânica, o que o torna um produto de maior valor agregado. Apenas para exemplificar, a camomila seca obtida por cultivo orgânico tem um preço similar, em média US\$4,00/kg (MAPA – Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2006).

A quantidade de material vegetal requerida por batelada dentro do vaso extrator de 50 L foi 11,5 kg considerando a densidade do leito de 230 kg/m³.

Capítulo 5: Estudo da Viabilidade Financeira

A determinação da vazão de solvente na unidade industrial foi obtida utilizando-se o seguinte critério de ampliação de escala:

$$\left(\frac{M_{sol}}{G}\right)_{lab} = \left(\frac{M_{sol}}{G}\right)_{ind} \quad (5.2)$$

Onde:

M_{sol} = massa de sólidos (kg)

G = vazão mássica de CO_2 (kg/h)

Este critério assume que o desempenho da unidade industrial será o mesmo da unidade de laboratório se a razão entre a massa de alimentação e a vazão do CO_2 for mantida constante. Adicionalmente, foi assumido que na unidade industrial o tamanho das partículas sólidas e a densidade do leito são mantidos iguais aos da escala de laboratório como sugerido por Rosa e Meireles (2005).

A Tabela 5.1 apresenta os dados utilizados na determinação da vazão de solvente na unidade industrial para cada condição de extração de acordo com o critério anterior. A variação nos valores da vazão deve-se à variação na massa de sólidos alimentada em cada condição ($12,2 \pm 0,33$ gramas).

Tabela 5.1 - Dados para determinação da vazão de CO_2 (kg/h) na unidade industrial.

Condição	103 bar, 50 °C	152 bar; 40 °C	152 bar; 60 °C	200 bar; 50 °C
$(M_{sol})_{lab}$ (kg)	0,01187	0,01254	0,01208	0,01193
G_{lab} (kg/h)	0,2160	0,2160	0,2160	0,2160
$(M_{sol})_{ind}$ (kg)	11,5	11,5	11,5	11,5
G_{ind} (kg/h)	209,25	198,07	205,53	208,18

Capítulo 5: Estudo da Viabilidade Financeira

O consumo de solvente foi obtido multiplicando a vazão de CO₂ pelo tempo de extração. O custo do solvente dióxido de carbono para a escala industrial foi obtido da White Martins ao preço de US\$0,185/kg. Foi considerada uma reposição de 2% do CO₂ utilizado na extração devido a eventuais perdas durante a descompressão ou por retenção na matriz vegetal, como sugerido por Rosa e Meireles (2005).

5.2.4 - Custo do tratamento de resíduos

Devido às particularidades do processo esta parcela de custo foi desconsiderada no custo de manufatura. O solvente é reciclado sem tratamento adicional e, como não foi utilizado co-solvente no processo, o material vegetal após a extração pode ser incorporado diretamente ao solo sem nenhum tratamento posterior.

5.2.5 - Custo das utilidades

As tarifas para as utilidades utilizadas no processo de extração de jambu estão mostradas na Tabela 5.2 abaixo.

Tabela 5.2 - Custos das utilidades

Utilidade	Custo (US\$)
Energia elétrica (MWh)	120,00
Vapor Saturado 5 bar (ton)	87,00

A tarifa para energia elétrica foi obtida pela ABRACE (Associação Brasileira dos Consumidores de Energia). Este valor refere-se a um valor médio praticado nos últimos seis meses do ano de 2007 para a tarifa industrial na região sudeste.

De acordo com uma consulta realizada em diferentes indústrias, observou-se uma variação no preço do vapor de US\$50/ton (Pólo de Camaçari - Bahia) a US\$87/ton (indústrias de médio porte na região metropolitana de São Paulo). Esta variação pode ser

explicada em função da escala de produção e consumo deste item e depende da origem do vapor, se o mesmo é gerado dentro do próprio pátio industrial ou adquirido externamente como no caso de algumas empresas do Pólo de Camaçari. O valor de US\$87,00/ton obtido para indústrias de médio porte situadas na região sudeste foi utilizado nos cálculos.

O consumo de energia foi estimado utilizando as propriedades termodinâmicas do CO₂ puro, através do diagrama de temperatura-entropia (TS), em cada etapa envolvida no ciclo do solvente como sugerido na literatura (Brunner, 1994; Sievers e Eggers, 1996; Bertucco e Vetter, 2001; Rosa e Meireles, 2005).

5.2.5.1 – Ciclo do solvente

A Figura 5.1 ilustra o ciclo do solvente a alta pressão (dióxido de carbono) durante o processo de extração. O processo inicia-se no tanque de estocagem no qual o CO₂ encontra-se em estado líquido (1). Para evitar cavitação, o solvente é sub-resfriado (2) e em seguida bombeado até a pressão de extração (3). A temperatura é ajustada por meio de um trocador de calor (4), tendo assim neste estágio (4) a condição de extração. O CO₂ supercrítico solubiliza o(s) soluto (s) no extrator. As substâncias dissolvidas no solvente são precipitadas no separador, por exemplo, variando a pressão e temperatura por meio de uma válvula de controle, de acordo com uma expansão isentálpica. As condições de estado do solvente após expansão encontram-se na região de duas fases (5). A parte líquida do solvente (5 para 7), que está na região de duas fases (5), é evaporada e toda a fase gasosa é superaquecida (8). O poder do solvente é substancialmente reduzido e as substâncias ainda não completamente separadas são precipitadas. O CO₂, que deixa o separador na fase gasosa, é resfriado, completamente condensado (1) e sub-resfriado através do condensador, completando-se o ciclo.

Os valores das entalpias específicas (H) foram obtidos através de tabelas de propriedades físicas do CO₂ (Angus et al., 1976) e do software desenvolvido por Silva (1997) para cálculo de propriedades termodinâmicas do CO₂, utilizando a temperatura e a pressão nos pontos de interesse do ciclo, como indicados na Tabela 5.3. Uma pressão de operação no vaso separador de 60 bar foi considerada nos cálculos de consumo de energia. Vale ressaltar que as condições de separação dependem do comportamento de equilíbrio de fases do sistema, bem como da vazão do solvente (Brunner, 1994). Uma vez que o estudo

da etapa de separação não foi objetivo deste trabalho, para a avaliação preliminar do custo, assumiu-se que as etapas de despressurização a 60 bar e evaporação do solvente são suficientes para recuperação do extrato.

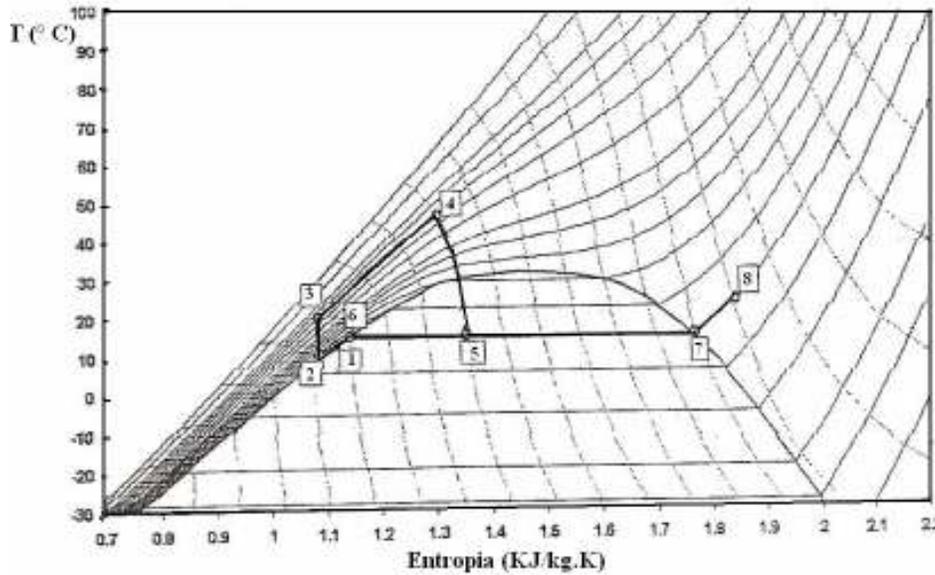


Figura 5.1 – Ciclo do solvente para o processo de bombeamento no diagrama Temperatura-Entropia (Bertucco e Vetter, 2001)

Tabela 5.3 - Entalpia específica do CO₂ (KJ/kg CO₂) durante o processo de extração e expansão a 60 bar.

Ponto	103 bar, 50 °C	152 bar; 40 °C	152 bar; 60 °C	200 bar; 50 °C
H2 (LS)	548,32	548,32	548,32	548,32
H3 (LS)	553,12	558,57	558,57	563,87
H4 (FSC)	675,28	588,09	647,03	602,71
H5 (LV)	675,28	588,09	647,03	602,71
H8 (VS)	733,57	733,57	733,57	733,57

LS líquido sub-resfriado

LV líquido + vapor

FSC Fluido supercrítico

VS vapor superaquecido

Capítulo 5: Estudo da Viabilidade Financeira

Com os valores de entalpia apresentados na Tabela 5.3, foi possível determinar a energia requerida por massa de solvente em cada etapa, em função da condição de extração (Tabela 5.4).

Tabela 5.4 - Consumo de energia (KJ/kg CO₂) no processo de extração para expansão a 60 bar.

Etapa	103 bar, 50 °C	152 bar; 40 °C	152 bar; 60 °C	200 bar; 50 °C
Bombeamento ¹	7,98	17,08	17,08	25,92
Aquecimento ²	122,16	29,51	88,46	38,84
Evaporação ²	58,29	145,48	86,13	130,86
Condensação/sub-resfriamento ¹	-185,25	-185,25	-185,25	-185,25

¹ energia elétrica

² vapor saturado a 5 bar

No cálculo do consumo de energia apresentado na Tabela 5.4 foram feitas as seguintes considerações: o aumento da pressão na bomba é irreversível e adiabático e a energia elétrica requerida no bombeamento foi calculada considerando uma variação isentrópica da entalpia com fator de eficiência de 60% (dado do fornecedor do equipamento); a perda de carga no sistema é desprezível e variações na energia cinética e potencial são também desprezíveis.

O consumo das utilidades, em base horária, foi obtido multiplicando-se a energia específica requerida (KJ/kg CO₂) em cada etapa descrita na Tabela 5.4 pela vazão de CO₂ na unidade industrial (kg/h), de acordo com o critério de ampliação de escala discutido na Seção 5.1.3 e apresentado na Tabela 5.1. Adicionalmente considerou-se que o aquecimento do CO₂ no trocador de calor (4) é realizado por meio do uso de vapor saturado a 5 bar; no tanque separador (8) também utiliza-se vapor saturado a 5 bar e no condensador utiliza-se água gelada para refrigeração sendo determinada a energia elétrica necessária para refrigerar a água. Para a determinação da massa de vapor necessária, utilizou-se o calor

Capítulo 5: Estudo da Viabilidade Financeira

latente de vaporização do vapor de água saturado a 5 bar. A massa de vapor necessária para realizar determinada transferência térmica foi obtida dividindo a energia requerida (KJ/ano) pelo calor de vaporização igual a 2.108,4 KJ/ kg vapor (Himmelblau, 1984).

O consumo anual e o respectivo custo é exemplificado para a condição de extração a 152 bar e 40 °C e os valores são apresentados na Tabela 5.5, considerando um tempo operacional de 2.304 horas por ano, o qual corresponde a 288 dias por ano e um turno de 8 horas por dia.

Tabela 5.5 - Custo de utilidades para a condição de extração a 152 bar e 40 °C e expansão a 60 bar.

Etapa	Energia (KJ/kg CO₂)	Energia (KJ/h)	Energia (MJ/ano)	Custo (US\$/ano)
Bombeamento ¹	17,08	3.383,03	7.794,51	259,58
Aquecimento ²	29,51	5.845,04	13.466,98	555,77
Evaporação ²	145,48	28.815,22	66.390,27	2.739,64
Condensação/sub-resfriamento ¹	-185,25	36.692,47	84.539,44	2.815,17

¹ energia elétrica US\$ 120 /MWh

² vapor saturado a 5 bar US\$ 87/ ton

5.2.6 – Custo de manufatura do extrato de jambu.

Através da metodologia e valores apresentados, o custo de manufatura do extrato de jambu foi estimado utilizando os resultados experimentais do rendimento global de extração em função do tempo. Os resultados obtidos para uma produção anual de 180 kg de extrato são apresentados na Figura 5.2. Para as condições 152 bar e 40 °C; 152 bar e 60 °C e 200 bar e 50 °C, um tempo operacional de 2.304 horas por ano, o qual corresponde a 288 dias por ano e um turno de 8 horas por dia, é suficiente para atender a produção. Para a extração a 103 bar e 50 °C, um tempo operacional de 4.608 horas por ano, correspondente a

dois turnos, foi considerado para atender a produção. Em ambos os casos foi admitido um fator de produtividade de 0,9.

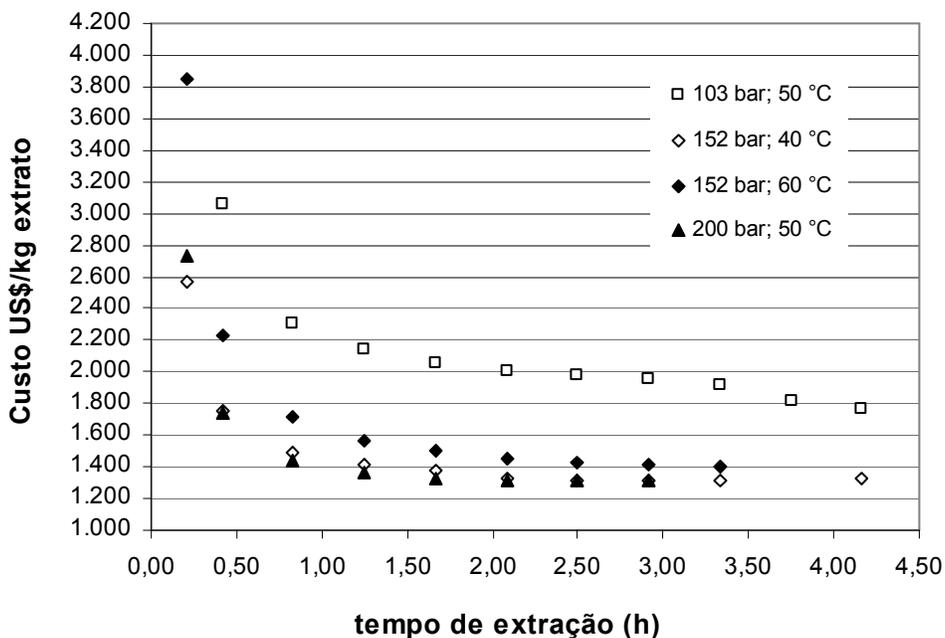


Figura 5.2 – Influência da pressão, temperatura e tempo de extração sobre o custo de manufatura do extrato de jambu.

Dentre as condições consideradas, a pressão de 200 bar, condição de maior rendimento global, resultou em custos ligeiramente mais atraentes. À pressão de 152 bar, os extratos obtidos a 40 °C apresentam um custo ligeiramente inferior que aqueles obtidos a 60 °C. Os maiores custos de manufatura foram obtidos para a extração a 103 bar e 50 °C, condição de menor rendimento global. Estes resultados mostram, conforme esperado, que o rendimento global da extração tem grande influência sobre custo de manufatura do extrato.

De maneira geral, dentro do período de tempo avaliado, o custo de manufatura diminui ao longo da extração. No início da extração o rendimento global de extrato é baixo, o que significa que apenas uma pequena porcentagem do soluto presente no material vegetal é extraída e o material vegetal é subutilizado. Nesta situação, a parcela referente ao custo de matéria-prima tem um impacto grande sobre o custo total de manufatura como pode ser observado na Figura 5.3 que mostra a influência de cada parcela que compõe o custo em função do tempo de extração para a condição de 152 bar e 40 °C.

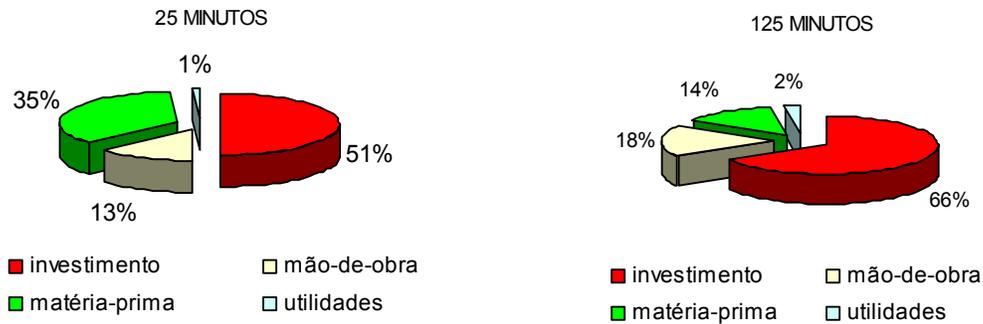


Figura 5.3 – Parcelas do custo de manufatura a 25 e 100 minutos de extração a 152 bar e 40 °C.

Maiores tempos de extração resultam em maiores quantidades de extrato utilizando-se a mesma massa de alimentação, isto é, resultam em maior aproveitamento da matéria-prima e menor impacto do custo da matéria-prima sobre o custo total. Por outro lado, maiores tempos de extração implicam em maior consumo de utilidades. Já as parcelas referentes ao investimento e a mão-de-obra operacional não variam em números absolutos. Uma vez que ocorrem despesas com salário e o investimento já está comprometido independente do tempo de extração, estas variáveis, custo operacional (COL) e investimento (FCI) não variam em função do tempo de extração. Vale ressaltar que esta premissa é válida para o custo de mão-de-obra desde que a produção requerida seja atingida dentro do número de horas anuais (ou número de turnos) tomado como referência. Caso mais de um turno de trabalho seja necessário para atingir a produção desejada, este custo adicional deve ser considerado no custo de mão-de-obra. Os resultados mostrados na Figura 5.3 são em termos relativos. Portanto, à medida que o custo de matéria-prima tem um peso menor, necessariamente as demais parcelas passam a ter um impacto maior sobre o custo.

Para tempos muito longos de extração (terceira região da curva de extração), por exemplo, acima de 5 horas, o custo da mão-de-obra passa a ter um impacto maior já que não será possível ter a mesma produção em único turno e, portanto, mais um operador deverá ser considerado no cálculo dos custos operacionais, como comentado anteriormente.

Os resultados a 152 bar permitem avaliar, além da influência do rendimento global de extrato em função do tempo de extração, a influência do custo das utilidades, já que uma maior quantidade de vapor é requerida na extração a 60 °C. No entanto, para a situação

Capítulo 5: Estudo da Viabilidade Financeira

analisada, a influência do custo de utilidades sobre o custo de manufatura é pequena em relação às demais parcelas, como pode ser verificado na Figura. 5.4.

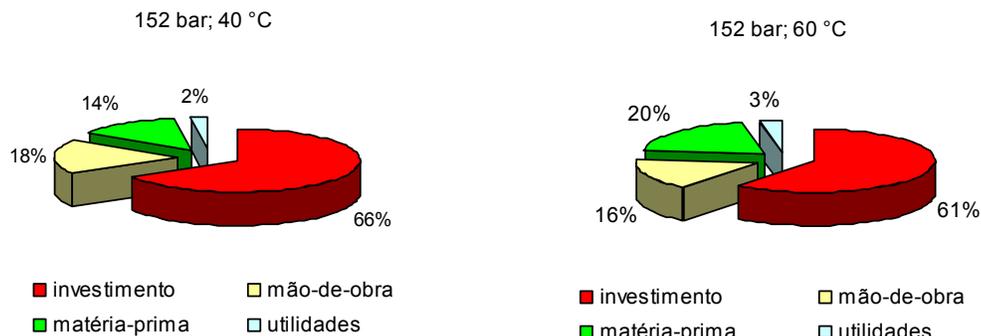


Figura 5.4 – Parcelas do custo de manufatura em função da temperatura de extração.

O impacto de cada parcela que compõe o custo em função das condições de extração está resumido na Figura 5.5 para uma produção de extrato de 180 kg/ano e um tempo de extração de 125 minutos (2,08 h), que corresponde, aproximadamente, ao primeiro período de extração (taxa de extração constante). Esta análise reforça a influência do rendimento de extração sobre a parcela referente ao custo da matéria-prima. Quanto maior o rendimento (152 bar, 40 °C e 200 bar, 50 °C), menor a porcentagem da parcela CRM (custo da matéria-prima) sobre o custo total de manufatura. Quanto menor o rendimento de extração (103 bar; 50 °C) maior a influência da parcela CRM (custo da matéria-prima) sobre o custo total de manufatura.

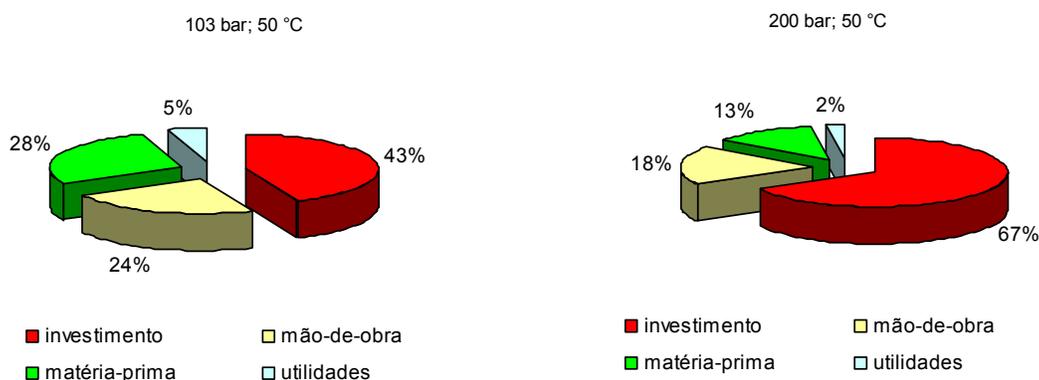


Figura 5.5 - Parcelas do custo de manufatura em função da pressão e temperatura de extração.

Capítulo 5: Estudo da Viabilidade Financeira

O custo de manufatura em função do tempo de extração para as quatro condições consideradas é apresentado nas Tabelas 5.6 e 5.7. Como um dos objetivos deste estudo é estabelecer um compromisso satisfatório entre os aspectos técnicos e econômicos, as Tabelas 5.6 e 5.7 mostram também os dados da fração mássica de espilantol no extrato (pureza relativa) em função do tempo de extração.

Tabela 5.6 – Custo de manufatura e fração mássica de espilantol no extrato em função do tempo de extração para as condições de 152 bar e 40 °C e 152 bar e 60 °C.

Tempo de extração (h)	152 bar, 40 °C		152 bar, 60 °C	
	COM (US\$/kg)	espilantol/extrato (kg/kg) (%)	COM (US\$/kg)	espilantol/extrato (kg/kg) (%)
0,21	2.572	24,5	3.844	27,5
0,42	1.759	22,4	2.235	24,4
0,83	1.483	20,7	1.719	24,3
1,25	1.418	19,2	1.565	22,2
1,67	1.378	17,2	1.498	20,5
2,08	1.324	13,7	1.452	18,5
2,50	1.315	12,9	1.432	17,5
2,92	1.315	12,7	1.419	16,6
3,33	1.316	12,4	1.407	15,8
4,17	1.322	12,1	na	na

^{na} não avaliado

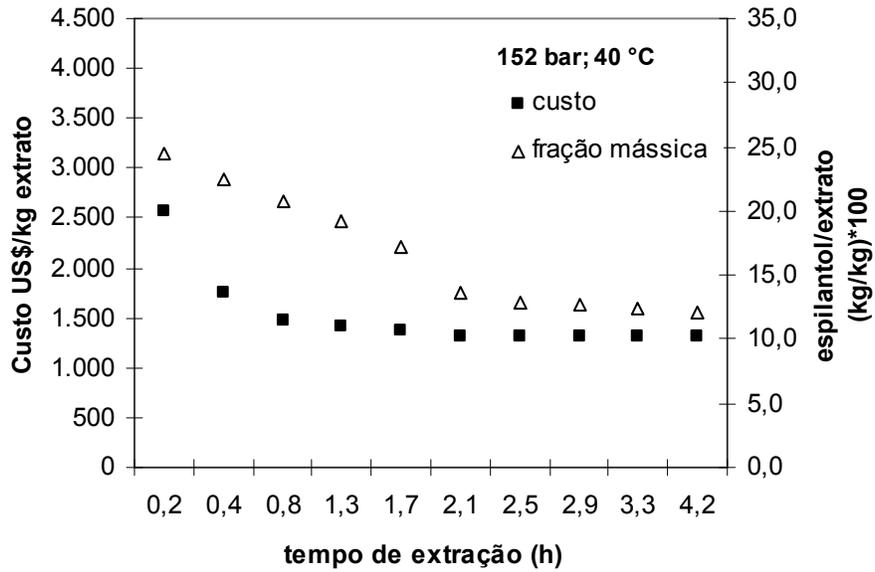
Capítulo 5: Estudo da Viabilidade Financeira

Tabela 5.7 – Custo de manufatura e fração mássica de espilantol no extrato em função do tempo de extração para as condições de 103 bar e 50 °C e 200 bar e 50 °C.

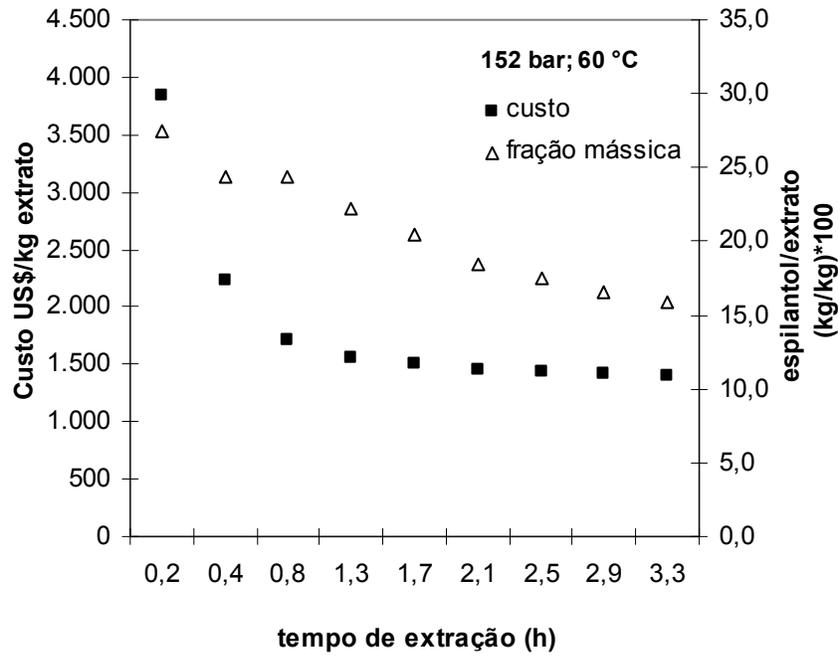
Tempo de extração (h)	103 bar, 50 °C		200 bar, 50 °C	
	COM (US\$/kg)	espilantol/extrato (kg/kg) (%)	COM (US\$/kg)	espilantol/extrato (kg/kg) (%)
0,21	4.338	18,2	2.731	18,1
0,42	3.053	21,6	1.740	14,9
0,83	2.309	31,1	1.443	12,5
1,25	2.140	31,5	1.360	13,5
1,67	2.055	31,6	1.330	13,7
2,08	2.008	31,2	1.314	13,3
2,50	1.976	30,9	1.309	13,6
2,92	1.948	30,1	1.311	13,6
3,33	1.912	28,3	na	na
3,75	1.813	23,6	na	na
4,17	1.768	21,0	na	na

^{na} não avaliado

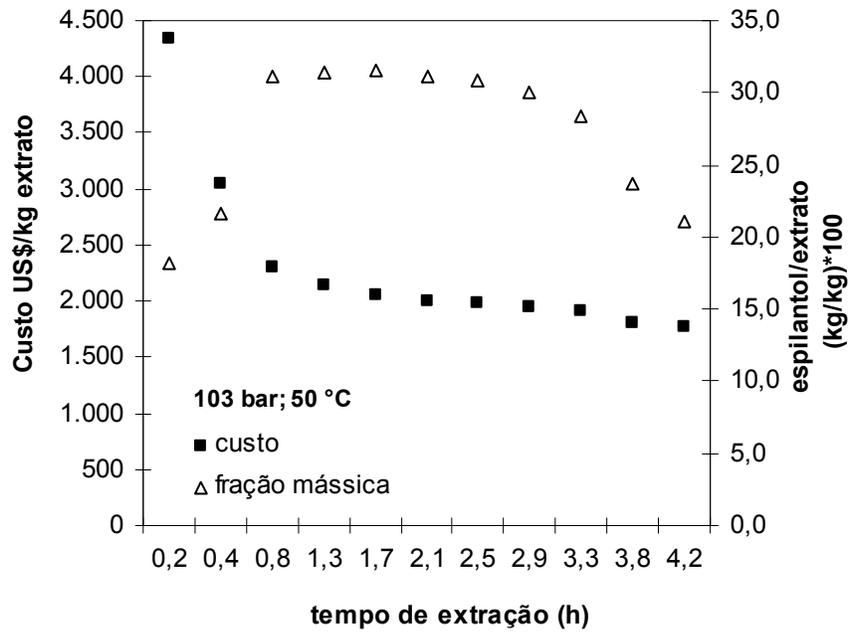
As Figuras 5.6 (a), (b), (c) e (d) ilustram os resultados apresentados nas Tabelas 5.6 e 5.7.



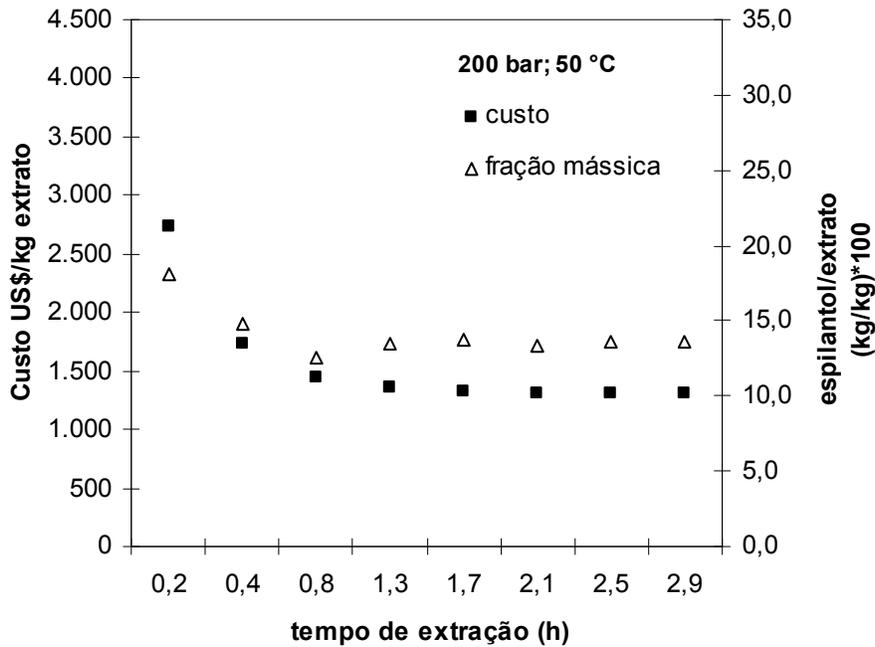
(a)



(b)



(c)



(d)

Figura 5.6 - Custo de manufatura e fração mássica de espilantol no extrato em função do tempo de extração: (a) 152 bar e 40 °C, (b) 152 bar e 60 °C, (c) 103 bar e 50 °C e (d) 200 bar e 50 °C.

No entanto, o custo de manufatura do extrato não é suficiente para determinar a viabilidade do projeto. Assim, uma avaliação financeira preliminar do investimento foi realizada para as condições 152 bar e 40 °C e 152 bar e 60 °C, condições de extração que apresentaram melhores resultados considerando custos, aspecto dos extratos e concentração de espilantol (pureza relativa), e para a condição de 103 bar e 50 °C, que apesar de apresentar custos de manufatura mais elevados, apresentou uma concentração de espilantol (30%) superior a do produto disponível comercialmente (16%), podendo resultar em um produto diferenciado, potencialmente com maior valor agregado.

5.3 – Avaliação financeira

A avaliação financeira de um investimento trata da utilização dos diversos índices ou indicadores econômicos que são ferramentas que permitem avaliar o desempenho do investimento. Estes índices são determinados através da análise do fluxo de caixa que considera a receita e o desembolso ao longo do tempo de vida útil do projeto ou investimento e são essenciais no aceite ou não do investimento proposto (Wöiler e Mathias, 1996).

Os métodos utilizados na análise financeira do processo de obtenção de extrato de jambu, utilizando dióxido de carbono supercrítico, foram: o valor presente líquido (VPL), a taxa interna de retorno (TIR) e o tempo de retorno (TR).

5.3.1. – Valor Presente Líquido (VPL)

É o valor presente do investimento calculado subtraindo o valor inicial investido do valor presente total dos fluxos de caixa futuros, descontados a uma taxa de juros específica conhecida, dentre outras denominações, de custo do capital da empresa. O custo de capital da empresa depende da saúde financeira da empresa, de juros internacionais e vários outros fatores econômicos. Neste trabalho foi utilizada uma taxa de 12% ao ano (a.a.) com base no rendimento oferecido no mercado financeiro. Portanto, o valor presente líquido é a diferença entre o valor presente dos fluxos de caixa e o investimento inicial requerido (Peters e Timmerhaus, 1991). Se o VPL é maior ou igual a zero aceita-se o projeto, pois os

ganhos do projeto remuneram o investimento inicial à taxa desejada. Se o VPL é menor que zero rejeita-se o projeto, pois o projeto não remunera o capital investido à taxa desejada. Quanto maior o VPL, mais desejável é o projeto para a empresa. Quando o VPL é igual a zero significa que o investimento é igual ao valor presente total dos fluxos de caixa futuros.

$$VPL = \sum_{n=1}^p \frac{Vn}{(1+i)^n} - V0 \quad (5.3)$$

onde:

VPL= valor presente líquido

V0 = valor inicial investido

Vn = valor do fluxo de caixa

i = custo de capital da empresa ou taxa de desconto

p = período do investimento em anos

5.3.2 – Taxa Interna de Retorno (TIR)

A quantidade de retorno esperada pelos investidores sobre o investimento, depende, usualmente, do grau de risco assumido com o investimento. Os riscos diferem em cada projeto e dependem de vários aspectos, por exemplo, do grau de inovação envolvido no processo; do grau de inovação do produto, do tipo de comercialização, dentre outros (Peters e Timmerhaus, 1991). Os métodos usuais de previsão de rentabilidade normalmente adotam uma taxa mínima aceitável para o retorno do investimento conhecida como taxa mínima de atratividade ou o custo do capital da empresa. A taxa de rentabilidade ou de retorno do projeto específico, também denominada de taxa interna de retorno (TIR) é comparada à taxa mínima de atratividade ou ao custo de capital da empresa e o critério de decisão para se aceitar o projeto é ter uma TIR maior ou igual à mínima aceitável. A taxa que torna o VPL igual a zero é a própria taxa mínima de atratividade ou o custo de capital. O cálculo da TIR requer normalmente um procedimento iterativo de tentativas e erros para sua determinação através da anulação do VPL (Wöiler e Mathias, 1996).

5.3.3 – Tempo de Retorno (TR)

Já o tempo de retorno do capital é definido como o tempo necessário para que o fluxo de caixa gerado recupere o investimento, ou seja, reflete o tempo em que o dinheiro da empresa aplicado no projeto está em risco (Thuesen e Fabrycky, 1993). É desejável que o tempo de retorno seja o menor possível.

$$TR = \frac{V_0}{V_n} \quad (5.4)$$

onde:

TR = tempo de retorno

V₀ = valor inicial investido

V_n = valor do fluxo de caixa

5.3.4 – Análise financeira do processo de obtenção do extrato de jambu

Os menores custos de manufatura foram obtidos para os maiores tempos de extração. Por outro lado, maiores tempos de extração resultaram em extratos com menor pureza relativa de espilantol, devido à co-extração de substâncias não desejáveis, como discutido no Capítulo 4. Portanto, com base nos resultados apresentados nas Figuras 5.6 a 5.9, na avaliação financeira preliminar o critério utilizado foi a pureza relativa do extrato, isto é, o tempo de extração considerado na análise foi aquele no qual se obteve uma concentração de espilantol no mínimo igual a do produto disponível comercialmente (16%). Para a condição de 152 bar e 40 °C o menor custo de manufatura, correspondente a US\$1.315/kg de extrato, foi obtido com 150 minutos (2,50 h). No entanto, na análise financeira considerou o valor de US\$1.378/kg extrato que corresponde ao extrato obtido com 100 minutos de extração (1,67 h) e com pureza relativa (massa de espilantol/massa de extrato) de 17 %, próxima àquela do produto comercial. A concentração de espilantol para as condições de 152 bar e 60 °C e 103 bar e 50 °C, para o mesmo tempo de extração (1,67 h) é 20% e 32%, respectivamente, como mostrado na Tabela 5.7. O custo variável de vendas(CVV) foi obtido multiplicando o custo de manufatura (COM) pela produção anual.

Capítulo 5: Estudo da Viabilidade Financeira

A receita (R) foi obtida multiplicando a produção anual pelo preço de comercialização do extrato estimado em US\$3.500,00/kg.

Tabela 5.8 – Receitas e custos de manufatura para o extrato de jambu.

Condição de Extração	COM (US\$/kg)	Produção Anual (kg)	Custo Variável de Vendas	Receita (US\$/ano)
103 bar/50 °C	2.055	180	369.900,00	630.000,00
152 bar/40 °C	1.378	180	248.040,00	630.000,00
152 bar/60 °C	1.498	180	269.640,00	630.000,00

Na indústria é usual avaliar o nível de produção para que as receitas superem os custos totais de manufatura. A produção mínima, para que o projeto gere receitas iguais aos custos totais de produção, é conhecido como ponto de nivelamento (“break-even”) e é calculado através do fluxo de caixa em função dos vários níveis de produção da planta (Peters e Timmerhaus, 1991). A importância desta ferramenta de análise é que ela indica o nível mais baixo de produção que impedirá perdas no negócio.

Utilizando o software Excel para fazer a simulação, este valor foi calculado e corresponde a aproximadamente 23% da capacidade ou 62 kg/ano de extrato para a condição de 152 bar e 40 °C (considerando 01 turno de produção), 35% da capacidade ou 65 kg/ano de extrato e 42% da capacidade ou 87 kg/ano de extrato para a condição de 103 bar e 50 °C (considerando 02 turnos de produção).

A partir da Tabela 5.8, o fluxo de caixa do processo é gerado para cada uma das condições de extração considerando o imposto de renda (IR) de 25% a.a., a taxa de desconto de 12% a.a. e o capital de giro (CG) igual a, aproximadamente, um mês de estoque de matéria-prima (2 toneladas). A depreciação foi calculada pelo método linear, que é o método mais simples e utilizado e que consiste em dividir o total a depreciar pelo número de anos de vida útil do bem. O valor residual foi considerado nulo, o tempo de vida útil de 10 anos e, portanto, a taxa de depreciação de 10% ao ano.

Capítulo 5: Estudo da Viabilidade Financeira

A depreciação é comumente definida como um fundo para financiar a substituição da planta industrial ou do equipamento ao longo do tempo. Segundo Ulrich (1984) esta definição é imprecisa para plantas químicas, porque raramente uma planta obsoleta será substituída por uma de mesmo projeto. Em um balanço financeiro convencional a depreciação aparece como um custo operacional e é calculada como a diferença entre o valor de compra de um bem e seu valor estimado no fim de um determinado período. Do ponto de vista empresarial a depreciação é uma taxa de bonificação e, como os lucros, retornam ao bolso do investidor. A diferença, ao contrário dos lucros, é que a depreciação não sofre taxação de impostos e por isso há regras sobre o tempo a depreciar dependendo do tipo de bem. Um prazo de 10 anos é normalmente estipulado para equipamentos.

O cálculo das demais variáveis especificadas no fluxo de caixa foi realizado da seguinte forma:

$$LOP = R - CVV \quad (5.5)$$

$$IR = \left(\frac{25}{100}\right)LOP \quad (5.6)$$

$$LLIQ = LOP - IR \quad (5.7)$$

$$V_n = LLIQ + D - CG \quad (5.8)$$

onde:

LOP = lucro operacional (US\$)

R = receita (US\$)

CVV = custo variável de vendas (US\$)

IR = imposto de renda

LLIQ = lucro líquido (US\$)

CG = capital de giro

D = depreciação

Vn = valor do fluxo de caixa (US\$)

O fluxo de caixa gerado é ilustrado para a condição de extração de 152 bar e 40 °C e apresentado na Tabela 5.9. O mesmo procedimento de cálculo foi realizado para as demais condições de extração.

Tabela 5.9 – Fluxo de caixa (US\$1.000) para a condição de extração de 152 bar, 40 °C e 1,67 horas.

Ano	Receita	CVV	LOP	LLIQ	FC
1	630	248	382	286	331
2	630	248	382	286	331
3	630	248	382	286	331
4	630	248	382	286	331
5	630	248	382	286	331
6	630	248	382	286	331
7	630	248	382	286	331
8	630	248	382	286	331
9	630	248	382	286	331
10	630	248	382	286	331

Os valores apresentados referem-se a uma produção de 180 kg/ano de extrato, não considerando, portanto, um possível crescimento na demanda do produto ao longo do período analisado. Esta é uma análise conservadora, porque espera-se que, a princípio, este crescimento de demanda ocorra.

Capítulo 5: Estudo da Viabilidade Financeira

Para o tempo de extração considerado na análise financeira (1,67 h) essa produção corresponde a 66% da capacidade da planta em um turno de produção para a extração a 152 bar e 40 °C; 96% da capacidade da planta em um turno para a extração a 152 bar e 60 °C e a 87% da capacidade para a produção em dois turnos a 103 bar e 50 °C. Portanto, se a produção considerada não atende a demanda de vendas, a unidade proposta ainda pode absorver maior produção aumentando-se, por exemplo, o número de turnos. Por outro lado, se a demanda de vendas é menor, a operação pode ocorrer à capacidade reduzida.

Os índices econômicos VPL, TIR e TR calculados utilizando o fluxo de caixa para cada condição estão resumidos na Tabela 5.10.

Tabela 5.10 – Indicadores econômicos em função da condição de extração.

Condição de Extração	VPL (US\$1.000)	TIR (%)	TR (anos)
103 bar/50 °C	747	45,05	2,2
152 bar/40 °C	1.208	63,27	1,6
152 bar/60 °C	1.126	60,08	1,6

Como o cálculo da TIR requer normalmente um procedimento iterativo de tentativas e erros para sua determinação através da anulação do VPL, os valores acima foram calculados através do software EXCEL. O critério adotado para a avaliação da TIR foi que esta seja igual ou maior a 20% a.a., portanto, maior que o custo de capital da empresa.

De acordo com os critérios adotados para aceitar ou rejeitar a proposta de investimento, todas as três condições avaliadas apresentam índices favoráveis. No entanto, a análise financeira do investimento, mesmo preliminar, não deve ser concluída sem reavaliar algumas premissas e dados iniciais.

5.4 – Análise de sensibilidade

O estudo do custo de manufatura indicou a importância de variáveis que podem influenciar no desempenho do investimento. Assim, variações nos índices VPL, TIR e TR em função destas variáveis devem ser analisadas, já que no estágio preliminar de avaliação financeira utilizam-se de informações aproximadas que podem comprometer o desempenho financeiro da planta. Portanto, uma análise de sensibilidade do desempenho financeiro foi realizada em função da pressão de separação, de alterações no custo do investimento, de alterações no preço comercializado ou de venda do extrato de jambu e de possíveis variações no custo da matéria-prima. Esta análise foi realizada para as condições de extração 152 bar e 40 °C e 103 bar e 50 °C.

5.4.1 – Desempenho financeiro do investimento em função da pressão de separação

Como discutido na Seção 5.2.6, as condições de separação dependem do comportamento de cada sistema e, tal como a etapa de extração, a etapa de separação deve ser estudada e otimizada. Uma vez que o estudo da etapa de separação não foi objetivo deste trabalho, para a avaliação preliminar do custo, assumiu-se um valor de 60 bar para esta etapa. Do ponto de vista energético, uma menor pressão de separação implica em um maior consumo de energia, uma vez que o CO₂ condensa em uma menor temperatura e, portanto, uma maior quantidade de energia é necessária na etapa de condensação e sub-resfriamento. Portanto, a pressão de separação influencia o custo de manufatura do extrato e os indicadores econômicos, porque está relacionada com o consumo de utilidades. Para o sistema estudado e premissas adotadas, o custo de utilidades apresentou pouca influência no custo total, como apresentado na Seção 5.1.5. Consequentemente, a pressão de separação de 60 bar, adotada como premissa, não prejudica a avaliação econômica, como mostrado nas Tabelas 5.11 e 5.12.

Tabela 5.11 - Variação dos indicadores econômicos em função da pressão de separação para a condição de 152 bar e 40 °C e investimento de US\$520.000.

Condição de Separação (bar)	COM (US\$/kg)	VPL (US\$ 1.000)	TIR (%)	TR (anos)
40	1.390	1.200	62,95	1,6
60	1.378	1.208	63,27	1,6

Tabela 5.12 - Variação dos indicadores econômicos em função pressão de separação para a condição de 103 bar e 50 °C e investimento de US\$520.000.

Condição de Separação (bar)	COM (US\$/kg)	VPL (US\$ 1.000)	TIR (%)	TR (anos)
40	2.088	724	44,14	2,2
60	2.055	747	45,05	2,2

5.4.2 — Desempenho financeiro do investimento em função do preço da unidade de extração

Para o estudo de sensibilidade do desempenho econômico em função do valor inicial investido, consideraram-se algumas possibilidades de alteração no preço da unidade de extração. O valor utilizado nos cálculos foi um valor intermediário cotado para uma unidade de alta pressão (pressão máxima de operação igual a 500 bar). Outros orçamentos foram propostos para unidades de mesma especificação (pressão máxima de operação igual a 500 bar) e para unidades operando a pressão inferior (300 bar). Estes orçamentos devem ser considerados na análise financeira já que atendem às necessidades deste projeto e de outros produtos como pode ser verificado, por exemplo, na revisão apresentada por Del Valle et al (2005), para obtenção de extratos de diversos espécies vegetais. Adicionalmente, o valor do investimento utilizado neste trabalho não considerou o acréscimo relativo a

Capítulo 5: Estudo da Viabilidade Financeira

despesas de importação (frete, seguro etc.). A inclusão deste valor no investimento em alguns casos também foi avaliada uma vez que dependendo da política interna da empresa, de negociações, do tipo de investimento etc., este acréscimo pode ser ou não considerado no plano de negócios.

Para o estudo de sensibilidade do desempenho econômico em função do investimento, os cálculos de custo de manufatura foram refeitos e utilizados na avaliação financeira. Vale ressaltar que o tempo de extração de 1,67 h foi mantido na análise de sensibilidade. Os novos valores para o investimento utilizados na análise de sensibilidade foram:

i-) investimento de US\$1.260.000,00 (um milhão, duzentos e sessenta mil dólares). Maior cotação obtida para uma unidade de alta pressão (500 bar).

ii-) investimento de US\$676.000,00 (seiscentos e setenta e seis mil dólares), segundo orçamento obtido para a unidade de maior pressão (500 bar) com taxa de importação.

iii-) investimento de US\$400.000,00 (quatrocentos mil dólares) valor orçado para a unidade de menor pressão (300 bar) sem taxa de importação.

Tabela 5.13 – Variação dos indicadores econômicos em função do preço da unidade de extração para a condição de 152 bar e 40 °C.

Investimento (US\$1.000)	COM (US\$/kg)	VPL (US\$1.000)	TIR (%)	TR (anos)
1.260,00	2.628	69	13,48	5,3
676,00	1.642	968	44,94	2,2
520,00	1.378	1.208	63,27	1,6
400,00	1.176	1.392	86,51	1,1

Como mostrado na Tabela 5.13, os indicadores modificam significativamente com as reavaliações sobre o investimento, inclusive o tempo de retorno. A unidade de extração

Capítulo 5: Estudo da Viabilidade Financeira

de maior pressão (500 bar) e maior valor orçado (US\$1.260.000,00) resultou nos piores índices econômicos, já que a parcela referente ao investimento tem uma importância considerável no custo de manufatura do produto e no próprio fluxo de caixa.

Tabela 5.14 – Variação dos indicadores econômicos em função do preço da unidade de extração para a condição de 103 bar e 50 °C.

Investimento (US\$1.000)	COM (US\$/kg)	VPL (US\$1.000)	TIR (%)	TR (anos)
1.260,00	3.305	-392	2,68	8,7
676,00	2.318	507	30,25	3,1
520,00	2.055	747	45,5	2,2
400,00	1.682	1.047	69,25	1,4

Para a condição de 103 bar (Tabela 5.14) embora a taxa interna de retorno seja superior à taxa mínima de retorno, e o valor presente líquido maior que zero, o que significa que os ganhos remuneram o investimento, o tempo de retorno nesta condição ainda pode não ser atrativo no caso de se utilizar a unidade de US\$676.000,00. O investimento para esta condição de extração mostrou-se inviável para a unidade de maior valor orçado (US\$1.260.000,00).

5.4.3 - Desempenho financeiro do investimento em função do preço da matéria-prima

O preço da matéria-prima (partes aéreas de jambu) também pode exercer influência no desempenho financeiro do processo, uma vez que este preço faz parte dos custos variáveis de produção e, conseqüentemente, do custo total de manufatura e do fluxo de caixa. Portanto, variações no preço da matéria-prima foram analisadas e os resultados estão apresentados na Tabelas 5.15 e 5.16.

Tabela 5.15 - Variação dos indicadores econômicos em função do preço da matéria-prima (mp) para a condição de 152 bar e 40 °C e investimento de US\$520.000.

Preço da mp (US\$/kg)	COM (US\$/kg)	VPL (US\$ 1.000)	TIR (%)	TR (anos)
2,45	1.311	1.254	65,05	1,5
3,00	1.346	1.230	64,12	1,5
3,50	1.378	1.208	63,27	1,6
4,0	1.411	1.185	62,39	1,6
4,55	1.446	1.162	61,46	1,6

Tabela 5.16 - Variação dos indicadores econômicos em função do preço da matéria-prima (mp) para a condição de 103 bar e 50 °C e investimento de US\$520.000.

Preço da mp (US\$/kg)	COM (US\$/kg)	VPL (US\$1.000)	TIR (%)	TR (anos)
2,45	1.876	869	49,93	2,0
3,00	1.970	805	47,37	2,1
3,50	2.055	747	45,05	2,2
4,0	2.140	689	42,71	2,3
4,55	2.234	625	40,10	2,4

De acordo com os resultados, um acréscimo de 30% no custo da matéria-prima ainda não compromete os índices VPL e TIR mesmo para a condição de menor rendimento de extração, condição na qual o custo da matéria-prima tem uma maior influência sobre o custo total de manufatura. De maneira geral, a variação no preço da matéria-prima, dentro

da faixa analisada, não influenciou de maneira significativa os índices econômicos avaliados.

5.4.4 – Desempenho financeiro do investimento em função do preço de comercialização do extrato.

O preço de comercialização do produto obtido na extração afeta o desempenho econômico do projeto já que faz parte da receita e modifica o fluxo de caixa. Esta análise de sensibilidade foi feita através de variações em torno do preço do extrato utilizado como referência neste estudo (US\$3.500/kg) e os resultados estão apresentados nas Tabelas 5.17 e 5.18. Preços de comercialização mais elevados se justificam, por exemplo, pela qualidade do extrato obtido, especialmente para a condição de 103 bar e 50°C, que resultou em extratos com maior pureza relativa de espilantol (em torno de 30%). Preços mais baixos podem ocorrer, por exemplo, devido ao aumento da competitividade no fornecimento do extrato.

Tabela 5.17 - Variação dos indicadores econômicos em função do preço de comercialização do extrato para a condição de 152 bar e 40 °C e investimento de US\$520.000.

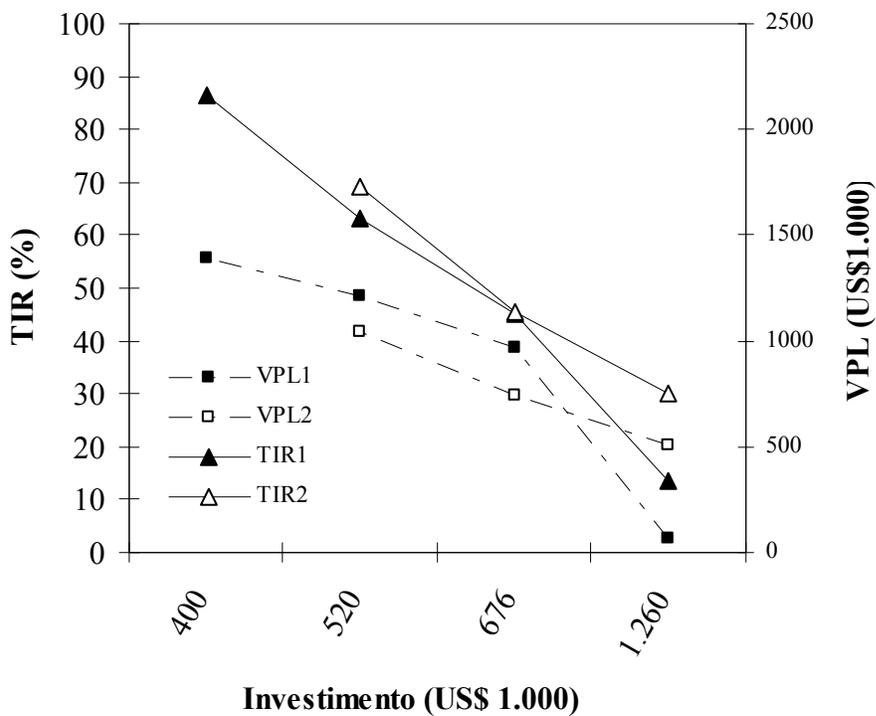
Preço do extrato (US\$/kg)	Receita (US\$ 1.000)	VPL (US\$ 1.000)	TIR (%)	TR (anos)
2.600	468	595	38,86	2,5
3.000	540	867	49,88	1,9
3.500	630	1.208	63,27	1,6
3.850	693	1.446	72,52	1,4
4.020	724	1.562	76,99	1,3
4.375	788	1.804	86,29	1,1
4.900	882	2.161	99,99	0,9

Tabela 5.18 - Variação dos indicadores econômicos em função do preço de comercialização do extrato para a condição de 103 bar e 50 °C e investimento de US\$520.000.

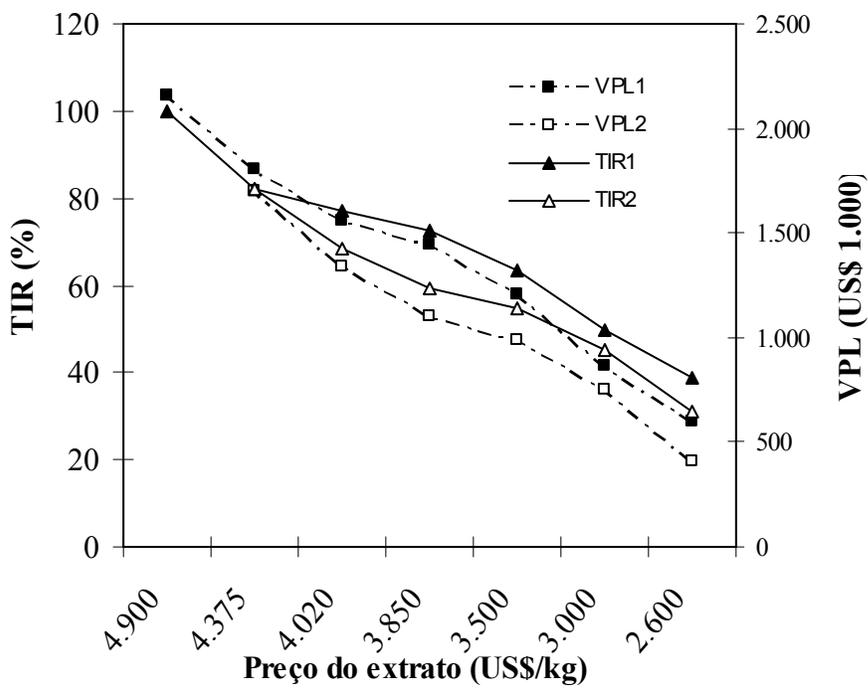
Preço do extrato (US\$/kg)	Receita (US\$ 1.000)	VPL (US\$ 1.000)	TIR (%)	TR (anos)
2.600	468	134	18,69	4,4
3.000	540	406	30,95	3,0
3.500	630	747	45,05	2,2
3850	693	985	54,54	1,8
4020	724	1.101	59,09	1,7
4375	788	1.343	68,51	1,5
4900	882	1.700	82,31	1,2

Como esperado, o tempo de retorno e demais índices melhoraram significativamente com o aumento do preço de comercialização do extrato, já que impacta diretamente a entrada do fluxo de caixa. A tecnologia de extração com dióxido de carbono supercrítico resulta em extratos de melhor qualidade que aqueles obtidos por extração com solventes orgânicos, por exemplo. Sendo assim, preços de comercialização mais elevados podem ser justificados devido às características dos extratos obtidos e ao apelo mercadológico de se utilizar uma tecnologia limpa, tornando os indicadores ainda mais favoráveis, como mostrado na Tabela 5.18. Uma redução no preço de comercialização também é possível. No entanto, em qualquer condição de extração, para o investimento avaliado, reduções no preço de comercialização prejudicam os indicadores econômicos.

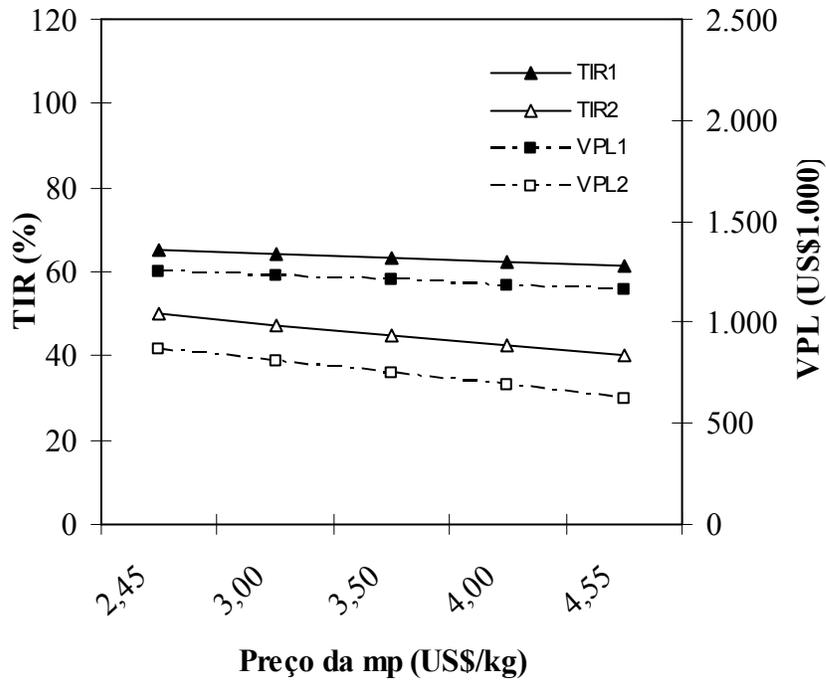
Os resultados da análise de sensibilidade, apresentados nas Tabelas de 5.13 a 5.18, estão resumidos nas Figuras 5.7 (a), (b) e (c) e 5.8 (a), (b) e (c) para as condições 152 bar e 40 °C (1) e 103 bar e 50 °C (2).



(a)

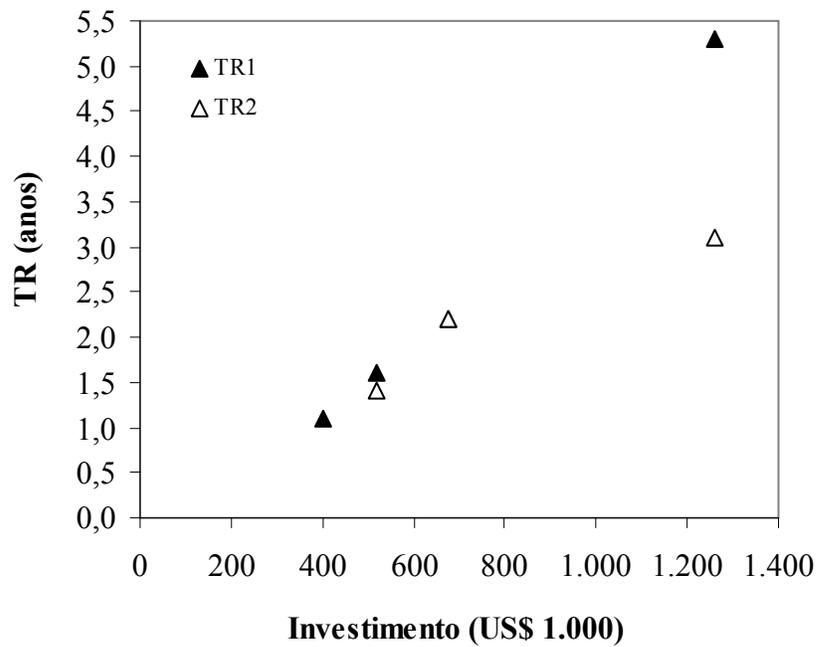


(b)

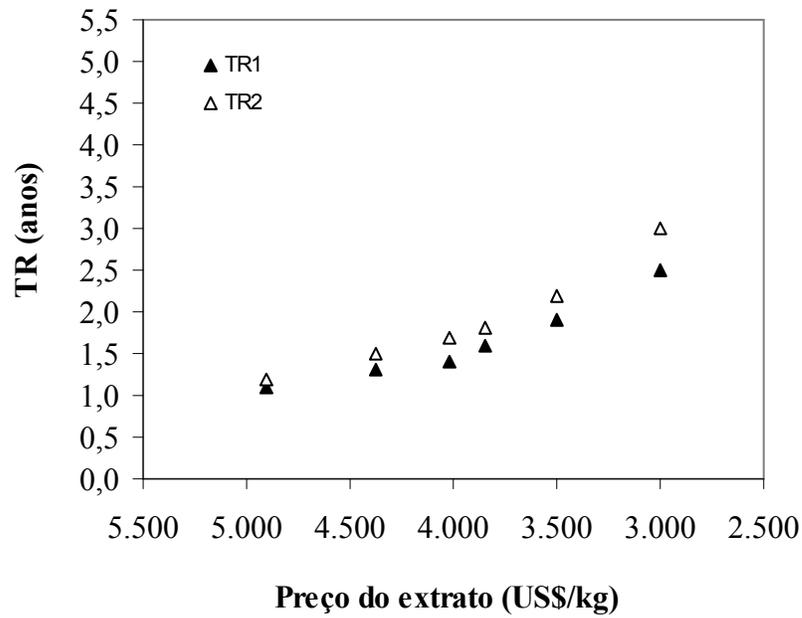


(c)

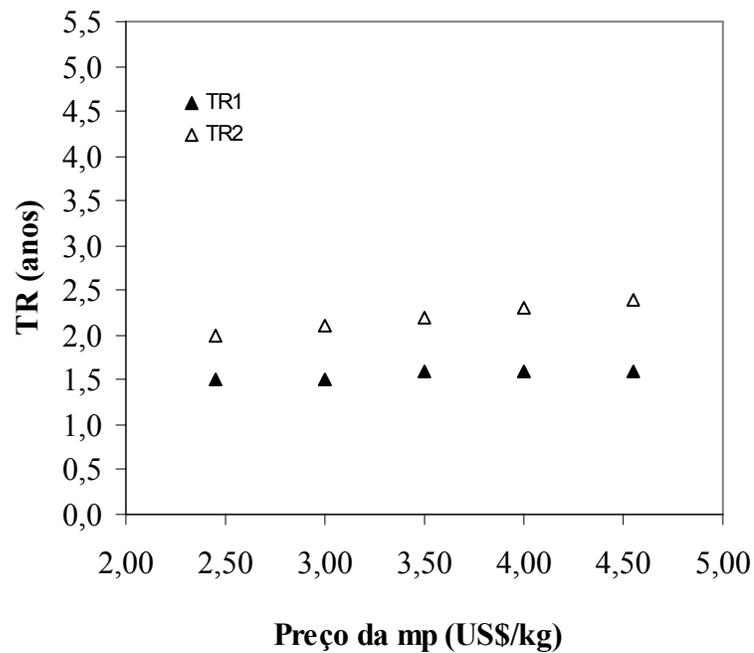
Figura 5.7 – Influência do (a) investimento, (b) preço do extrato e (c) preço da matéria-prima (mp) sobre os indicadores econômicos VPL e TIR: (1) 152 bar, 40 °C; (2) 103 bar, 50 °C.



(a)



(b)



(c)

Figura 5.8 – Influência do (a) investimento, (b) preço do extrato e (c) preço da matéria-prima (mp) sobre o indicador econômico TR: (1) 152 bar, 40 °C; (2) 103 bar, 50 °C.

Capítulo 5: Estudo da Viabilidade Financeira

Dentre as variáveis analisadas, o valor do investimento apresentou o maior impacto sobre o desempenho econômico da unidade de extração, seguido pelo preço do extrato. O preço da matéria-prima apresentou menor importância sobre os indicadores econômicos, reforçando, como discutido na Seção 5.2.6, que a influência da parcela CRM (custo da matéria-prima) sobre o custo total de manufatura está relacionada com o rendimento de extração. Como a análise da sensibilidade é estudada mantendo-se o rendimento fixo para cada condição de extração específica, essa influência não foi detectada por este tipo de avaliação.

A relevância do valor do investimento sobre o desempenho econômico pode ser amenizada, por exemplo, aumentando-se o nível de produção. Em todos os cálculos, a análise foi realizada para uma quantidade pré-estabelecida de extrato igual a 180 kg/ano, o que significa que o investimento está sendo pago por esta quantidade. Um possível aumento na demanda de extrato e, conseqüentemente, uma maior ocupação da unidade de extração pode diminuir a importância do investimento sobre o custo de manufatura, já que o investimento será pago por uma maior quantidade de lotes ou de produto.

Portanto, a análise de sensibilidade permitiu avaliar a variabilidade dos resultados frente a modificações nos valores das principais variáveis, que poderiam, a princípio, ser consideradas críticas no desempenho financeiro do processo.

A opção por uma unidade de extração de menor preço e a possibilidade de se obter um produto com maior valor comercial torna o investimento bastante atraente do ponto de vista de rentabilidade, segurança e liquidez.

O estudo preliminar de viabilidade financeira do processo de obtenção do extrato de jambu com dióxido de carbono supercrítico indicou, dentro dos limites da metodologia aplicada, a viabilidade financeira do processo.

CAPÍTULO 6: CONCLUSÕES E SUGESTÕES

6.1 - Conclusões

A tecnologia de extração com fluido supercrítico é uma alternativa extremamente promissora para a obtenção de produtos naturais. Nesta tese de doutorado, estudou-se pela primeira vez a viabilidade técnica e financeira da extração de espilantol da planta *Spilanthes acmella* var *oleraceae* utilizando como solvente o dióxido de carbono supercrítico a temperaturas entre 40 e 60 °C e pressões entre 76 e 352 bar. A seguir são apresentadas as conclusões desse estudo, dividido em três partes.

6.1.1 - Ensaio preliminares

Os resultados dos ensaios preliminares, apresentados no Capítulo 4, permitiram:

1. Confirmar a presença de espilantol na amostra estudada.
2. Comparar os diversos processos:
 - a. Rendimentos de espilantol em torno de 0,25% foram obtidos por extração por maceração a frio em hexano, por refluxo de solvente com etanol e através de CO₂ puro a 276 bar e 40 °C (dp = 0,180 mm).
 - b. Maiores rendimentos de espilantol foram obtidos através da extração com CO₂ saturado com etanol e CO₂ saturado com acetato de etila (0,37 e 0,34%, respectivamente).
 - c. O extrato com maior pureza relativa (fração mássica de espilantol nos extratos) foi obtido com CO₂ puro e com o co-solvente acetato de etila.
 - d. O extrato com coloração mais adequada à aplicação comercial foi obtido com CO₂ puro.
3. Sistematizar os procedimentos e rotinas de extração e análise, principalmente do processo de extração com CO₂ supercrítico puro, que se mostrou mais adequado para a extração de espilantol de *Spilanthes acmella* var *oleraceae*, de acordo com os objetivos do presente trabalho.

6.1.2 - Ensaios com CO₂ supercrítico puro

Os resultados dos ensaios com CO₂ supercrítico puro apresentados no Capítulo 4, levam às seguintes conclusões:

4. As curvas de extração obtidas para o extrato e para o espilantol apresentam três regiões distintas. A primeira região, onde predomina o efeito da solubilidade, a segunda região (intermediária), na qual ocorre a desaceleração na taxa de extração, e a terceira região controlada pela difusão.
5. O diâmetro de partícula influenciou o processo de extração. O rendimento da extração aumentou com a redução do diâmetro de partícula.
6. A vazão de CO₂, dentro da faixa estudada, não influenciou significativamente o rendimento do processo.
7. O aumento da densidade do CO₂ favoreceu o rendimento de extrato, mas não necessariamente favoreceu o rendimento de espilantol.
8. O rendimento de extrato e o rendimento de espilantol diminuíram com o aumento da temperatura, caracterizando a existência do comportamento retrógrado.
9. O efeito da temperatura sobre o rendimento de extrato e de espilantol torna-se menos pronunciado a pressões mais elevadas.
10. Em geral, recuperações de espilantol em torno de 70 a 80% foram atingidas considerando a primeira e segunda região da curva da cinética de extração.
11. O maior rendimento de espilantol foi obtido a 200 bar e 50 °C. Rendimento este que representa uma recuperação de 90% da quantidade inicialmente presente no material vegetal.
12. A maior fração mássica de espilantol no extrato foi obtida a 76 bar e 40 °C, condição esta que apresentou também a menor recuperação de espilantol.
13. Colorações mais claras do extrato (amarelo pálido a amarelo) foram obtidas com menores densidades de solvente supercrítico.

14. As condições intermediárias de densidade (400 a 750 kg/m³) proporcionaram o melhor resultado geral, considerando recuperação do espilantol, pureza e aspecto físico (cor) dos extratos.
15. A fração mássica de espilantol no extrato (pureza relativa), em geral, diminui com o aumento do tempo de extração.
16. Em nenhuma condição estudada a cor foi tão escura quanto aquelas obtidas no processo de maceração em hexano ou por refluxo de solvente utilizando etanol ou utilizando CO₂ supercrítico adicionado de co-solventes.
17. A tecnologia de fluido supercrítico mostrou-se uma técnica adequada para extração de espilantol da espécie estudada resultando em rendimentos, concentração mássica e aspectos físicos satisfatórios sem a necessidade de etapa adicional de concentração ou purificação.

6.1.3 - Estudo da análise financeira do investimento

Através do estudo preliminar de viabilidade financeira, conclui-se que:

18. O custo de manufatura, em geral, diminuiu com o tempo de extração.
19. Maiores rendimentos de extração resultaram em menores custos de manufatura.
20. O preço da matéria-prima tem maior impacto sobre o custo de manufatura para ciclos de extração curtos.
21. O investimento apresentou grande impacto sobre os indicadores econômicos, assim como o preço de comercialização do extrato.
22. O preço da matéria-prima apresentou pouca influência sobre os indicadores econômicos.
23. Dentro dos limites da metodologia aplicada, conclui-se que a receita gerada com a comercialização do extrato de jambu supera os custos de produção relativos à extração com fluido supercrítico, com boa margem de segurança, rentabilidade e liquidez.

Este trabalho, ao avaliar técnica e financeiramente o processo de extração de espilantol com CO₂ supercrítico a partir do jambu, gerou resultados tecnológicos relevantes, expressos através do depósito de uma patente no INPI, e resultados científicos originais, com a geração de dados experimentais de cinética de extração inéditos na literatura científica, contribuindo para a evolução do estado da arte nesse campo do conhecimento. A conjugação de interesses científicos e tecnológicos realizada nessa tese de doutorado é um exemplo concreto da importância estratégica para o país que é a geração de conhecimentos direcionados ao interesse da indústria brasileira.

6.2 – Sugestões

Em continuidade ao estudo de extração de espilantol com fluido supercrítico, sugere-se:

1. Realizar a modelagem matemática da cinética de extração supercrítica.
2. Realizar ensaios em escala piloto visando a otimização do processo e aumento de escala para posterior aplicação industrial.
3. Estudar a etapa de separação do solvente, analisando, sobretudo, a influência da temperatura e pressão sobre a recuperação do espilantol.
4. Avaliar a coloração dos extratos por método analítico quantitativo.
5. Estudar a composição química das várias partes da planta (flores, folha e caule) separadamente.

EQUAÇÕES:

$$COM = 0,304FCI + 2,73COL + 1,23(CUT + CWT + CRM)$$

$$\left(\frac{Msol}{G}\right)_{lab} = \left(\frac{Msol}{G}\right)_{ind}$$

$$VPL = \sum_{n=1}^P \frac{Vn}{(1+i)^n} - V0$$

$$TR = \frac{V0}{Vn}$$

$$LOP = R - CVV$$

$$IR = \left(\frac{25}{100}\right)LOP$$

$$LLIQ = LOP - IR$$

$$Vn = LLIQ + D - CG$$

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACREE, Jr., F., JACOBSON, M., HALLER, H. L. An amide possessing insecticidal properties from the roots of *Erigeron affinis* DC. *Journal of Organic Chemistry*, v.10, n.3, p.236-242, 1945.

ADA - Plano de desenvolvimento sustentável da Amazônia legal: Estudos diagnósticos setoriais PDSA 2005-2008. Projeto PRODESAM (Ações Integradas Para o Planejamento do Desenvolvimento Sustentável da Amazônia). Belém, 2006. Disponível em www.ada.gov.br

ALEKSOVSKI, S., SOVOVÁ, H., POPOSKA, F. A., KULEVANOVA, S., RISTIČ, M. Comparison of essential oils obtained from *Mentha piperita* L. using supercritical carbon dioxide extraction and hydrodistillation. *Acta Pharm.* v.49, n.1, p.51 – 57, 1999.

ANGUS, S., ARMSTRONG, B., REUCK, K. M. *International thermodynamic tables of the fluid state carbon dioxide*, New York, E.U.A: Pergamon Press, 1976.

ANÔNIMO. Assentamento cultiva planta da Amazônia para a indústria de cosmético. Disponível em www.justica.sp.gov.br/Imprimir.asp?CodNoticia=1742. 2005. Acesso em Julho de 2007.

AZEVEDO, A. B. A. *Extração e recuperação dos princípios ativos do café utilizando fluidos supercríticos*. Campinas: Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, 2005. 202 p. Tese (Doutorado).

AZEVEDO, A. B. A., MOHAMED, R. S., KOPCAK, U. Supercritical fluid extraction and fractionation of cupuaçu fat from fermented seeds with supercritical solvents. *Journal of Supercritical Fluids*, v.27, p.223-237, 2003.

BARRETO, M. B., MARTINS NETO, J. S., BEZERRA, A. M. E., SOUZA BRASIL, N. V. G. P. Constituintes químicos voláteis de *Acmella oleracea*. In: Anais do XII Encontro de Iniciação Científica, UECE, Fortaleza, 2003.

BARUAH, R. N., **LECLERCQ**, P. A. Characterization of the essential oil from flower heads of *Spilanthes acmella*. *Journal of Essential Oil Research.*, v.5, p.693-695, Nov-Dec 1993.

BEHARRY, C. R., **DIOSADY**, L. L., **RUBIN**, L. J., **HUSSEIN**, A. A. Process for removing chlorophyll color impurities from vegetable oils. The Procter & Gamble Co., USA. U.S. Patent 5,315,021. May 24, 1994.

BELFER, W. A. Cosmetic composition to accelerate repair of functional wrinkles. US Patent Application 20070048245. Sep. 1, 2005.

BERTUCCO, A., **VETTER**, G. *High pressures process technology: Fundamentals and applications*. Amsterdam, The Netherlands: Elsevier Science B.V., 2001, 659 p.

BINGELLI, E. C., **GASSENMEIER**, K. F., **MOLNAR**, J., **SCHIEBERLE**, P. Production of 2-furfurylthiol in brassica seeds and use of same. U.S. Patent Application 20030165587. Sep. 4, 2003.

BJÖRKLUND, E., **JARENO**, M., **MATHIASON**, L., **JÖNSSON**, J. A., **KARLSSON**, L., Illustration of important mechanisms controlling mass transfer in supercritical fluid extraction. *Analitica Chimica Acta*, v. 368, p.117-128, 1998.

BORK, M., **HILLER**, W., **KORNER**, J.P., Production plants for supercritical extraction of natural substances. In Proceedings of the IV Brazilian Meeting on Supercritical Fluids, CD-Rom, Salvador, 9-11 de Outubro de 2001.

BRÁZ, T., **BEBER**, T. C., **NOVAES**, A., **ESTEVEZ**, S. S., **OLIVEIRA**, A. P. Influência do revestimento da embalagem na estabilidade química de uma emulsão óleo em água contendo espilantol. In: Anais do 21º Congresso Brasileiro de Cosmetologia, São Paulo, 15-17 de Maio de 2007.

BRUNNER, G. *Gas extraction: An introduction to fundamentals of supercritical fluids and the applications to separation processes*. New York, USA: Steinkopff Darmstadt Springer, 1994, 387 p.

BUTTERS, D. E., DAVIS, C. K. C., MCGEARY, R. P., POWANDA, M. C., RINSFORD, K. D., WHITEHOUSE, M. W. Extracts of celery seed for the prevention and treatment of pain, inflammation and gastrointestinal irritation. U.S. Patent Application 20020081343. June 27, 2002.

CALLE. M., CABALLERO, J. D. P. Efectos antiherpes y antiaftas del *Spilanthes americana* (Chisacá). *Revista de la Federación Odontológica Colombiana*, v.24, n.120, p.59-66, 1977.

CASTOR, T. P., TYLER, T. A., RICHARD J. Methods for making Hypericum fractions and St. John's Wort products. US Patent 6,291,241 Sep. 18, 2001.

CASTRO, M. D. L., JIMÉNEZ-CARMONA, M. M. Where is supercritical fluid extraction going? *Trends in Analytical Chemistry*, v,19, n.4, p.223-228, 2000.

CATCHPOLE, O. J., PERRY, N. B., SILVA, B. M. T, GREY, J. B., SAMLLFIELD, B. M. Supercritical extraction of herbs I: Saw Palmetto, St John's wort, kava root and Echinacea. *Journal of Supercritical Fluids*, v.22, p.129-138, 2002.

CHIMOWITZ, E. H., KELLEY, F. D., MUNOZ, F. M. Analysis of retrograde behavior and the crossover effect in supercritical fluids. *Fluid Phase Equilibria*, v. 44, n.1, p 23-52, 1988.

CHIMOWITZ, E. H., PENNISI, K. J. Process synthesis concepts for supercritical gas extraction in the crossover region. *AIChE Journal*, v.32, n.10, p.1665-1676, 1986.

CHIU, K. L; CHENG, Y.C; CHEN, J. H; CHANG, C. J.; YANG, P. W. Supercritical fluids extraction of Ginkgo ginkgolides and flavonoids. *Journal of Supercritical Fluids*, v.24, p.77-87, 2002.

CLIFFORD, T. *Fundamentals of supercritical fluids*. New York, USA: Oxford University Press, 1998, 210 p.

COSTA, C. T, **MARGOLIS**, S. A., **BENNER**, B. A, **HORTON**, D. Comparison of methods for extraction of flavanones and xanthenes from the root bark of the osage orange tree using liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, v.831, p.167-178, 1999.

CROMBIE, L. B. Method of extracting lutein from green plant materials. U.S. Patent Application 20040220432. Nov.4, 2004.

CYGNAROWICZ-PROVOST, M. In: *Supercritical Fluid Technology in Oil and Lipid chemistry*. AOCS, 1996. Cap.7: Design and Economic Analysis of Supercritical Fluid Extraction Processes, p.155-179.

DEL VALLE, J. M., **DE LA FUENTE**, J. C., **CARDARELLI**, D. A. Contributions to supercritical extraction of vegetable substrates in Latin America. *Journal of Food Engineering*, v.67, p.35-57, 2005.

DEL VALLE, J. M., **JIMÉNEZ**, M., **DE LA FUENTE**, J. C. Extraction Kinetics of pre-pelletized Jalapeño peppers with supercritical CO₂. *Journal of Supercritical Fluids*, v.25, p.33-44, 2003.

DELARCINA-JUNIOR, S., **CAGNON**, J. R., **SILVA**, A. R., **FUKUSAWA**, V. E. N. Processo de preparação de extrato de jambu, uso do referido extrato, composições cosméticas compreendendo o mesmo e produtos cosméticos compreendendo as ditas composições cosméticas. Natura Cosméticos S.A., Brasil. PI0500886-7. Março 23, 2005.

EGGERS, R., **AMBROGI**, A., **SCHNITZLER**, J. Special features of SCF solid extraction of natural products: Deoiling of wheat gluten and extraction of rose hip oil. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, v.17, n.3, p. 1-7, 2000.

EKART, M. P., **BENNETT**, S. M. E., **GURDIAL**, G. S., **LIOTTA**, C. L., **ECKERT**, C. A. Cosolvent Interactions in Supercritical Fluid Solutions. *AIChE Journal*, v.39, p.235-248,

1993.

FABRY, W. Fungistatic and Fungicidal activity of East African medicinal plants. *Mycoses*, v.39 (1-2), p.67-70, 1995.

FERREIRA, E. J. L., **NASCIMENTO**, J. F., **LIMA**, A. C., **SILVA**, C. R., **OLIVEIRA**, E. S. Óleos de plantas nativas da Amazônia – Parte 1. Disponível em Boletim Ecológico on line, 2005, <http://www.strallos.com.br/eco/>. Acessado em 12/09/2007.

FIORI, L. Grape seed oil supercritical extraction kinetic and solubility data: Critical approach and modeling. *Journal of Supercritical Fluids*, v. 43, p. 43–54, 2007.

FLAMER, L., **GRAINGER**, B., **BODEN**, R., **CHRISTENSEN**, C. Anti-dandruff and anti-itch compositions containing a cooling sensate material and a cooling sensate enhancer. International Flavors & Fragrances Inc., USA. EP Patent 1332772. Aug. 06, 2003.

FOSTER, N. R., **GURDIAL**, G. S., **YUN**, J. S. L., **LIONG**, K. K., **TILLY**, K. D., **TING**, S. S. T., **SING**, H., **LEE**, J. H. Significance of the crossover pressure in solid supercritical fluid phase-equilibria. *Industrial Engineering Chemical Research*, v.30, p. 1955-1964, 1991.

FUKUCHI, N., **YOSHIDA**, F., **ITO**, S., **SUGANUMA**, N. Dentifrices containing glycyrrhetic acid, flavors and oils. Lion Corp., Japan. JP Patent 62155207. July 10, 1987.

GÓMEZ-PRIETO, M. L., **DEL CASTILLO**, M. L. R., **FLORES**, G. S. M., **BLANCH**, G. P., Application of Chrastil's model to the extraction in SC-CO₂ of β-carotene and lutein in *Mentha spicata* L. *Journal of Supercritical Fluids*, v.43 , p. 32–36, 2007.

GONG, J., **JIANG**, W. Pharmaceutical activity and manufacturing method of the compound recipe product of 4 kinds of plants to increase testosterone. U.S. Patent Application 20050142221. June 30, 2005.

GOTO, M., SATO, M., HIROSE, T. Extraction of perppemint oil by supercritical carbon dioxide. *Journal of Chemical Engineering of Japan*, v. 26, p.401-407, 1993.

GUSMÃO, S. A. L., GUSMÃO, M. T. A., VELASCO, W., SILVESTRE, D., LOPES, P. R. A. Caracterização do cultivo de jambu nas áreas produtoras que abastecem a grande Belém. Associação Brasileira de Horticultura. 2006. Disponível em www.abhorticultura.com.br/Biblioteca/Default.asp. Acesso em 28/08/2006.

HIMMELBLAU, D. M. Engenharia Química Princípios e Cálculos. Traduzido por Jossyl de Souza Peixoto. Rio de Janeiro, Brasil: Prentice Hall, 1984, 506 p.

IBÁÑEZ, E., OCA, A., MURGA, G., LÓPEZ-SEBASTIAN, S., TABERA, J., REGLERO, G. Supercritical fluid extraction and fractionation of different preprocessed rosemary plants. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, v.47, p.1400-1404, 1999.

IKEDA, Y., UKAI, J., YAMAMOTO, H. Facile routes to natural acyclic polyenes syntheses of spilanthol and trail pheromone for termite. *Tetrahedrom Letters*, v.25, n.45, p.5177-5180, 1984.

IKEDA, Y., UKAI, J., YAMAMOTO, H. Stereoselective synthesis of 1,4-disubstituted 1,3-diene from aldehyde using organotitanium reagent. *Tetrahedrom Letters*, v.43, n.4, p.731-741, 1987.

JACK, M. Marketing Manual and Web Directory for Organic Spices, Culinary Herbs and Essential Oils. International Trade Center. UNCTAD/WTO.Second Edition.Nov, 2006. Disponível em www.intracen.org/Oorganic/documents/marketing-manual.pdf. Acesso em 04/08/2007.

JACOBSON, M. The structure of spilanthol. *Chemistry and Industry*, n.2, p.50-51, 1957.

JOHNSON, S. S., GREENBERG, M. J., Hydrofobic sweetener-containing chewing gum having prolonged sensory benefits. U.S. Patent Application 2003072842. Apr. 17, 2003.

KADIR, H. A., **ZAKARIA**, M. B., **KECHIL**, A. A., **AZIRUN**, M. S. Toxicity and electrophysiological effects of *Spilanthes acmella* Murr Extracts on *Periplaneta americana* L. *Pesticide Science*, v.25, n.4, p.329-335, 1989.

KIRIAMITI, H., **SIÉVERINE**, C., **GOURDON**, C., **CONDORÉ**, J. S. Supercritical carbon dioxide of pyrethrum oleoresin and pale. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v.51, p.880-884, 2003.

KOPCAK, U. *Extração de cafeína de sementes da planta do guaraná com dióxido de carbono supercrítico e co-solventes*. Campinas: Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, 2003. 124 p. Dissertação (Mestrado).

KOPCAK, U., **MOHAMED**, R. S. Caffeine solubility in supercritical carbon dioxide/co-solvents mixtures. In Proceedings of the V Brazilian Meeting on Supercritical Fluids, CD Rom, Florianopolis, 21-23 de Abril de 2004.

LANG, Q., **WAI**, C. M. Supercritical fluid extraction in herbal and natural product studies – a practical review. *Talanta*, v.53, p.771-782, 2001.

LEAL, P. F., **MAIA**, M. B., **CARMELLO**, Q. A. C., **MEIRELES**, M. A. A. Supercritical extraction from *Ocimum basilicum* using CO₂ and CO₂ + H₂O: Global yields, chemical composition and antioxidant activity of the extracts. In Proceedings of the V Brazilian Meeting on Supercritical Fluids, CD Rom, Florianopolis, 21-23 de Abril de 2004.

LEKO, V. Herbal composition and medicament against diabetes mellitus type II manufactured thereof. U.S Patent 6,576,270. June 10, 2003.

LEY, J. P., **KRAMMER**, G., **BERTRAM**, H. J. Structure activity relationships of trigeminal effects for artificial and naturally occurring alkamides related to spilanthol. In Proceedings of the 11th Weurmann Flavour Research Symposium, Roskilde, Denmark. June, 2005.

LION CORP., JAPAN, Dentifrices containing silica and spilanthols abrasives. JP Patent 60041606. Mar. 05, 1985.

LION CORP., JAPAN, Dentifrices containing spilanthols and spice extracts. JP Patent 60075424. Apr. 27, 1985.

LION CORP., JAPAN, Flavors for dentifrices. JP Patent 57036891. Aug. 06, 1982.

MACDONALD, V. Natural ingredients in personal care products. *HAPPI - Household and Personal Products Industry Magazine*, June 2001.

MACÍAS-SANCHEZ, M. D., MANTELL, C., RODRÍGUEZ, M., MARTÍNES de la OSSA, E., LUBIÁN, L. M., MONTERO, O. Supercritical fluid extraction of carotenoids and chlorophyll **a** from *Nannochloropsis gaditana*. *Journal of Food Engineering*, v.66, p.245-251, 2005.

MAK, V., FRANCOEUR, M. L., CHAVDARIAN, C. G, PARKS, T. P., JUNG-CHUNG LEE, J. C, LEE, C. Anti-inflammatory agents and methods for their preparation and use. Cellegy Pharmaceuticals, Inc. USA. US Patent Application 20020182260. Dec. 5, 2002.

MAPA – Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento: Plantas Medicinais – Orientações Gerais para o Cultivo. Brasília, Outubro de 2006. Disponível em www.agricultura.gov.br. Acesso em 15/01/2008.

MCHUGH, M. A., KRUKONIS, V. J. *Supercritical fluid extraction: Principles and practice*. Boston, USA: Butterworths Publishers, 1994, 512 p.

MENDES, M. F., PESSOA, F. L. P, ULLER, A. M. C. An economic evaluation based on an experimental study of the vitamin E concentration present in deodorizer distillate of soybean oil using supercritical CO₂. *Journal of Supercritical Fluids*, v. 23, p. 257-265, 2002.

MOHAMMADI, F., VARGAS, A. Cosmetic composition for stressed skin under conditions containing a hydrocarbon, a silicone and plants extracts. FD Management, INC., USA. WO Patent 2001095728. Dec. 20, 2001.

MOLINATORRES, J., GARCIGLIA, R. S., CHÁVEZ, A. G., DEL RIO, R. E. Purely olefinic alkamides in *Heliopsis longipes* and *Acmella (Spilanthes) oppositifolia*. *Biochemical Systematics and Ecology*, v. 24, n. 1, p.43-47, 1996.

MOROE, M., HOSODA, F. Bath preparations containing spilanthol. Takasago Perfumary Co. Ltd. Japan. JP Patent 60215610. Oct. 29, 1985.

MURALIDHARA, H. S., SEYMOUR, G. F., JIRJIS, B. F., OTTEN, D. D., LUO, X. Removal of gum and chlorophyll-type compounds from vegetable oils. Cargil, Inc. USA. U.S. Patent 6,376,689. April 23, 2002.

NAGASHIMA, M., NAKATANI, N. LC-MS and structure determination of pugenit alkamides from *Spilanthes acmella* L flowers. *Food Science Technology*, v.25, p.417-421, 1992.

NAKATSU, T., MAZEIKO, P. J., ANDREW, T. JR., GREEN, C. B., MANLEY, C., SPENCE, D. J., OHTA, H. A composition causing different skin sensations. Takasago International Corp. Japan. JP Patent 1121927. Aug. 08, 2001.

NAYAK, S. CHAND, R. Dynamics of spilanthol in *Spilanthes acmella* Murr. In plant growth and development. *Indian Drugs*, v.39, n.8, p.419-421, 2002.

NIAZI, S., SHEMESH, A. Chewing gum containing a medicament and taste maskers. Farmacon Research Corp. USA. US Patent 4639368. Jan. 27, 1987.

NIAZI; S. K. Herbal composition for the treatment of alopecia. US Patent 6,495,174. Dec. 12, 2002.

NIGRINIS, L. S. O., CARO, J. O., OLARTE, E. N. Estudio Fitofarmacológico de la fracción liposoluble de las flores de la *Spilanthes americana* (Mutis) parte I: Estudio Fitoquímico. *Revista Colombiana de Ciencias Químico-Farmacéuticas*, v. 15, p.37-47, 1986.

OYA, T., TSUKADA, H. *Plant oils as insecticides. Natural Products Co. Japan. JP Patent 2002363012. Dec. 18, 2002.*

PEI, H., GUO, Q., BO, C., HONGWU, Z. Fagopyrum cymosum (Trev) Meisn composition, method to prepare and analyze the same and the uses thereof. U.S Patent 6,451,353. Sep. 17, 2002.

PEREIRA, C. G., ROSA, P. T. V., MEIRELES, M. A. A. Extraction and isolation of indole alkaloids from *Tabernaemontana catharinensis* A.DC: Technical and economical analysis. *Journal of Supercritical Fluids*, v. 40, p.232-238, 2007.

PEREIRA, C. G. *Extração de alcalóides indólicos de Tabernaemontana catharinensis (A.DC.) com dióxido de carbono supercrítico + etanol.* Campinas: Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, 2002. 153 p. Dissertação (Mestrado).

PERRUT, M. Industrial application of supercritical fluids. In Proceedings of the Iberoamerican Conference of Supercritical Fluids, Foz do Iguaçu, Abril, 2007.

PERRUT, M. Supercritical fluid applications: Industrial developments and economic issues. *Industrial Engineering Chemical Research*, v. 39, n.12, p.4531-4535, 2000.

PETERS, M. S., TIMMERHAUS, K. D. *Plant Design and Economics for Chemical Engineers.* Tokyo, Japan: McGraw-Hill, Ltda, 1991, 539 p.

POVH, N. P., MEIRELES, M. A. A. Supercritical CO₂ extraction of essential oil and oleoresin from chamomile (*Chamomilla recutita* L. Rauschert). *Journal of Supercritical Fluids*, v.21, p.245-256, 2001.

QUISPE-CONDORI, S., SÁNCHEZ, D., FOGLIO, M. A., ROSA, P. T., ZETZL, C., BRUNNER, G., MEIRELES, M. A. A. Global yield isotherms and kinetic of artemisinin extraction from *Artemisia annua* L leaves using supercritical carbon dioxide. *Journal of Supercritical Fluids*, v.36, p.40-48, 2005.

RAMSEWAK, R. S., ERICKSON, A. J., NAIR, M. G. Bioactive N-isobutylamides from the flower buds of *Spilanthes acmella*. *Phytochemistry*, v.51, p. 729-732, 1999.

RATNASOORIYA, W. D, PIERIS, K. P. P., SAMARATUNGA, U., JAYAKODY, J. R. A. C. Diuretic activity of *Spilanthes acmella* flowers in rats. *Journal of Ethnopharmacology*, v.91, n.2-3, p.317-320, April 2004.

REBELLO, F. K., HOMMA, A. K. O uso da terra na Amazônia: Uma proposta para reduzir desmatamentos e queimadas. *Revista Amazônia Ciência e Desenvolvimento*, Belém, v.1, n.1, jul. 2005.

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

REVERCHON, E., DE MARCO, I. Supercritical fluid extraction and fractionation of natural matter- Review. *Journal of Supercritical Fluids*, v.38, p. 146-166, 2006.

REVERCHON, E., DELLA PORTA, G., TADDEO, R. Extraction of sage essential oil by supercritical CO₂: Influence of some process parameters. *Journal of Supercritical Fluids*, v.8, p.302, 1995.

REVERCHON, E., MARRONE, C. Supercritical extraction of clove bud essential oil: isolation and mathematical modeling. *Chemical Engineering Science*, v.52, n.20, p.3421-3428, 1997.

RIZVI, S. S. H, BENADO, A. L, ZOLLWEG, J. A., DANIELS, J. A. Supercritical fluid extraction: Fundamental principles and modeling methods. *Food Technology*, p.55-64, June 1986.

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

ROSA, P. T. V., MEIRELES, M. A. A. Rapid estimation of the manufacturing cost of extracts obtained by supercritical fluid extraction. *Journal of Food Engineering*, v.67, p.235-240, 2005.

ROSA, P. T. V., MEIRELES, M. A. A. Supercritical technology in Brazil: system investigated (1994 – 2004). In Proceedings of the V Brazilian Meeting on Supercritical Fluids, CD-Rom, Florianópolis, 21-23 de Abril de 2004.

RUEPP, M. O. Putamen ovi. U.S. Patent Application 20070122489. May 31, 2007.

SÁBIO, E. R., RAMIRO, G. A., GONZALEZ GONZALEZ, J. F., CASTRO GOMEZ, F. J., BERNALTE, M. J., MORENO, V. T. E., HERNANDEZ, T. M., COELHO, J. A., PALAVRA, A. F., LOZANO, M. R. Method for producing an organic solvent-free lycopene concentrate the resulting concentrate and composition comprising said concentrate. U.S. Patent Application 20040131733. July 8, 2004.

SÁBIO, E., LOZANO, M., ESPINOSA, V. M., MENDES, R. L., PEREIRA, A. P., PALAVRA, A. F., COELHO, J. A. Lycopene and β -carotene extraction from tomato processing waste using supercritical CO₂. *Industrial Engineering Chemical Research*, v.42, p.6641-6646, 2003.

SALDAÑA, M.D.A. *Extração de alcalóides de produtos naturais com fluido supercrítico*. Campinas: Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, 2002. 287 p. Tese (Doutorado).

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*, v. 22, p.119-127, 2002.

SCALIA, S., GIUFFREDA, L., PALLADO, P. Analytical and preparative supercritical fluid extraction of Chamomile flowers and its comparison with conventional methods. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, v.21, p.549-558, 1999.

SCHAEFFER, S. T., ZALKOW, L. H., TEJA, A. S. Solubility of monocrotaline in supercritical carbon dioxide and carbon-dioxide ethanol mixtures. *Fluid Phase Equilibria*, v. 43, p.45-56, 1988.

SHEN, P. N., RUAN, K. F., WANG, Y. L., YU, W., ZHANG, W. O., HONG, X. K., WANG, X. H. Composition comprising extracts of flos lonicerae, fructus forsythiae and radix scutellariae, uses and preparation thereof. U.S. Patent Application 20020168426. Nov. 14, 2002.

SHIMADA, T.; GOMI, T. Spilanthol-rich essential oils for manufacturing toothpastes or other oral compositions. JP Patent 07090294. Sep. 20, 1995.

SIEVERS, U., EGGERS, R., Heat recovery in supercritical fluid extraction process with separation at subcritical pressure. *Chemical Engineering and Processing*, v35, p.239-246, 1996.

SIEVERS, U., Energy optimization of supercritical fluid extraction processes with separation at supercritical pressure. *Chemical Engineering and Processing*, v.37, p.451-460, 1998.

SILVA, G.F. *Extração de Corantes do Urucum com Dióxido de Carbono supercrítico*. Campinas: Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, 1997. Tese (Doutorado).

SIMÁNDI, B., KRISTO, Sz. T., KE'RY, A', SELMECZI, L.K., KMECZ, I., KEME'NY, S. Supercritical fluid extraction of dandelion leaves. *Journal of Supercritical Fluids*, v.23, p.135-142, 2002.

SOVOVÁ, H., KUČERA, J., JEŽ, J. Rate of the vegetable oil extraction with supercritical

CO₂ – II. Extraction of grape oil. *Chemical Engineering Science*, v.49, n.3, p.415-420, 1994.

STASHENKO, E. E., **PUERTAS**, M. A., **COMBARIZA**, M. Y. Volatile secondary metabolites from *Spilanthes americana* obtained by simultaneous steam distillation-solvent extraction and supercritical fluid extraction. *Journal of Chromatography A*, v.752, p.223-232, 1996.

SUGANO, H., **YOSHIDA**, F., **WATANABE**, Y., **TOKUMOTO**, N. Dentifrices containing organic acids and flavors. Lion Corp. Japan. JP Patent 62198611. Sep. 02, 1987.

SWEET, E. C. Apparatus for making herbal extracts using percolation. US Patent 6,555,074. Apr. 29, 2003.

TAYLOR, L.T. *Supercritical Fluid Extraction*. New York, USA: John Wiley & Sons Inc., 1996, 180 p.

THUESEN, G. J., **FABRYCKY**, W. J. *Engineering Economy*. New Jersey, USA: Prentice Hall, 1993, 717 p.

TOKUMOTO, N., **WATABE**, M., **HONMA**, Y. Xylitol with spilanthol for improving taste of food and dentifrice. Lion Corp. Japan. JP 2001178395. Jul. 03, 2001.

TORRES, J. M., **CHÁVEZ**, A. G. Alcamidas em plantas: distribuição e importancia. *Avance y Perspectiva*, v.20, p.377-387, 2001.

TOSHA, S., **TETSUO**, G. Spilanthol-rich essential oils for manufacturing toothpastes or other oral compositions. Lion Corp. Japan. JP Patent 07090294. Ap. 04, 1995.

TSUCHIYA, S. **HATASA**, S. **HOKA**, I. Dentifrice composition. GB Patent 1438205, 1976.

TURTON, R., BAILIE, R. C., WHITING, W. B., SHAEIWITZ, J. A. *Analysis, synthesis and design of chemical process*. New Jersey, USA: Upper Saddle River: Prentice Hall, 1998, 814 p.

ULRICH, G.D. *A guide to chemical engineering process design and economics*. New York: John Wiley & Sons, 1984.

UQUICHE E., DEL VALLE J. M., MONICA, I. H. L. Microstructure-Extractability Relationships in the Extraction of Prepelletized Jalapeño Peppers with Supercritical Carbon Dioxide. *Journal of Food Engineering*, v. 70, n.6, p. 379 -386, 2005.

VÁGI, E., SIMÁNDI, B., DAOOD, H. G., DEÁK, A., SAWINSKY, J. Recovery of pigments from *Origanum majorana* L. by extraction with supercritical carbon dioxide. *Journal of Agriculture and Food. Chemistry*, v.50, p. 2297-2301, June 2002.

VASCONCELLOS, C. *Extração supercrítica dos óleos voláteis de Achyrocline satureioides (Macela) e Vetiveria zizanioides (Vetiver): determinação da cinética de extração e estimativa de custos de manufatura*. Campinas: Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, 2007. 101 p. Dissertação (Mestrado).

WÓILER, S., MATHIAS, W. F. *Projetos – Planejamento, Elaboração e Análise*. São Paulo, Brasil: Editora Atlas, 1996, 296 p.

YAMASAKI, K., KONISHI, T., SHUDO, J. External preparations containing watercress extract. U.S. Patent 6,299,885. Oct. 09, 2001.

YOSHIDA, F., YAMAGISHI, K., TOKUMOTO, N., SUGANO, H. Dentifrices containing cineole. Lion Corp. Japan. JP Patent 61155315. July 15, 1986.

ZHANG, Y., WU, X., YU, Z., ZHU, Y., CHEN, L., LOU, S. Composition containing total triterpenoid saponins extracted from bamboo, and the preparation method and use thereof. U.S. Patent Application 20060148733. July 6, 2006.

ANEXO A – Curva analítica para quantificação do espilantol -CLAE

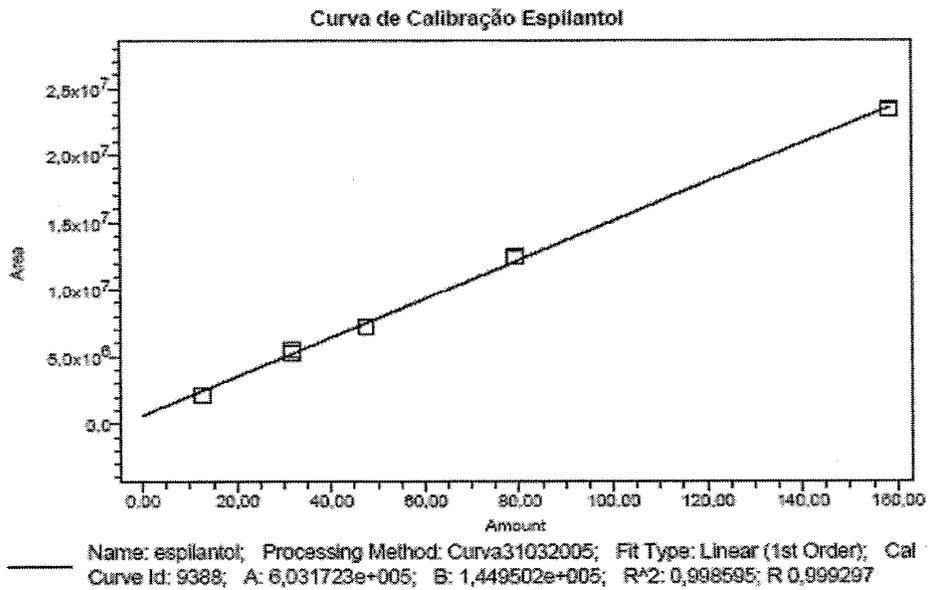


Figura A-1- Curva analítica obtida para o espilantol com injeções das seguintes soluções padrão: 12,67 µg/mL, 31,67 µg/mL, 47,5 µg/mL, 79,17 µg/mL, 158,34 µg/ml.

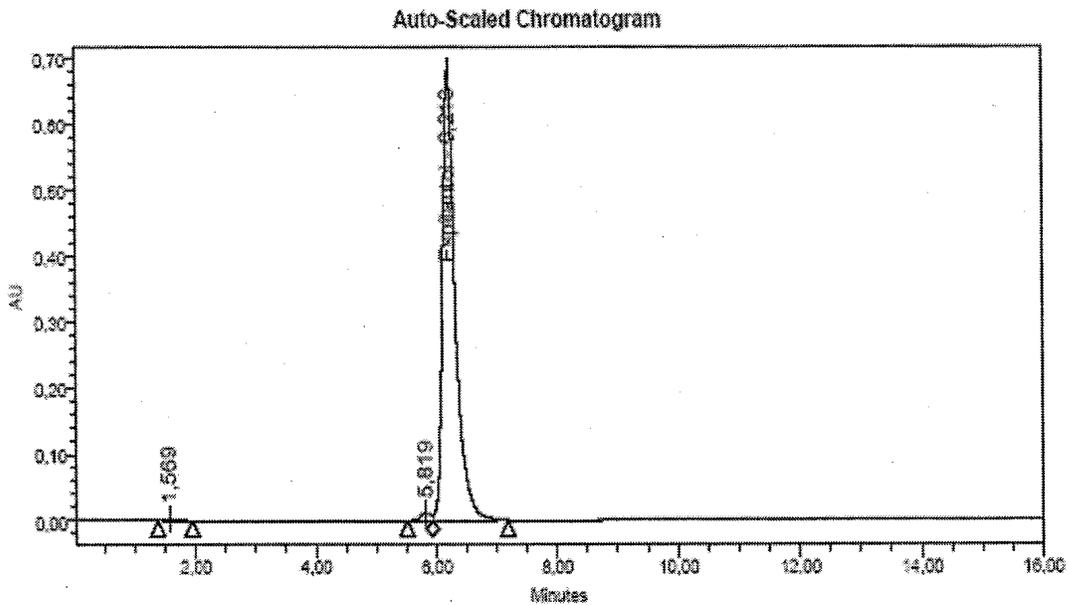


Figura A-2 – Pico de absorvância do espilantol em etanol a 229,8 nm.