



UNICAMP

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ENGENHARIA QUÍMICA
DEPARTAMENTO DE TERMOFLUIDODINÂMICA



LABORATÓRIO DE PROCESSOS E PRODUTOS

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**EXTRAÇÃO DA CUMARINA A PARTIR DAS SEMENTES DA
EMBURANA (*TORRESEA CEARENSIS*) UTILIZANDO DIÓXIDO DE
CARBONO SUPERCRÍTICO**

Dissertação Submetida à Comissão de Pós-Graduação
da Faculdade de Engenharia Química da Unicamp
como parte dos Requisitos para a obtenção do Título
de Mestre em Engenharia Química.

Autora: Rafaella da Fonseca Rodrigues

Orientador: Prof. Dr. Fernando Antonio Cabral - FEA-UNICAMP

Co-orientadora: Prof. Dra. Regina Mara Pereira - Dep. Farmácia – UNIBAN

Campinas, 25 de maio de 2005

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

R618e Rodrigues, Rafaella da Fonseca
Extração da cumarina a partir das sementes da emburana
(*Torresea cearensis*) utilizando dióxido de carbono
supercrítico / Rafaella da Fonseca Rodrigues.--Campinas,
SP: [s.n.], 2005.

Orientadores: Fernando Antonio Cabral, Regina Mara
Pereira

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de
Campinas, Faculdade de Engenharia Química.

1. Cumarinas. 2. Extração com fluido supercrítico. 3.
Solubilidade. I. Cabral Fernando Antonio. II. Pereira,
Regina Mara. III. Universidade Estadual de Campinas.
Faculdade de Engenharia Química. IV. Título.

Titulo em Inglês: Coumarin extraction from emburana seeds (*Torresea cearensis*)
using supercritical carbon dioxide

Palavras-chave em Inglês: Coumarin, Supercritical fluid extraction e Solubility

Área de concentração: Engenharia de Processo

Titulação: Mestre em Engenharia Química

Banca examinadora: Martin Aznar, Marisa Beppu

Data da defesa: 25/05/2005

**EXTRAÇÃO DA CUMARINA A PARTIR DAS SEMENTES DA
EMBURANA (*TORRESEA CEARENSIS*) UTILIZANDO DIÓXIDO DE
CARBONO SUPERCRÍTICO**

RAFAELLA DA FONSECA RODRIGUES

Dissertação de mestrado defendida por Rafaella da Fonseca Rodrigues e aprovada em 25 de maio de 2005 pela banca examinadora constituída dos seguintes membros:

Prof. Dr. Fernando Antonio Cabral
FEA/UNICAMP

Prof. Dr. Martín Aznar
FEQ/UNICAMP

Profa. Dra. Marisa Massumi Beppu
FEQ/UNICAMP

Este texto corresponde a versão final da dissertação de mestrado intitulada “Extração da cumarina a partir das sementes da emburana (*Torresea cearensis*) utilizando dióxido de carbono supercrítico” defendida por Rafaella da Fonseca Rodrigues em 25 de maio de 2005.

Prof. Dr. Fernando Antonio Cabral
FEA/UNICAMP

À minha amada mãe, Olinda
Ao Professor Rahoma (in memorium)

AGRADECIMENTOS

Ao Professor Cabral por ter me “adotado” no decorrer deste trabalho, pela paciência, dedicação e por compreender minha “correria”.

Aos colegas de laboratório, Tashima, Uiram e Álvaro, pelo auxílio constante e incessante durante os experimentos e análise dos dados. Em especial ao Uiram.

À amiga Kiara, pelo companheirismo em todas as horas.

À minha mãe, Olinda, pelo amor incondicional, pelo exemplo. Pela ajuda e suporte emocional em cada dificuldade enfrentada, mesmo a distância...

Ao FAEP e CAPES pelo apoio financeiro.

Muito obrigada!

“Posso levar os cavalos até a água, mas se eles irão bebê-la, ou se irão morrer de sede, já não posso fazer nada”.

[Provérbio sempre citado pelo Prof. Rahoma, a nós, seus orientados, todas às vezes que insistíamos em não fazer a “coisa certa”...].

RESUMO

A cumarina é um princípio ativo volátil encontrado em diversas espécies de plantas tais como guaco, emburana, agrião, cumaru, canela, entre outras, e em frutas como morango, cereja e damasco. Possui um odor forte e característico de baunilha. É utilizada como fixador de perfumes, aditivo em tintas e spray, aromatizantes de alimentos, produtos de limpeza, além de possuir propriedades antibióticas, bronco dilatadora, fungicida, anticoagulante, analgésica e também ser utilizada em tratamentos contra o câncer. Os processos mais comumente utilizados para obtenção de princípios ativos de plantas envolvem o uso de compostos orgânicos tóxicos como solvente de extração. Produtos farmacêuticos, alimentícios e cosméticos podem ser obtidos através do uso de um solvente na fase supercrítica com as vantagens de se utilizar solventes atóxicos e de se trabalhar a temperaturas relativamente baixas, sendo facilmente separado do produto final, devido a sua alta volatilidade, resultando em rendimento e seletividades superiores aos obtidos nos métodos convencionais de extração. O presente trabalho teve como objetivo, estudar o comportamento da solubilidade da cumarina em CO₂ supercrítico, em diversas condições experimentais, assim como avaliar os parâmetros de processo para extração de cumarina por meio de CO₂ supercrítico a partir de sementes de emburana. Os dados de equilíbrio transcritos em termos de solubilidade foram correlacionados pela modelagem termodinâmica que emprega a equação de estado de Peng-Robinson. Neste caso testou-se duas regras de mistura distintas, a clássica de van der Waals, com parâmetros de interação dependentes da temperatura e a regra de mistura de Mohamed-Holder com parâmetro de interação dependente da densidade do solvente. O modelo termodinâmico com a regra de mistura de van der Waals mostrou boa capacidade de correlação e extrapolação dos dados experimentais de solubilidade. Os parâmetros de processo estudados foram temperatura, pressão, tipo e tamanho de partícula. Os resultados revelam efeitos significativos das condições termodinâmicas de temperatura e pressão sobre a extração e sua seletividade. Os baixos rendimentos conseguidos apontam a necessidade de adequação da técnica para a extração de cumarina a partir de sementes de emburana, como por exemplo, a utilização de co-solventes.

ABSTRACT

Coumarin is a volatile principle active found on several vegetable species like guaco, emburana, water-cress, ipeca, coumarou, carapiá, cinnamon, among others, and in fruits like strawberry, cherry and damask. It has a characteristic strong vanilla smell. It is used as a perfume fixer, paint and spray additive, food flavoring, cleaning products, and also possesses antibiotic, bronchial dilator, fungicide, anticoagulant, analgesic properties and can also be used on cancer treatments. The most usual procedures to obtain vegetable active principles involve the use of toxic organic substances as extraction solvents. Besides, conventional extraction technique requires the purification of the obtained substances, what is usually made through use of high temperatures that can damage the product. Pharmaceutical, alimentary and cosmetic products can be obtained through use of a solvent in its supercritical phase with the advantages of use a non-hazardous solvents and work procedures on relatively low temperatures since the final product can be easily dissociated due to its high volatility, resulting in improved selectivity and efficiency when compared to traditional extraction methods. The present work had as an objective to study the solubility behavior of coumarin in supercritical CO₂ on several experimental conditions, as well as evaluate procedure parameters to the coumarin extraction from emburana seeds through use of supercritical CO₂. The results were correlated using the Peng-Robinson state equation with interaction parameters based on solvent density (Mohamed-Holder) and the van der Waals classic mixture rule, with parameters based on temperature. The Peng-Robinson thermodynamical model with van der Waals presented a good correlation capability and solubility experimental data extrapolation. The process parameters studied were temperature, pressure, type and size of the particle. The results show significant effects on pressure and thermodynamical conditions over the extraction and its selectivity. The low efficiency rates obtained point to the necessity of technique adjustment for coumarin extraction from emburana seeds, like for example, the use of co-solvents.

SUMÁRIO

RESUMO	i
ABSTRACT	ii
SUMÁRIO	iii
Lista de Figuras	iv
Lista de Tabelas	vii
NOMENCLATURA	viii
1 – INTRODUÇÃO	1
1.1 – Objetivos	4
2 – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	5
2.1 – Cumarina	5
2.2 – <i>Torresea cearensis</i>	10
2.3 – Fluido supercrítico	12
2.4 – Extração supercrítica (EFS)	14
2.4.1 – <i>Exemplos de aplicações da extração supercrítica</i>	14
2.4.2 – <i>Variação da densidade com a pressão e temperatura para fluido supercrítico</i>	15
2.4.3 – <i>Modelagem termodinâmica sólido-fluido supercrítico e comportamento da solubilidade</i>	16
2.4.3 – <i>Modelagem termodinâmica líquido-fluido supercrítico</i>	24
2.4.4 – <i>Curvas de extração de princípios ativos em matriz vegetal: modelos cinéticos</i>	25
3 – MATERIAIS E MÉTODOS	30
3.1 – Sistema de extração supercrítica	30
3.2 – Materiais	31
3.3 – Métodos Experimentais	32
3.3.1 – <i>Teste de solubilidade e extração supercrítica</i>	32
3.3.2 – <i>Extração convencional</i>	35
3.4 – Análise do teor de cumarina dos extratos	35
3.5 – Modelagem dos dados de solubilidade da cumarina	38
4 – RESULTADOS EXPERIMENTAIS	41
4.1 – Influência da Vazão de Solvente Supercrítico na Solubilização da Cumarina	41
4.2 – Solubilidade da Cumarina em Dióxido de Carbono Supercrítico	42
4.3 – Solubilização da Cumarina em CO ₂ Supercrítico em Estado Estacionário	46
4.4 – Modelagem da Solubilidade da Cumarina em CO ₂ Supercrítico	48
4.5 – Extração convencional da cumarina das sementes da emburana	53
4.6 – Extração supercrítica da cumarina a partir das sementes da emburana	58
5 – CONCLUSÕES	67
6 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	69
ANEXO 1	
ANEXO 2	
ANEXO 3	
ANEXO 4	

Lista de Figuras

Figura 2.1 – Estrutura da cumarina	5
Figura 2.2 – Rotas de produção da cumarina. À esquerda processo chinês. À direita, processo utilizado pela Rodhia.	6
Figura 2.3 – Foto da emburana <i>Torresea cearensis</i> (Lubambo, 2004).	11
Figura 2.4 – Flor da emburana: pequena, amarelada e em cachos (aia, 2004).	11
Figura 2.5 – Diagrama PT para uma substância pura.	13
Figura 2.6 – Diagrama pressão-temperatura-densidade para o CO ₂	15
Figura 2.7 – Comparação entre solubilidades calculadas através da equação de estado de Peng-Robinson com dados experimentais, para o sistema ácido benzóico-CO ₂ a três diferentes temperaturas, (McHugh e Krukonis, 1994).	22
Figura 2.8 – Exemplo de curva de extração: quantidade de soluto (caféina) extraída em função da massa de solvente utilizado, para diferentes diâmetros de partícula da matriz vegetal (guaraná) (Kopcak, 2003).	25
Figura 3.1 – Aparelho experimental de extração supercrítica. BH (1-2) – solvente; BH (3-4) co-solvente; G(1-2-3-4) – indicadores de pressão; P(1-2-3-4) – bombas; F(1-2-3-4) – filtros; V. microm. – válvula micrométrica; CV(1-2-3-4-5-6-7-8) – válvulas; TC (1-2-3-4-5-6-7) – termopares; Extrator 2 – extrator com agitação e jaqueta; Separ. – Separador; Amst. – amostragem	28
Figura 3.2 – Aparelhagem experimental de extração supercrítica: C- cilindro, BG- banho de gelo, CH- chiller, CV- válvula, E- extrator F- filtro, TG - totalizador de fluxo, VM- válvula micrométrica, B - bomba, PI - indicador de pressão, FS - vasos separadores (com álcool), TI - controlador e indicador de temperatura.	31
Figura 3.3 – Curva de calibração da cumarina no espectro UV utilizando água destilada como solvente, e leitura em 278 nm.	34
Figura 3.4 – Curva de calibração da cumarina no espectro UV utilizando álcool etílico absoluto como solvente, e leitura em 274 nm.	34
Figura 3.5 - Curva de calibração para a cumarina pura, em solução alcoólica, feita no cromatógrafo.	36
Figura 3.6 - Cálculo da pressão de vapor pela correlação de Watson (Lyman, 1990). Dados experimentais de Perry e Green (1997).	38
Figura 4.1 - Relação entre vazão e fração molar de cumarina solubilizada. Dados coletados a 15,17 MPa e 35 °C.	40
Figura 4.2 – Dados experimentais de fração molar de cumarina solubilizada versus pressão para diferentes temperaturas e vazão de solvente de 0,4 L/min.	41
Figura 4.3 – Dados experimentais de fração molar de cumarina solubilizada versus pressão obtida a 35, 45 e 55°C e pressões entre 11 MPa e 32 MPa a vazões de solvente de 0,4 L/min. Dados de Choi et al. (1998) coletados nas condições de 35 °C, 40 °C e 50°C, pressões entre 8,5 MPa e 25 MPa, com vazão de solvente de 0,2 L/min.	43
Figura 4.4 – Dados experimentais de fração molar de cumarina solubilizada versus pressão para diferentes temperaturas e vazão de solvente de 0,4 L/min e 0,9 L/min.	46
Figura 4.5 – Isotermas de solubilidade da cumarina a 308 K (35 °C), 318 K (45 °C) e 328 K (55 °C) e vazão de 0,4 L/min. Dados experimentais e modelo PR VDW.	47

Figura 4.6 – Isotermas de solubilidade da cumarina a 308 K (35 °C), 318 K (45 °C) e 328 K (55 °C) e vazão de 0,4 L/min. Dados experimentais e modelo PR MH.	48
Figura 4.7 – Comparação entre os dados experimentais e preditos utilizando a equação de estado de Peng-Robinson e a regra de mistura clássica de van der Walls considerando equilíbrio sólido-fluido supercrítico e líquido-fluido supercrítico.	50
Figura 4.8 – Comparação entre dados experimentais e preditos utilizando a equação de estado de Peng-Robinson e a regra de mistura clássica de van der Walls considerando equilíbrio sólido-fluido supercrítico e líquido-fluido supercrítico.	50
Figura 4.9 – Comparação entre os dados experimentais e preditos pelo modelo utilizando a equação de estado de Peng-Robinson e a regra de mistura clássica de van der Walls considerando equilíbrio sólido-fluido supercrítico e líquido-fluido supercrítico.	51
Figura 4.10 - Extração de cumarina utilizando 50 mg de casca da semente da emburana e 50 mL de álcool absoluto como solvente extrator.	53
Figura 4.11 - Extração utilizando 50 mL e 100 mL de hexano P.A. e 50 mg de sementes moídas (diâmetro entre 355 µm a 500 µm).	54
Figura 4.12 - Extração utilizando 50 mL de álcool absoluto e 50 mg de sementes moídas (diâmetro entre 355 µm e 500 µm).	54
Figura 4.13 - Comparação entre as extrações convencionais utilizando etanol absoluto e hexano como solvente. Utilizou-se 50 mg de sementes moídas (diâmetro entre 300 µm e 500 µm) e 50 mL de solvente.	55
Figura 4.14 – Cromatograma correspondente ao extrato obtido aos 20 min de extração com sonicação a 50°C. O pico da cumarina para o método utilizado fica em torno de 5,2 min. (a) Álcool etílico absoluto como solvente. (b) Hexano como solvente.	56
Figura 4.15 – Cromatograma correspondente ao extrato obtido aos 40 min de extração com sonicação a 50°C utilizando-se hexano como solvente extrator. Pode-se observar um 'cotovelo' característico de extratos onde esta havendo degradação da substância analisada.	56
Figura 4.16 - Influência do diâmetro da partícula na semente da emburana. Dados coletados a 35°C e 2200 psi. Vazão de solvente de 0,4 L/min.	58
Figura 4.17 – Cromatograma obtido da extração supercrítica da semente da emburana, diâmetro 355 µm, nas condições de 35°C, 15,17 MPa. (a) Extrato coletado após passagem de 30 L de solvente – 3º ponto. (b) Extrato coletado após passagem de 150 L de solvente – 9º ponto.	59
Figura 4.18 – Cromatograma obtido da extração supercrítica da semente da emburana, diâmetro 600 µm, nas condições de 35°C, 15,17 MPa. (a) Extrato coletado após passagem de 30 L de solvente – 3º ponto. (b) Extrato coletado após passagem de 150 L de solvente – 9º ponto.	59
Figura 4.19 – Cromatograma obtido da extração supercrítica da semente da emburana, diâmetro 850 µm, nas condições de 35°C, 15,17 MPa. (a) Extrato coletado após passagem de 30 L de solvente – 3º ponto. (b) Extrato coletado após passagem de 150 L de solvente – 9º ponto.	60
Figura 4.20 – Cromatograma obtido da extração supercrítica das sementes inteiras da emburana, nas condições de 35°C, 2200 psi. (a) Extrato coletado após passagem de 30 L de solvente – 3º ponto. (b) Extrato coletado após passagem de 150 L de solvente – 9º ponto.	60
Figura 4.21 – Cromatograma obtido da extração supercrítica das sementes inteiras da emburana sem casca, nas condições de 35°C, 2200 psi. (a) Extrato coletado após passagem de 20 L de solvente – 2º ponto. (b) Extrato coletado após passagem de 180 L de solvente – 10º ponto.	60

Figura 4.22 - Curvas de Extração da cumarina utilizando sementes inteiras e sementes inteiras sem casca: a casca é um fator limitante da transferência de massa. Dados coletados a 35°C e 2200 psi. Vazão de solvente de 0,4 L/min.	61
Figura 4.23 - Extração da cumarina das sementes da emburana moídas, diâmetro de 600 µm, em diferentes condições termodinâmicas de temperatura e pressão.	62
Figura 4.24 - Extração da cumarina das sementes da emburana moídas, diâmetro de 600 µm, pressão de 2200 psi, temperatura de 35, 45 e 55°C.	63
Figura 4.25 - Cromatograma extração da cumarina a pressão de 2200 psi e temperatura de 35°C, sementes da emburana moídas, diâmetro de 600 µm. (a) 10 L de solvente. (b) 180 L de solvente.	63
Figura 4.26 - Cromatograma extração da cumarina a pressão de 2200 psi e temperatura de 45°C, sementes da emburana moídas, diâmetro de 600 µm. (a) 10 L de solvente. (b) 180 L de solvente.	63
Figura 4.27 - Cromatograma extração da cumarina a pressão de 2200 psi e temperatura de 55°C, sementes da emburana moídas, diâmetro de 600 µm. (a) 10 L de solvente. (b) 180 L de solvente.	64
Figura 4.28 – Taxa de extração de cumarina em função da massa de CO ₂ , para isobáricas de extração realizadas a 45 °C e 55 °C.	64

Lista de Tabelas

Tabela 2.1 – Modelos para taxa de transferência de massa em processos de extração supercrítica	26
Tabela 4.1 – Solubilidade da cumarina em CO ₂ supercrítico a diferentes pressões e temperaturas coletados em uma vazão de 0,4 L/min.	41
Tabela 4.2 – Dados de solubilização da cumarina em CO ₂ supercrítico a diferentes pressões e temperaturas coletados em uma vazão de 0,9 L/min.	44
Tabela 4.3 – Propriedades críticas e volume molar da cumarina (sólida).	47
Tabela 4.4 – Comparação entre valores experimentais de solubilidade de cumarina em CO ₂ supercrítico a 35°C e previstos pelo modelo de Peng-Robinson, utilizando regra de mistura de van der Waals, considerando equilíbrio sólido-vapor (SV) e líquido-vapor (LV).	49
Tabela 4.5 – Comparação entre valores experimentais de solubilidade de cumarina em CO ₂ supercrítico a 45°C e previstos pelo modelo de Peng-Robinson, utilizando regra de mistura de van der Waals, considerando equilíbrio sólido-vapor (SV) e líquido-vapor (LV).	49
Tabela 4.6 – Comparação entre valores experimentais de solubilidade de cumarina em CO ₂ supercrítico a 55°C e previstos pelo modelo de Peng-Robinson, utilizando regra de mistura de van der Waals, considerando equilíbrio sólido-vapor (SV) e líquido-vapor (LV).	49

NOMENCLATURA

Abreviações

AU	arbitrary unit
CP	critical pont
EC	European Commission
EFS	Extração por fluido supercrítico
IFRA	International Fragrance Association
LV	líquido-vapor
PR-MH	modelo termodinâmico utilizando equação de estado de Peng-Robinson com regra de mistura de Mohamed-Holder
PR-VDW	modelo termodinâmico utilizando equação de estado de Peng-Robinson com regra de mistura de van der Waals
SL	sólido-líquido

Letras

f	fugacidade
ϕ	coeficiente de fugacidade
v	volume molar
α	variável da equação (9) para cálculo de a e b
ω	fator acêntrico
η	parâmetro de interação binária
δ	parâmetro de interação binária em função da densidade
β	constante da equação (11) para cálculo do parâmetro de interação binária em função da densidade
ρ	densidade

ε	porosidade
ΔH_{vb}	calor de sublimação da correlação de Watson
ΔP_c	contribuição de grupos pelo método de Lyndersén para a pressão
ΔT_c	contribuição de grupos pelo método de Lyndersén para a temperatura
a	parâmetro de interação intermolecular entre espécies da mistura, na equação (21) relativo a área do pico do cromatograma
A	constante da equação (21)
B	constante da equação (21)
b	parâmetro de interação volumétrica entre as espécies da mistura
c	concentração de cumarina na equação (21)
h	coordenada axial
J	taxa de transferência de massa
k	parâmetro de interação binária; coeficiente de transferência de massa para a equação da Tabela 2.1
m	constante da correlação de Watson, que depende do estado físico da substância
n	número de mols
P	pressão
R	constante universal dos gases
T	temperatura
t	tempo
U	velocidade superficial do solvente
x	composição da espécie na fase vapor. Na equação (14) e (15) concentração de soluto na fase sólida
y	composição na fase fluída

Sobrescritos

SCF	supercritical fluid
f	relativa a fase fluida
l	relativo a fase líquida
s	relativo a fase sólida
sat	relativo a condição de saturação
v	relativo a fase

Subscritos

1	relativo ao componente 1
o	relativo a condição inicial
m	relativo a mistura de espécies
i	relativo ao componente i
j	relativo ao componente j
r	relativo ao estado reduzido, nas equações (16) a (18) e Tabela 2.1 relativo a fração de fase sólida com células abertas
c	relativo ao ponto crítico

1 – INTRODUÇÃO

Um princípio ativo é uma substância que possui efeito terapêutico ou tóxico. São eles os responsáveis pela atividade farmacológica dos medicamentos, podendo ser utilizados isolados, ou associados a outros princípios. Também denominado fármaco, do grego *pharmakon*, pode ser obtido de plantas, animais, fungos, bactérias, algas ou processados quimicamente. A crescente demanda do consumidor pelos produtos naturais como fonte de medicamentos, vem estimulando os recentes esforços científicos para avaliação e controle da qualidade de princípios ativos obtidos diretamente da matriz vegetal. O desenvolvimento de técnicas para isolar e quantificar princípios ativos naturais tem sido muito estudado, aliando produtos naturais, ciência e alta tecnologia, resultando em produtos mais puros, eficazes, e, mais atraente do que seus similares sintéticos.

Para extrair das plantas o princípio ativo de interesse é necessário isolá-lo de alguma forma, resultando no extrato mais puro e concentrado possível, seja por técnicas rudimentares de extração, como a infusão em água, passando pelo uso de solventes orgânicos, sonicação, até técnicas que empregam alta tecnologia, como a extração com fluido supercrítico.

As cumarinas foram isoladas a primeira vez em 1820 por Vogel, membro da Royal Academy of Science em Munique. Vogel associou o odor doce e agradável das sementes do cumaru, com o cheiro das flores do trevo (*Melilotus officinalis*), e ele conseguiu isolar, em ambos, a cumarina, em forma de cristais brancos, idênticos, mas em muito menor quantidade nas flores do trevo (Leite *et al.*, 1992). Atualmente, mais de 800 cumarinas já foram identificadas, isoladas e caracterizadas, distribuídas por várias espécies e famílias de plantas (Pereira *et al.*, 1992 *apud* Celeghini, 1997).

As cumarinas são uma série de compostos que possuem em comum um anel aromático fundido em um anel de lactonas condensado. São divididas em quatro subgrupos: as hidroxí ou metoxi cumarinas, as cumarinas isoprenílicas, as piranocumarinas e as furanocumarinas. A maioria das cumarinas possui

propriedades farmacológicas, sendo utilizadas em diversas áreas da medicina. As hidroxycumarinas são utilizadas como anticoagulantes orais. Sua propriedade anticoagulante é exercida de forma indireta, através da inibição da síntese dos fatores de coagulação dependentes da vitamina K. Elas inibem também a síntese da proteína C e S, que são inibidores fisiológicos da coagulação. Podem ser encontradas no cravo doce. As furanocumarinas ou psoralenos, como o psoraleno, o bergapteno e xantotoxino são compostos foto sensibilizadores usados no tratamento da psoríase, do vitiligo e outras doenças de pele (Cardoso *et al.*, 2002). Estão presentes na figueira e na hera de São João. Algumas piranocumarinas, como as isoladas de plantas da espécie *Calophyllum* inibem a replicação do HIV-1, formando uma nova classe de compostos que combatem o vírus da Aids (Kashman *et al.*, 1992 *apud* Dharmaratne *et al.*, 1998). A cumarina é largamente utilizada na medicina popular devido as suas propriedades antiinflamatórias.

A cumarina é um princípio ativo natural existente em diversas plantas como o guaco, a emburana, o agrião, a ipeca, o cumaru, o carapiá, a canela, a chicória, entre outras, e em frutas como o morango, a cereja, a framboesa e o damasco. Possui um odor forte e característico de baunilha. É utilizada como fixador de perfumes, aditivo em tintas e *spray*, aromatizantes de alimentos, além de possuir propriedades antibióticas, bronco dilatadora, antiinflamatória, analgésica e também ser utilizada em tratamentos contra o câncer.

A maioria da cumarina comercializada atualmente é sintetizada a partir do ácido amino fenilalanina ou salicil-aldeído (DeGarmo e Raizman, 1967), ou isolada do cumaru, *Dipteryx odorata* (Hawley, 1971).

A grande maioria dos trabalhos encontrados em literatura utiliza extração convencional com solventes orgânicos para obtenção da cumarina. Estes processos envolvem também etapas de purificação do extrato obtido, o que normalmente é feito através de elevadas temperaturas que podem danificar o produto final, além da possibilidade de deixar resquícios do solvente empregado, que muitas vezes é tóxico e inviável para uso em medicamentos, cosméticos e alimentos.

Desde 1993 existe no Departamento de Termofluidodinâmica da Faculdade de Engenharia Química da UNICAMP, uma linha de pesquisa de separação de

produtos por extração supercrítica. O grupo iniciou suas atividades realizando estudos sobre a remoção do colesterol e fracionamento de gordura do leite com fluidos supercríticos (Neves, 1996; Socantaype, 1996; Saldaña, 1997). Depois de 1996 os estudos foram concentrados para extração de compostos ativos de plantas medicinais. Os estudos objetivaram a exploração do uso de CO₂ supercrítico para a extração dos alcalóides como a cafeína, a teofilina, a trigonelina e a teobromina dos grãos do café brasileiro (Saldaña, *et al.*, 1997; Saldaña, 1997), das folhas do chá mate (Saldaña, 1998) e das sementes de guaraná; além da recuperação de pilocarpina da planta de jaborandi (Saldaña, 1997). Foram realizados também estudos de extração de teobromina e gordura de cacau, cupuaçu (Azevedo, 2001), fenóis (Kopcak, 2003). Desta forma, a extração da cumarina a partir das sementes de emburana utilizando a técnica de extração supercrítica surge como uma promissora alternativa para obtenção deste princípio ativo diretamente da matriz vegetal.

A tecnologia supercrítica explora as propriedades peculiares que os fluidos apresentam quando próximos aos seus pontos críticos. Nesta região as propriedades termodinâmicas são particularmente sensíveis às alterações de temperatura e pressão. Pequenas mudanças na pressão ou temperatura geram mudanças enormes na densidade, e, conseqüentemente, no poder de solubilização. Além disso, a etapa de separação entre solvente supercrítico e soluto requer apenas uma diminuição da pressão, tornando soluto e solvente insolúveis, e provocando a separação, diferentemente das técnicas convencionais que requerem novas operações de separação, como a extração líquido-líquido, onde uma destilação é necessária para a recuperação do soluto dissolvido no solvente.

O uso do dióxido de carbono oferece ainda as vantagens de ser um solvente atóxico, de fácil obtenção e de se trabalhar a temperaturas relativamente baixas (a temperatura crítica do CO₂ é de 31°C), o que é desejável quando o processo envolve substâncias termicamente sensíveis.

A extração com fluido supercrítico tem sido amplamente estudada e seu emprego para obtenção de óleos essenciais, princípios ativos e outros constituintes de plantas têm se mostrado viável, além do grande potencial em escala de

laboratório. Taylor (1996) aponta em seu livro a potencialidade de se extrair a cumarina utilizando extração supercrítica. Lanças *et al.* (1997) extraíram cumarina das folhas de guaco utilizando extração supercrítica.

1.2 – OBJETIVOS

Tendo em base a importância da cumarina e a necessidade de alternativas de extração que não utilizem solventes tóxicos. Levando em consideração as indicações existentes na literatura quanto ao potencial da cumarina em ser extraída utilizando-se CO₂ supercrítico, o objetivo do projeto foi o estudo da extração da cumarina diretamente das sementes de emburana (*Torresea cearensis*) com o uso de dióxido de carbono supercrítico.

Tendo como objetivos específicos:

- Determinar a solubilidade da cumarina em CO₂ supercrítico em função das condições termodinâmicas de temperatura e pressão;
- Obter curvas de extração da cumarina a partir das sementes da emburana com CO₂ supercrítico;
- Identificar as variáveis termodinâmicas e cinéticas que influenciam e controlam a solubilidade da cumarina em CO₂ supercrítico e a seletividade do solvente supercrítico para a cumarina, para que seja possível uma determinação das condições ótimas de separação;
- Desenvolvimento de uma modelagem termodinâmica para correlacionar a solubilidade da cumarina em CO₂ supercrítico em função da temperatura e pressão.

2 – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 – Cumarina

A cumarina (1,2-benzopirona, 2H-1benzopiron-2-ona, ácido lactona cis-o-cumarínico, cumarínico anidrido, cumaru) é um cristal branco à temperatura ambiente, de aroma semelhante ao da baunilha, com ponto de fusão entre 68 e 70°C, massa molecular de 146,15 g/gmol, ponto de ebulição entre 297 °C – 299 °C, e densidade aparente de 0,7 g/mL. Cohen (1979) descreve a cumarina como sendo solúvel em etanol, clorofórmio, éter dietílico e óleos, e pouco solúvel em água. Apresenta em sua molécula um anel aromático fundido em um anel de lactonas condensado (Figura 2.1). A cumarina pode ser encontrada em diversas plantas, ocorrendo em diferentes espécies e famílias botânicas, e, excepcionalmente, em bactérias e fungos (Celeghini, 1997). Ela também está presente no mel, em concentrações de ng/mL, onde é um dos constituintes responsáveis pelo seu aroma (Zhou *et al.*, 2002).

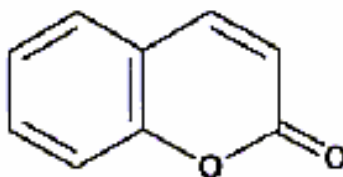


Figura 2.1 – Estrutura da cumarina.

A maioria da cumarina comercializada é sintetizada a partir do salicilaldeído (DeGarmo e Raizman, 1967), ou isolada do cumaru, *Dipteryx odorata* (Hawley, 1971). Fenol e clorofórmio também são utilizados para a síntese, mas estão sendo substituídos gradativamente pelo o-cresol.

O processo de síntese mais utilizado para obtenção da cumarina está descrito na Figura 2.2. É através deste processo que a cumarina é sintetizada na China (Rodhiascent, 2004). Nele, o 2-metilfenol (cresol) sofre uma cloração, formando o ortho-dicloro cresol, que em seguida é oxidado formando ácido clorídrico e salicilaldeído. Este, reage com acetato de sódio formando a cumarina.

O processo utilizado pela Rodhia usa o fenol como matéria prima que na presença de NaOH diluído sofre formilação (ou adição aldol) formando um intermediário livre de cloro (álcool salicílico ou 2-hidroxi-benzilálcool). Este intermediário é oxidado e se transforma em salicil-aldeído, que reagindo com o acetato de sódio, forma a cumarina, da mesma forma que no processo chinês.

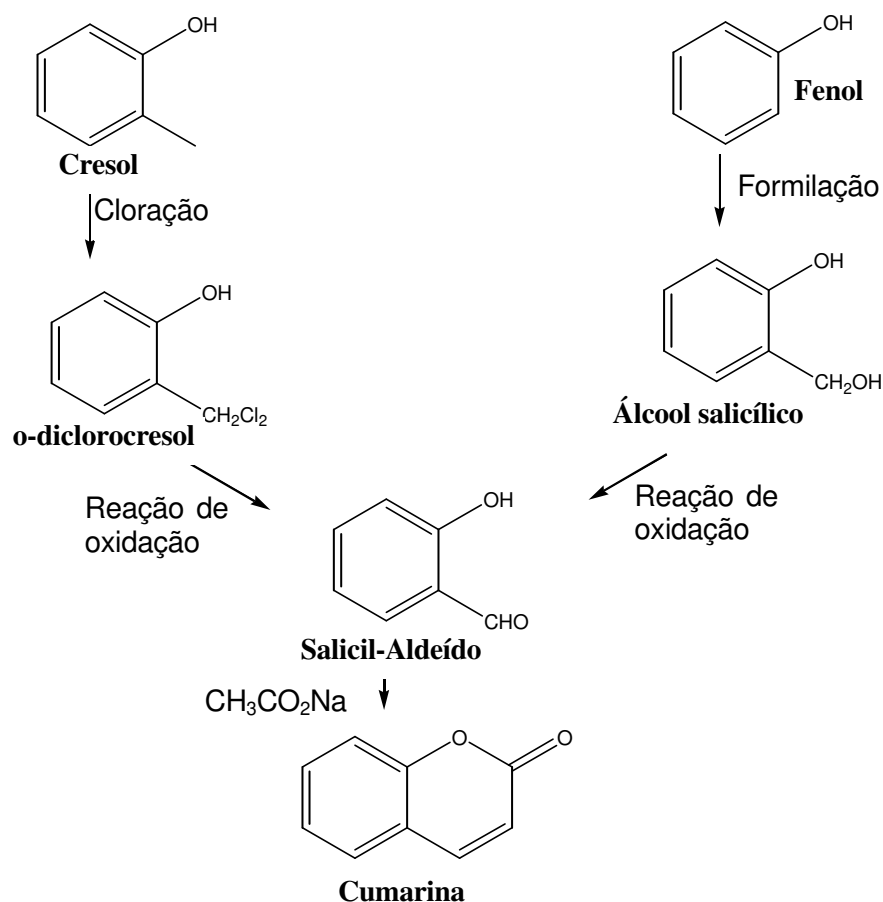


Figura 2.2 - Rotas de produção da cumarina. À esquerda, processo chinês. À direita, processo utilizado pela Rodhia.

O processo de fabricação da cumarina utilizado pela Rodhia possui o conveniente de não produzir intermediários clorados, enquanto que o processo chinês produz mais de 3 kg de efluente para cada quilo de salicil-aldeído formado. Estas impurezas incluem gás de ácido clorídrico, ácido clorídrico em solução, $\text{PO}(\text{OH})_3$, ortho-cresol e álcool ortho-fenol metílico.

Estudos feitos pela Rodhia testaram a alergenicidade da cumarina em animais e humanos. Em animais, não foi detectado nenhum sintoma de alergia em 100 % dos testes. Em seres humanos com problemas dermatológicos, também não foi observado nenhum sintoma de rejeição à cumarina. Testes clínicos preliminares em pacientes com alergias a fragrâncias não demonstraram nenhuma sensibilidade à cumarina, mas, em uma segunda batelada de testes, 1 % dos pacientes apresentou reações alérgicas.

Estudos clínicos comparativos feitos com cumarina obtida por 3 rotas de produção diferentes, mostraram que extratos com mais de 50 % de cumarina não estimularam o crescimento e proliferação de nódulos linfáticos, enquanto que, a utilização de 25% de cumarina com 270 ppm de Cl₂, foi suficiente para desencadear esta reação no organismo. Foi verificado também, que a cumarina que desencadeava esta reação imunológica no organismo possuía 6-cloro cumarina e di-hidro-cumarina. A 6-cloro cumarina estimula o crescimento e proliferação de nódulos linfáticos, e a di-hidro-cumarina teve seu uso proibido em fragrâncias desde 1974, pela IFRA (*International Fragrance Association*) (Rodhiascent, 2004).

A produção mundial de cumarina se concentra na Ásia, sendo o maior produtor a China. A Tailândia, apesar de não ter produção própria de cumarina, exporta quantidades expressivas do produto para União Européia, privilegiada por baixas taxas alfandegárias (3%). Até agosto de 2003 as exportações tailandesas chegaram a mais de 145 Mt de cumarina. A Índia exportou em 2003, mais de 83 Mt de cumarina para a União Européia, menor quantidade que a Tailândia. A produção chinesa oficialmente exportada para os países da União Européia e Estados Unidos é relativamente baixa, mas estão sendo feitas investigações sobre a prática de *dumping* no mercado internacional da cumarina. A China declarou a exportação de 147 Mt para a União Européia em 2002, enquanto que o valor de importação declarado pela União Européia foi de 15 Mt. Valores de importação e exportação aproximadamente iguais aos de 2002 foram declarados até agosto de 2003, mais um indício de que o *dumping* é praticado.

Em maio de 2002 o Conselho de Regulação (*European Commission* - EC) impôs taxas *antidumping* para a cumarina (€ 3,51/kg), a partir de 2004, o EC

cobrará as taxas impostas retroativamente, em caso de confirmação do *dumping*. Uma ação semelhante contra a prática de *dumping* foi tomada pelo Departamento de Comércio dos Estados Unidos, em fevereiro de 2003.

A cumarina é utilizada em perfumes (como agente fixador, ou para ressaltar a fragrância), detergentes, pasta de dentes, cigarros e bebidas alcoólicas (Cohen, 1979; Opdyke, 1974) e também em borrachas, materiais plásticos, tintas e *spray* com a finalidade de mascarar odores de solventes orgânicos (Fentem e Fry, 1992). Além dessas finalidades é utilizado também como aditivo em alimentos, adoçantes, no enriquecimento de óleos essenciais e na galvanização do níquel, levando a uma menor porosidade e um maior brilho do produto final (Celeghini, 2001).

Muitas plantas amplamente utilizadas na medicina popular para tratamento de gripes, resfriados, tosses e outras doenças respiratórias possuem como ativo a cumarina. No guaco (*Mikania glomerata*), a cumarina é responsável por cerca de 50 % a 60% de suas propriedades farmacêuticas (Celeghini, 1997).

Em consequência de suas propriedades bioquímicas, a cumarina tem sido utilizada na medicina como antimicrobiano (Michaeli *et al.*, 1970; Higgins *et al.*, 1978), antiinflamatório (Paya *et al.*, 1992) e broncodilatador (Leal *et al.*, 2000). Estudos de Leal *et al.* (2000) comprovam a atividade analgésica da cumarina. Esta substância tem sido utilizada também no tratamento da brucelose (doença causada por uma bactéria em animais que pode ser transmitida ao ser humano através do consumo de carne e leite contaminados) por apresentar atividade imunomodulatórias, ativação de linhagens de macrófagos (Egan *et al.*, 1990). É utilizada para tratamento de linfodemas seguido ao tratamento de câncer de mama, pulmão e rim. Nestes casos também é utilizada isolada (agindo como um antineoplásico) ou combinada com a cimetidina (Thornes *et al.*, 1989). A cumarina também tem sido indicada em casos de queimaduras e doenças reumáticas (Ochocka *et al.*, 1995). Testes farmacológicos têm observado que a cumarina causa inibição dos efeitos da musculatura intestinal e uterina *in vivo* (Celeghini *et al.*, 2001).

Nos EUA o uso da cumarina como aromatizante em alimentos foi proibido em 1954 devido a resultados encontrados em pesquisas que apontaram efeitos

hepatotóxicos em ratos e cachorros alimentados com produtos à base de cumarina, e a possibilidade da existência de carcinogenicidade e mutagenicidade. Foi recomendada a não utilização da cumarina em alimentos no Reino Unido em 1965, baseados no mesmo estudo (Cohen, 1979; Opdyke, 1974). Entretanto, a cumarina é considerada um princípio ativo pelo Conselho Europeu e seu uso é legalizado pelo Anexo II das Diretrizes Europeias (88/388/EEC). Este anexo estipula uma concentração máxima de cumarina de 2 mg/kg em alimentos e bebidas não alcoólicas. Em bebidas alcoólicas e alguns alimentos a base de caramelo esta concentração pode ser de até 10 mg/kg, e de 50 mg/kg em gomas de mascar.

Segundo Lake (1999), como conseqüências das inúmeras finalidades onde podem ser aplicados, milhares de pessoas são expostas a doses terapêuticas de cumarina, que variam de 8 a 7000 mg/dia, por períodos que vão de duas semanas a dois anos.

Os estudos de Lake (1999) mostraram que a cumarina apresenta diferentes níveis de toxidade e é metabolizada de formas distintas em espécies diferentes. Da grande maioria das avaliações deste autor conclui-se que a cumarina não é um agente genotóxico, e, apesar de apresentar hepatotoxicidade em ratos, camundongos e cachorros, esta característica não é observada em babuínos e humanos. Uma comparação da toxidade e carcinogenicidade da cumarina presentes em dietas, cosméticos e outros produtos, indicou que a exposição está dentro de margens aceitáveis, e não representa risco à saúde humana (Lake, 1997).

A grande maioria dos trabalhos encontrados na literatura utiliza extração convencional com solventes orgânicos para obtenção da cumarina.

Ochocka *et al.* (1995) fizeram um estudo para determinar as cumarinas existentes nas raízes e folhas da planta *Chrysanthemum segetum* L. utilizando a técnica da eletroforese. A planta era seca e a extração realizada com metanol. O extrato obtido era concentrado a vácuo, e diluído com solução de igual volume contendo 4% de acetato em água. O precipitado formado era filtrado a vácuo e extraído com clorofórmio. O clorofórmio era removido do extrato e o resíduo dissolvido em uma solução tampão.

Outro método de extração de cumarina a partir de diversas plantas (emburana, chambá, agrião, sucupira e ipeca) é descrito por Leal *et al.* (2000). Em seu trabalho os compostos são extraídos com 20% de etanol e agitação mecânica. O etanol é evaporado e o volume reduzido até atingir a concentração desejada antes do uso; o rendimento foi de 12% em média, baseado no resíduo sólido presente.

Os processos convencionais de extração normalmente geram resíduos químicos e podem, inclusive, alterar as características do produto final devido às altas temperaturas empregadas durante os processos de extração e purificação. A tecnologia supercrítica exige um investimento maior, mas leva a separação muito específica, onde separação e purificação são realizadas simultaneamente, pois a seletividade do solvente supercrítico pode ser modificada através de alterações de propriedades termodinâmicas e da natureza do solvente.

Choi *et al.* (1998) estudaram o comportamento da solubilidade da cumarina em CO₂ supercrítico. O comportamento destes dados não segue as tendências conhecidas em processos de extração supercrítica. Apenas uma pressão de cruzamento foi observada para as isotermas de 35 e 40°C, enquanto que, a 50°C não se observou o comportamento retrógrado.

2.2 – *Torresea cearensis*

A emburana, *Torresea cearensis*, é uma árvore da família *Fabaceae*, típica do cerrado e caatinga e pode ser encontrada na grande maioria dos estados brasileiros (Figura 2.3). Sua madeira é utilizada na construção de casas e assoalhos, na fabricação de móveis de cerejeira e como carvão.

Também é conhecida como angelim, baru, cabocla, cumaru, imburana, jamburana, aroeira do sertão, cuncaru-da Bahia, cucaru do nordeste, umburana-de-cheiro, entre outros nomes. Sua flor é amarela, em cachos (Figura 2.4) a floração ocorre nos meses de abril, maio e junho, e frutifica nos meses de junho a setembro. Seus frutos (do tipo sâmara) são ovalados, de coloração preta, e possuem uma semente. Estas são marrons, têm forma de asas, com aproximadamente 1,5 cm,

são providas de odor característico da cumarina, e sabor amargo e picante.



Figura 2.3 – Foto da emburana *Torresea cearensis* (Lubambo, 2004).



Figura 2.4 – Flor da emburana: pequena, amarelada e em cachos (Maia 2004).

Leal *et al.* (2000) realizaram análise fitoquímica da casca do tronco da emburana, baseados no método descrito por Costa (1977). Neste método, o perfil fitoquímico da planta é determinado por reações de identificação que são baseadas na identificação de grupamentos químicos, ou feito por cromatografia de camada delgada. Neste trabalho, Leal *et al.* (2000) encontraram na casca da emburana, além da cumarina, flavonóides, saponinas e taninos.

2.3 – Fluido supercrítico

Um fluido supercrítico é qualquer fluido que está sob as condições de temperatura e pressão acima dos seus valores críticos. Neste estado ocorre a formação de uma névoa densa, onde líquido e gás não podem ser distinguidos. Esta fase possui características intermediárias entre líquido e gás, e tem as vantagens de ter alta permeabilidade, como a dos gases, e o poder de solvatação dos líquidos.

No diagrama Pressão *versus* Temperatura (Figura 2.5), a região supercrítica demarca o final da coexistência de fases líquido e vapor. Acima da temperatura crítica um componente puro gasoso não pode ser liquefeito apenas aumentando a pressão aplicada. Da mesma forma, acima da pressão crítica um líquido não pode se vaporizar apenas com o aumento da temperatura. A pressão crítica é a pressão de vapor do gás à temperatura crítica.

Como consequência destas características, as taxas de transferência de massa e separação de fases na extração supercrítica são muito mais rápidas que nos processos de extração convencional.

A extração supercrítica explora as propriedades peculiares que os fluidos apresentam quando próximos do ponto crítico para promover uma separação seletiva e ou fracionada (McHugh e Krukonis, 1994; Brunetti *et al.*, 1985). Na proximidade de seu ponto crítico, o fluido tem uma densidade semelhante a da fase líquida, e, portanto poder de solubilização também semelhante. Juntamente com uma compressibilidade e coeficientes de expansão semelhantes aos da fase gasosa. As propriedades são muito sensíveis à temperatura e pressão. Pequenas mudanças na temperatura ou pressão geram mudanças enormes na densidade e, portanto, no poder de solubilização. Essa característica confere ao fluido supercrítico importância e características únicas, pois as densidades de solventes convencionais (líquidos) só podem ser alteradas pela adição de outros solventes, ou por aumento considerável na temperatura.

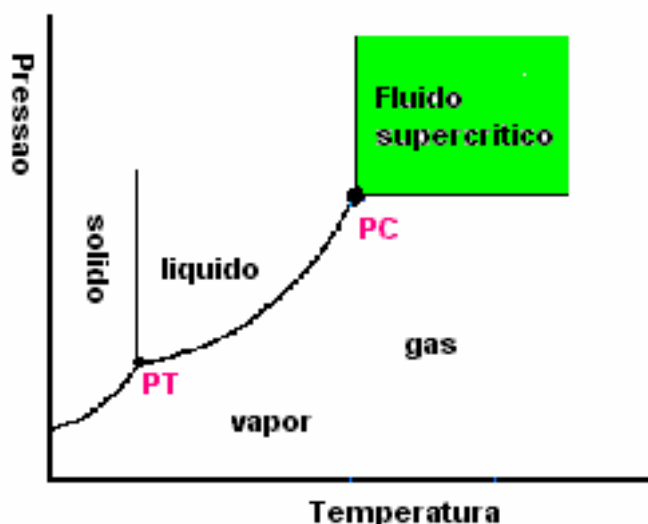


Figura 2.5 – Diagrama PT para uma substância pura.

Os pré-requisitos básicos de um fluido, para que ele seja usado como solvente supercrítico, são:

- Boa solubilidade no soluto a ser extraído;
- Ser inerte no produto;
- Fácil separação do produto;
- Preço baixo;
- Baixa pressão crítica (menores preços operacionais).

O CO_2 é um solvente apolar, volátil, não é tóxico nem cancerígeno, não é uma substância inflamável, seu custo é relativamente baixo e pode ser adquirido com facilidade. Além de todas estas características que estimulam o uso do CO_2 como solvente em extrações supercríticas, vale destacar também sua baixa viscosidade e seu elevado coeficiente de difusão. A densidade suficientemente alta confere ao dióxido de carbono supercrítico um grande poder de solvência. Seu ponto crítico acessível (possui baixa temperatura crítica, 304,1 K, e pressão crítica, 73,8 bar) e sua pequena entalpia de vaporização permitem que ele seja usado, no estado supercrítico, com custos operacionais mais baixos. E ainda, sem causar danos às propriedades funcionais de proteínas e de outros constituintes

termosensíveis nos produtos naturais, apresentando-se, portanto, como uma alternativa atrativa para a utilização na extração de componentes de alimentos e produtos farmacêuticos. Uma outra vantagem importante do uso de solventes supercríticos como o CO₂ é a facilidade da separação do material extraído do solvente que é realizada por uma simples manipulação de temperatura ou pressão, produzindo uma precipitação do produto extraído o que resulta no solvente livre para ser reciclado.

2.4 – Extração supercrítica (EFS)

2.4.1 – Exemplos de aplicações da extração supercrítica

Existe um imenso potencial ainda não explorado acerca da utilização de fluidos supercríticos. Atualmente, diversas e variadas áreas têm sido relatadas pela literatura onde o processo de extração supercrítica é o mais conveniente, não só pela superioridade da qualidade dos produtos, mas também por restrições e aspectos peculiares de cada processo, os quais serão mencionados e abordados posteriormente.

Nas indústrias farmacêutica e alimentícia, onde existem restrições legais quanto ao uso de solventes e resíduos, a extração supercrítica tem se destacado como sendo o processo mais econômico. Além disso, a EFS possibilita a separação e o fracionamento do extrato em diferentes produtos através de mudanças na temperatura e/ou pressão do processo, por meio do controle do poder de solvatação do solvente. Gamse e Marr (2000) citam em seu trabalho diversos exemplos, de extração supercrítica para obtenção de princípios ativos de vegetais, alguns deles são: separação de essência de flor de laranjeira, fracionamento de óleo de cascas de vegetais, de mistura de fosfolipídeos, de glicerídeos de soja e outras plantas.

A descafeinização do café está entre a mais empregada utilização da extração supercrítica na indústria, mas muitas publicações relatam a possibilidade de extração de aromas, temperos, sabores e óleos essenciais de caule, folhas,

raízes, flores e frutos de plantas. Alguns exemplos citados por Gamse e Marr (2002) são: óleo de limão, de oliva, de germe de trigo, de eucalipto, de peixe, colesterol, cafeína, páprica, lecitina, manteiga de cacau e óleos de castanhas.

2.4.2 – Variação da densidade com a pressão e temperatura para fluido supercrítico

A Figura 2.6 representa o diagrama pressão-densidade-temperatura para o CO_2 puro, com linhas de densidade de 100 a 1200 g/L.

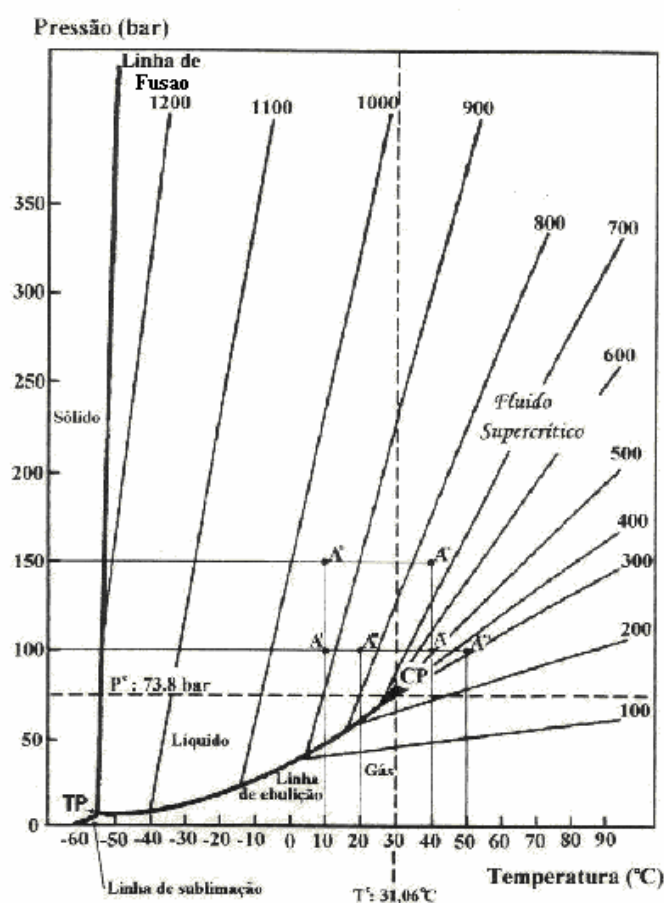


Figura 2.6 – Diagrama pressão-temperatura-densidade para o CO_2 (Brogle, 1982).

No ponto crítico (CP) as propriedades do líquido e do gás são idênticas. Acima deste ponto, tem-se a região supercrítica. Observa-se que pequenas mudanças na temperatura ou na pressão levam a grande variação na densidade,

para valores acima dos críticos. Esta sensibilidade da densidade com a pressão e temperatura é que delimita as condições de extração, e separação (ou precipitação), uma vez que a densidade está diretamente ligada com a solubilidade do produto no fluido supercrítico, pois, aumentando-se a temperatura, tem-se uma diminuição da densidade; desta forma, o fluido supercrítico se aproxima mais das características de um gás (menores densidades), perdendo assim o poder de solvência.

A forma pela qual a transferência de massa varia com a solubilidade também é uma característica importante no processo de extração supercrítica, pois a eficiência da extração é limitada pela solubilidade da substância a ser extraída no fluido. Altas solubilidades ocasionam baixos tempos de extração que podem ser conseguidos pelo aumento da pressão de extração; altas densidades do fluido aumentam também o poder do solvente, o que é conseguido normalmente pela diminuição da temperatura do processo (Geankoplis, 1993).

2.4.3 – Modelagem termodinâmica sólido-fluido supercrítico e comportamento da solubilidade

As equações de estado são utilizadas no cálculo de solubilidades de sólidos relativamente não voláteis em fluidos supercríticos. No equilíbrio, entre as duas fases sólida e fluida, que se estabelece com o contato entre um sólido (componente 1) e um fluido supercrítico (componente 2), tem-se a igualdade das fugacidades do soluto sólido nas duas fases:

$$f_1^{SCF}(T, P, y_1) = f_1^s(T, P) \quad (1)$$

Nesta expressão, Equação (1), supõe-se a não dissolução do fluido supercrítico na fase sólida e com isso, o soluto sólido é um componente puro cuja fugacidade dependerá somente da temperatura e da pressão.

Para a fase fluida, modelada como um gás altamente comprimido, a fugacidade do soluto é expressa pela relação:

$$f_1^{SCF}(T, P, y_1) = y_1 \phi_1^{SCF} P \quad (2)$$

Uma expressão diferente é utilizada para determinar a fugacidade do soluto na fase sólida, pois as equações de estado não são adequadas para descrever esta fase. A fugacidade do soluto puro na fase sólida é:

$$f_1^s(T, P) = P_1^{sat}(T) \phi_1^{sat}(T) \exp\left(\frac{1}{RT} \int_{P_1^{sat}}^P v_1^s dP\right) \quad (3)$$

Onde:

ϕ_1^{sat} = coeficiente de fugacidade da fase sólida a T e P_1^{sat} ;

v_1^s = volume molar do sólido puro.

Os coeficientes de fugacidade na fase vapor (ou supercrítica) e líquida podem ser calculados usando a relação termodinâmica dada por Prausnitz (1969):

$$\ln \phi_i^v = \frac{1}{RT} \int_{v^v}^{\infty} \left[\left(\frac{\partial P}{\partial n_i} \right)_{T, V, n_{i \neq j}} - \frac{RT}{V} \right] dv - \ln \left(\frac{P v^v}{RT} \right) \quad (4)$$

$$\ln \phi_i^l = \frac{1}{RT} \int_{v^l}^{\infty} \left[\left(\frac{\partial P}{\partial n_i} \right)_{T, V, n_{i \neq j}} - \frac{RT}{V} \right] dv - \ln \left(\frac{P v^l}{RT} \right)$$

Onde:

R = constante universal dos gases;

v^v = volume molar da fase vapor;

v^l = volume molar da fase líquida;

n_i = número de moles do componente “i”;

O volume molar para sólidos cristalinos, usualmente permanece constante mesmo com a variação de alguns kbar de pressão, então, o termo exponencial na Equação 3 (que é a correção de Poynting para a fugacidade do sólido puro) pode ser simplificado, isto é, o sólido pode ser considerado incompressível.

$$f_1^s(T, P) = P_1^{sat}(T) \phi_1^{sat}(T) \exp\left(\frac{v_1^s (P - P_1^{sat})}{RT}\right) \quad (5)$$

O coeficiente de fugacidade (ϕ_1^{sat}) é um termo de correção para altas pressões de saturação, e pode ser considerado igual à unidade, pois a P^{sat} de um sólido cristalino é muito menor que 1 bar.

A expressão para solubilidade para sólidos não voláteis em fluidos supercríticos é obtida igualando-se as Equações 2 e 5, e usando as simplificações descritas acima:

$$y_1 = \frac{P_1^{sat}(T) \exp\left[\frac{(P - P_1^{sat})}{RT} v_1^s\right]}{\phi_1^{SCF} P} \quad (6)$$

O coeficiente de fugacidade do sólido na fase supercrítica (ϕ_1^{SCF}) é a variável chave que descreve o grande aumento da solubilidade do sólido quando o fluido encontra-se comprimido acima da região crítica.

O coeficiente de fugacidade da fase fluida aumenta quando a densidade da fase fluida aumenta, pois, neste caso, o fluido está se afastando do estado de gás ideal. Isto ocorre quando o gás ideal a baixas pressões (e densidades baixas) é comprimido a pressões superiores à crítica. Neste caso, quando $P > P_c$, a densidade do gás torna-se parecida com a densidade de líquidos.

Pela Equação 6, percebe-se que há dois efeitos competindo, e são eles que determinam a solubilidade do sólido no solvente supercrítico: para uma temperatura fixa, a solubilidade aumenta em um solvente supercrítico quando a pressão aumenta. Isto ocorre porque ϕ_1^{SCF} diminui muito mais rapidamente do que a pressão aumenta, ou da mesma forma, o termo exponencial do numerador aumenta muito quando perto do ponto crítico.

O coeficiente de fugacidade contabiliza a não idealidade, ou a diferença entre o estado real, onde há interação entre as moléculas, e o ideal, onde as moléculas não interagem entre si. Desta forma, ϕ_1^{SCF} diminui quando as moléculas

de solvente são puxadas para perto das moléculas de soluto, (aqui as forças de atrações são dominantes a pressões não muito elevadas). Mas a pressões muito altas, as forças repulsivas são totalmente dominantes, e por isto, ϕ_1^{SCF} aumenta, resultando num abaixamento de solubilidade.

Analizando a ordem de grandeza dos termos da Equação 6, pode-se confirmar o que foi dito acima. Em altas pressões o fator de Poynting tem valores pequenos (na ordem de dezenas), enquanto que o termo P_1^{sat}/P está na ordem de 10^{-10} (ou seja, tem menos influência ainda), mas o termo $1/\phi_1^{SCF}$ está na ordem de 10^4 , isto é, a altas pressões o efeito predominante é a não idealidade da mistura fluido supercrítico-soluto (Tester e Modell, 1997).

Uma equação de estado qualquer pode ser usada para determinar analiticamente a derivada $\left(\frac{\partial P}{\partial n_i}\right)_{T,V,n_{i \neq j}}$ para o cálculo de ambos os coeficientes de fugacidade.

Quando os componentes da mistura não diferem tão significativamente entre si, em relação às forças intermoleculares, tamanho ou em estrutura, o comportamento de fases a altas pressões pode ser descrito razoavelmente bem através de uma equação de estado cúbica (McHugh e Krukoni, 1994). As equações mais comumente utilizadas são as de Peng-Robinson e a de Soave-Redlich-Kwong, com resultados muito semelhantes para ambas, pois são cúbicas no volume.

Usando a equação de Peng-Robinson:

$$P = \frac{RT}{V - b_i} - \frac{a_i}{V(V + b) + b_i(V - b_i)} \quad (7)$$

Onde:

V = volume molar;

a_i = parâmetro que relaciona as interações intermoleculares entre espécies da mistura;

b_i = parâmetro que relaciona as diferenças de tamanho entre as espécies da mistura;

T = temperatura;

P = pressão;

Os parâmetros a (atrativo) e b (repulsivo) representam a força de atração entre as moléculas e o volume ocupado pelas moléculas, respectivamente. Para componentes puros, a é uma função da temperatura. No caso de misturas, a e b dependem também da composição.

$$a_i(T) = \frac{0,457235 \alpha(T_{ri}, \omega_i) R^2 T_{ci}^2}{P_{ci}},$$

$$b_i = \frac{0,077796 R T_{ci}}{P_{ci}}; \quad \omega_i = 1 - \log_{10} \left(\frac{P_i^{sat}}{P_{ci}} \right)_{T_{ri}=0,7} \quad (8)$$

$$\alpha(T_{ri}, \omega_i) = [1 + (0,37464 + 1,5426\omega_i - 0,26992\omega_i^2)(1 - T_R^{1/2})]^2$$

Para as misturas, é necessário definir “regras de misturas” para a e b , estas regras são usadas na equação de estado para os cálculos das propriedades da mistura.

A regra de mistura de van der Waals assume mistura aleatória entre os componentes e é usada para a fase supercrítica. Nela, os parâmetros a e b assumem valores que dizem respeito à mistura (e não aos componentes individualmente) e podem ser escritos como:

$$a_m = \sum_i \sum_j y_i y_j a_{ij}, \quad a_{ij} = \sqrt{a_i a_j} (1 - k_{ij})$$

$$b_m = \sum_i \sum_j y_i y_j b_{ij}, \quad b_{ij} = \frac{(b_i + b_j)}{2} (1 - \eta_{ij}) \quad (9)$$

Os parâmetros k_{ij} e η_{ij} são parâmetros de interação binária determinados mais comumente por regressão de dados experimentais de pressão, temperatura e composição, mas podem também ser determinados por qualquer dado experimental de equilíbrio binário. k_{ij} e η_{ij} são funções da temperatura, pressão e composição;

esperam-se valores muito menores que 1,0 para ambos, visto a não idealidade do sistema fluido supercrítico-sólido.

O parâmetro k_{ij} é o parâmetro de interação binária, e está associado com as interações intermoleculares entre um par de espécies diferentes. Normalmente o valor de k_{ij} é maior que 0,150, mas pode ser negativo, indicando a presença de interações químicas específicas entre as espécies, como as pontes de hidrogênio. Isto torna o uso das equações de estado questionável, pois as equações de estado cúbicas descrevem somente forças de dispersão entre os componentes da mistura e não forças químicas. Desta forma, o uso de outras regras de mistura seria mais coerente, já que não se espera que os componentes estejam distribuídos ao acaso na solução quando há interações do tipo ponte de hidrogênio entre as moléculas (McHugh e Krukominis, 1994).

O parâmetro binário de mistura, η_{ij} , é tipicamente um número pequeno negativo, e está associado com o empacotamento de componentes diferentes. Se $\eta_{ij}=0$, a regra de mistura para b_m se reduz a uma soma de frações molares e b_i^* se torna igual a b_i , ou seja, a presença de espécies químicas diferentes é contabilizada como se fossem iguais.

A correlação do equilíbrio de fases utilizando a regra de misturas de van der Waals é qualitativamente boa, apresentando, porém limitações na descrição quantitativa do comportamento de sistemas supercríticos. Além disso, é preciso ajustar o parâmetro de interação para cada temperatura avaliada.

Na Figura 2.7 pode-se comparar dados experimentais de solubilidade do ácido benzóico com a simulação da solubilidade do sólido usando a equação de estado de Peng-Robinson. Considerando a lei do gás ideal, com $\phi_1^{SCF}=1$, a modelagem não caracteriza o sistema, pois há uma diminuição da solubilidade com o aumento da pressão. Isto já era esperado, pois a aproximação deste sistema de um sistema ideal é muito grosseira. O uso de apenas um parâmetro, k_{ij} , para os cálculos de solubilidade usando Peng-Robinson, leva a resultados representativos, mas a simulação se mostra muito fracamente dependente da temperatura. Isto pode ter ocorrido devido às altas interações polares entre CO_2 e ácido benzóico,

resultando em grande não idealidade das interações. O segundo parâmetro de ajuste, η_{ij} , pode ser utilizado para quantificar a grande diferença de tamanho entre o sólido e o solvente supercrítico.

Deiters e Schneider (1976) recomendam o uso dos dois parâmetros para o cálculo do equilíbrio de fase a altas pressões pela equação de estado de Peng-Robinson. Segundo os autores, os dois parâmetros são necessários, pois os componentes da mistura diferem consideravelmente na estrutura molecular, tamanho e forças intermoleculares. Os resultados dos autores indicam que as equações cúbicas de estado com dois parâmetros ajustáveis para misturas binárias representam com sucesso os dados de equilíbrio de fase de misturas na região supercrítica.

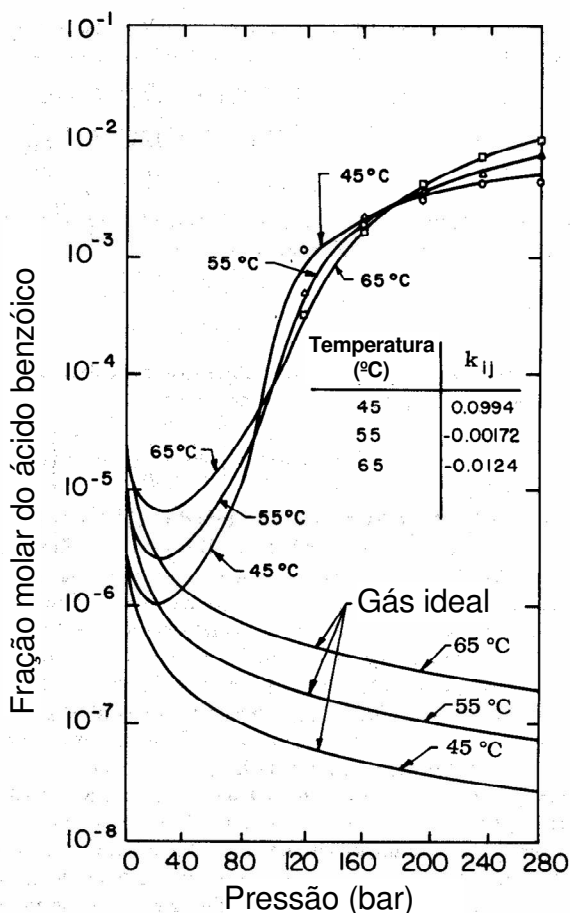


Figura 2.7 – Comparação entre solubilidades calculadas através da equação de estado de Peng-Robinson com dados experimentais, para o sistema ácido benzóico- CO_2 a três diferentes temperaturas, (McHugh e Krukonis, 1994).

Muitos autores não utilizam a equação de Peng-Robinson para previsão de solubilidades. Eles utilizam uma combinação da equação de Carnahan-Starling, que relata a contribuição repulsiva da pressão, com os termos atrativos da equação de van der Waals. Esta combinação leva a um bom ajuste, especialmente para sólidos extremamente não voláteis, nos quais a pressão de sublimação ou propriedades críticas não podem ser medidas (McHugh e Krukonis, 1994).

Para regiões intermediárias (80-100 bar), logo após o ponto crítico do CO₂, um aumento de temperatura resulta em uma diminuição da solubilidade; nesta região o processo de dissolução é exotérmico. Assim, para dissolver o soluto em CO₂ supercrítico, a uma mesma pressão e temperatura, deve-se remover calor do sistema. Esta região é chamada de região de comportamento retrógrado, que é delimitada pela pressão de cruzamento superior e a pressão de cruzamento inferior. Nela, o efeito da diminuição da densidade do solvente com o aumento da temperatura é maior do que o aumento da pressão de vapor do soluto.

Uma alternativa é permitir que o parâmetro de interação varie com a densidade, podendo de essa forma considerar simultaneamente os efeitos de variação de temperatura e pressão, conforme proposto por Mohamed e Holder (1987). No estudo, os autores consideraram uma variação linear do parâmetro de interação em relação à densidade, chegando à seguinte expressão:

$$\delta_{ij} = \alpha_{ij} + k_{ij}\rho \quad (10)$$

Substituindo-se a equação 11 em 10:

$$m = a' - c - d / v \quad (11)$$

$$a' = \sum_i \sum_j y_i y_j \sqrt{a_i a_j} \quad (12)$$

$$c = \sum_i \sum_j y_i y_j \sqrt{a_i a_j} \alpha_{ij} \quad (13)$$

$$d = \sum_i \sum_j y_i y_j \sqrt{a_i a_j} \beta_{ij} \quad (14)$$

Com o parâmetro de interação binária dependente da densidade, a equação de Peng-Robinson se torna de quarta ordem em volume.

2.4.4 – – Modelagem termodinâmica líquido-fluido supercrítico

Para que um sistema esteja em equilíbrio termodinâmico, é necessário que o critério de igualdade de fugacidade dos componentes (soluto e solvente) nas fases em equilíbrio seja satisfeito. Ou seja, a fugacidade de cada um dos componentes da fase líquida, deverá ser igual a fugacidade destes mesmos componentes na fase supercrítica:

$$f_1^{SCF}(T, P, y_1) = f_1^L(T, P, x_1) \quad (15)$$

Sendo:

f_1^{SCF} = Fugacidade do soluto (1) na fase vapor;

x_1 = Fração molar do componente 1 na fase líquida;

f_1^L = Fugacidade do soluto (1) na fase líquida;

y_1 = Fração molar do componente 1 na fase vapor ou supercrítica.

Diferentemente da simulação sólido-fluido supercrítico, onde se assume a não dissolução do fluido supercrítico na fase sólida (podendo esta ser considerada sendo constituída por um componente puro), na simulação líquido-fluido supercrítico assume-se que ambos os componentes (fluido supercrítico e soluto) estão presentes nas duas fases.

A fugacidade em cada uma das fases pode ser escrita como:

$$f_1^{SCF}(T, P, y_1) = y_1 \phi_1^{SCF} P \quad (16)$$

$$f_1^L(T, P, x_1) = x_1 \phi_1^L P \quad (17)$$

ϕ_1^{SCF} é o coeficiente de fugacidade do soluto (componente 1) na fase vapor, e, ϕ_1^L é o coeficiente de fugacidade do soluto na fase líquida.

Os coeficientes de fugacidade de todos os componentes das fases em equilíbrio podem ser calculados utilizando-se a relação termodinâmica representada pela equação 4.

O cálculo da solubilidade no sistema líquido-fluido supercrítico fica da forma:

$$y_1 = \frac{x_1 \phi_1^L}{\phi_1^{SCF}} \quad (18)$$

2.4.5 – Curvas de extração de princípios ativos em matriz vegetal: modelos cinéticos

A recuperação dos princípios ativos, pela dissolução dos mesmos em fluidos supercríticos quando colocados em contato com a matriz vegetal contendo estes componentes é geralmente descrita por uma curva de extração. A curva representa a quantidade recuperada em função do tempo ou da quantidade do solvente utilizado (Figura 2.8). As curvas de extração são geralmente formadas de duas regiões principais: uma controlada pela solubilidade do soluto disponível (na superfície da partícula) no fluido supercrítico e uma segunda região que é mais lenta, pois, depende da difusão do soluto na fase sólida até chegar à superfície. A segunda região controla a extração quando o soluto disponível na superfície é esgotado.

Na extração supercrítica de princípios ativos é conveniente que a matriz vegetal seja previamente tratada. Uma redução de tamanho das partículas, por moagem, que leve à quebra de paredes celulares, pode resultar em maiores rendimentos e menores tempos de extração, pois na grande maioria das vezes, as paredes celulares são as principais responsáveis pela resistência à difusão do soluto através da matriz vegetal. O comportamento cinético de extração em função do tamanho é apresentado na Figura 2.8: existe um tamanho de partícula (180 μm) que leva às melhores taxas de extração do produto desejado; neste diâmetro de partícula, tem-se a maior quantidade de soluto acessível, que leva às maiores taxas de extração. Em tamanhos menores que este se forma aglomerados, dificultando a

transferência de massa, sendo que as partículas se comportam como se fossem partículas grandes. Em diâmetros menores, a quantidade de produto acessível é pequena.

Na modelagem matemática, assume-se que o soluto é distribuído nas células abertas e nas intactas. O soluto mais acessível (nas células abertas) é mais facilmente solubilizado, e, por isto, nesta fase a taxa de transferência de massa é maior, enquanto que, nas células intactas, a taxa de transferência de massa é menor, pois o soluto deve ser difundido até a região de células acessíveis, e só depois pode ser solubilizado na fase fluida.

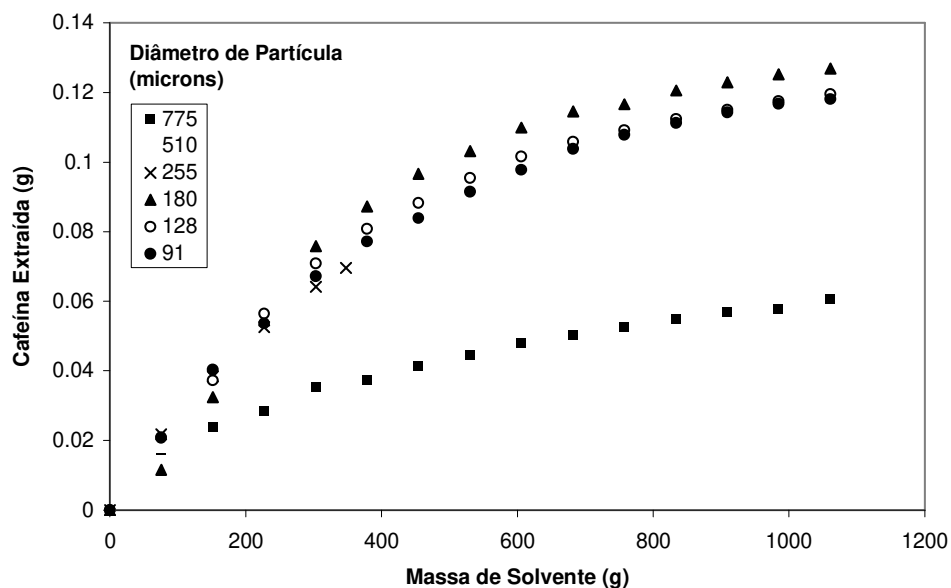


Figura 2.8 – Exemplo de curva de extração: quantidade de soluto (cafeína) extraída em função da massa de solvente utilizado, para diferentes diâmetros de partícula da matriz vegetal (guaraná), Kopcak (2003).

O equilíbrio entre o sólido e o fluido é descrito por modelos que utilizam o coeficiente de partição (para baixas concentrações na fase sólida, onde o equilíbrio é controlado pela interação do soluto com a matriz vegetal) ou a solubilidade do soluto na fase fluida (para altas concentrações na fase sólida).

A maioria dos modelos cinéticos utiliza balanços que consideram que o soluto mais acessível é extraído primeiro, e só depois de esgotado inicia-se a extração do soluto menos acessível. Neste modelo os balanços ficam na forma:

$$-\rho_s (1-\varepsilon) \frac{\partial x}{\partial t} = J(x, y) \quad (21)$$

$$\rho_f \varepsilon \frac{\partial y}{\partial t} + \rho U \frac{\partial y}{\partial h} = J(x, y) \quad (22)$$

Onde:

ρ_f = densidade do solvente;

ρ_s - densidade da fase sólida;

ε = porosidade;

h = coordenada axial;

U = velocidade superficial do solvente;

x = concentração de soluto livre na fase sólida;

y = concentração do soluto no fluido;

$J(x,y)$ = taxa de transferência de massa.

A maioria dos modelos sobre a cinética do processo de extração supercrítica descreve a taxa de extração usando o coeficiente de transferência de massa da fase solvente (Lack, 1985 *apud* Sovová, 1994, Lee *et al.*, 1986 *apud* Sovová, 1994, Cygnarowicz *et al.*, 1992 *apud* Sovová, 1994), ou o coeficiente de transferência de massa da fase sólida (Pekhov e Goncharenko, 1968 *apud* Sovová, 1994). Sovová (1994) em seu trabalho de extração de óleos vegetais, comparou estes dois tipos de modelos descritos anteriormente e os combinou, obtendo um novo modelo que leva em conta ambos os coeficientes de transferência de massa (da fase solvente e da fase sólida).

Alguns modelos para taxa de transferência de massa estão representados na Tabela 2.1.

Nestes modelos, a taxa de transferência de massa $J(x,y)$ é considerada de acordo com a concentração do soluto: para o soluto mais acessível $J(x > x_k, y)$ e para o soluto contido nas células intactas $J(x \leq x_k, y)$. Sendo x_k a concentração da fase sólida, e quando $x < x_k$ a transferência de massa é retardada pela difusão na fase sólida.

Tabela 2.1 – Modelos para taxa de transferência de massa em processos de extração supercrítica.

Referência	$J(x > x_k, y)$	$J(x \leq x_k, y)$
Lee et al (1986)	$k_f a_o \rho(y_r - y)$	—
Cygnarowicz et al (1992)	$k_f a_o \rho(y_r - y) \exp \left[\ln(0,001) \frac{x_0 - x}{x_0 - x_k} \right]$	
Lack (1985)	$k_f a_o \rho(y_r - y)$	$k_f a_o \rho(y_r - y) \frac{x}{x_k}$
Pekhov e Goncharenko (1968)	—	$k_f a_o \rho_s x$
Sovová (1994)	$k_f a_o \rho(y_r - y)$	$k_f a_o \rho_s x \left(1 - \frac{y}{y_r} \right)$

O coeficiente de transferência de massa volumétrico na fase fluida, $k_f a_o$, é muito maior que o coeficiente de transferência de massa volumétrico na fase sólida com células intactas, $k_s a_o$, onde o soluto está menos acessível.

Sovová (2002) desenvolveu um modelo para extração supercrítica que considera o fluxo contínuo da fase sólida menos acessível (células intactas) para a fase sólida com soluto mais acessível (células abertas) e desta para o solvente. Neste modelo, os balanços para a fase fluida, fase sólida com células abertas e fase sólida com células intactas são, respectivamente:

$$\rho_f \varepsilon \left(\frac{\partial y}{\partial t} + U \frac{\partial y}{\partial h} \right) = k_f a_o \rho_f (y^* - y) \quad (23)$$

$$r \rho_s (1 - \varepsilon) \frac{\partial x_1}{\partial t} = k_s a_o \rho_s (x_2 - x_1) - k_f a_o \rho_f (y^* - y) \quad (24)$$

$$(1 - r) \rho_s (1 - \varepsilon) \frac{\partial x_2}{\partial t} = -k_s a_o \rho_s (x_2 - x_1) \quad (25)$$

Onde:

k_f = coeficiente de transferência de massa da fase solvente

k_s = coeficiente de transferência de massa da fase sólida

r = fração da fase sólida com células abertas

y^* = fração de soluto em equilíbrio no fluido

x_1 = fração do soluto nas células abertas

x_2 = fração de soluto nas células intactas

a_o = área interfacial específica

t = tempo

3 – MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 - Sistema de extração supercrítica

O equipamento utilizado nos experimentos foi projetado pelo grupo de pesquisa de extração supercrítica da FEQ/UNICAMP e construído pela Autoclave Engineers, Inc. no Erie, EUA. Este equipamento foi utilizado anteriormente por Neves (1996), Socantaype (1996), Saldaña (1997), Azevedo (2001), Saldaña (1998) e Kopcak (2003). O sistema de extração supercrítica é um equipamento versátil, que permite um controle independente das variáveis termodinâmicas: temperatura, pressão e fluxo num painel de controle. Este aparelho (Figura 3.1) possui quatro linhas paralelas que permitem a alimentação de solventes e co-solventes.

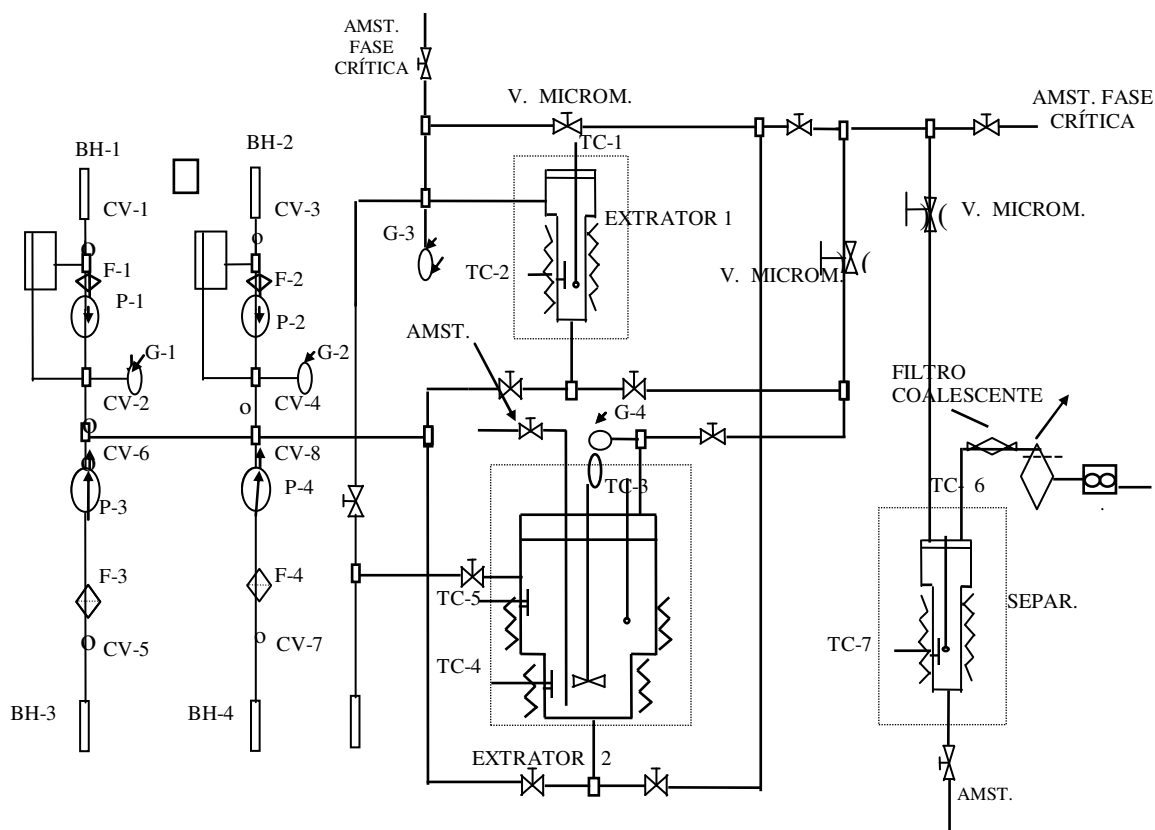


Figura 3.1 - Aparelho experimental de extração supercrítica. BH(1-2) – solvente; BH(3-4) co-solvente; G(1-2-3-4) – indicadores de pressão; P(1-2-3-4) – bombas; F(1-2-3-4) – filtros; V. microm. - válvula micrométrica; CV(1-2-3-4-5-6-7-8) – válvulas; TC(1-2-3-4-5-6-7) – termopares; Extrator 2 - extrator com agitação e janela; Separ. – Separador; Amst. - amostragem.

Cada linha possui um trocador de calor de tipo casco e tubos antes da entrada de cada uma das quatro bombas. Para introdução do solvente tem-se duas bombas de deslocamento positivo que operam em paralelo com uma vazão de 46-460 mL/h, e uma pressão de até 41 MPa. A extração é realizada com dois extratores: um simples e o outro com agitação, ambos de aço inoxidável, tipo 316SS com capacidade de 300 mL, projetados para resistir a pressões de até 37,2 MPa na temperatura de 616 K. Ao seu redor há cintas de aquecimento ligadas a um controlador de temperatura.

O extrator com agitação possui um agitador do tipo MagneDrive II com sistema de refrigeração e uma janela que permite observar as duas fases em equilíbrio. A tubulação que une o módulo de entrada com os extratores possui válvulas de isolamento, permitindo a operação de cada extrator separadamente ou em série, e válvulas de segurança com discos de ruptura para proteger os extratores. O fluido proveniente dos extratores passa por uma válvula micrométrica, usada para regular a vazão do solvente e reduzir a pressão até aproximadamente a pressão atmosférica, ocorrendo a precipitação do material extraído no separador. Uma fita de aquecimento em volta da válvula micrométrica e da tubulação evita a possibilidade de congelamento do CO₂ e obstrução, causada pela redução da temperatura em consequência da despressurização. A vazão do solvente é medida em litros por minuto por um totalizador de vazão FC70A *flow computer linealizer* e um CA03 *signal conditioner*, construídos pela EG&G Instruments, EUA.

3.2 - Materiais

Para a determinação da solubilidade da cumarina em dióxido de carbono supercrítico foram feitos ensaios em sistemas modelos utilizando cumarina pura Synth (pureza superior a 99,9%). Este sistema simplificado permite um melhor entendimento dos mecanismos que governam o processo de extração, já que apresenta simplicidade e exatidão na composição (que pode ser controlada) simplificando-se assim o processo analítico. O fluido supercrítico, dióxido de

carbono super seco, com pureza de 99,5% foi adquirido da White Martins, na fase líquida, em cilindros com tubo pescador.

Os experimentos com a matriz vegetal foram realizados com sementes obtidas da Santosflora Comércio de Ervas Ltda, SP, o laudo técnico e identificativo comprovam a presença de cumarina na semente. Um único lote do produto foi adquirido, conservado adequadamente em local seco e sem incidência de luz, e foi utilizado em todos os experimentos. As sementes foram moídas e os tamanhos de partículas caracterizados (para avaliação deste efeito no rendimento e seletividade da extração), depois disso, embaladas a vácuo e guardadas em geladeira. Não foi feita secagem da amostra, pois a cumarina é muito volátil, e poderia ser perdida.

No sistema modelo a cumarina está totalmente acessível, representando o máximo que ela poderá ser solubilizada, ou seja, um sistema ideal. Trabalhando-se com a matriz vegetal diferenças nas curvas de quantidade de cumarina solubilizada serão percebidas referentes à dificuldade de acesso do solvente dentro da matriz vegetal, até solubilizar o soluto, há resistência difusional dentro da matriz, e a competitividade de diferentes substâncias levando a maior ou menor seletividade e rendimento.

Os extratos obtidos foram diluídos utilizando álcool etílico absoluto Synth.

3.3 - Métodos experimentais

3.3.1 – Testes de solubilidade e extração supercrítica

Os experimentos de solubilidade da cumarina pura em CO₂ supercrítico e as extrações da cumarina das sementes da emburana com CO₂ supercrítico foram realizados utilizando apenas um dos extratores do equipamento mostrado na Figura 3.1. O circuito do equipamento utilizado nos experimentos deste trabalho está resumido na Figura 3.2. Nele apenas um dos extratores (o sem agitação) foi utilizado.

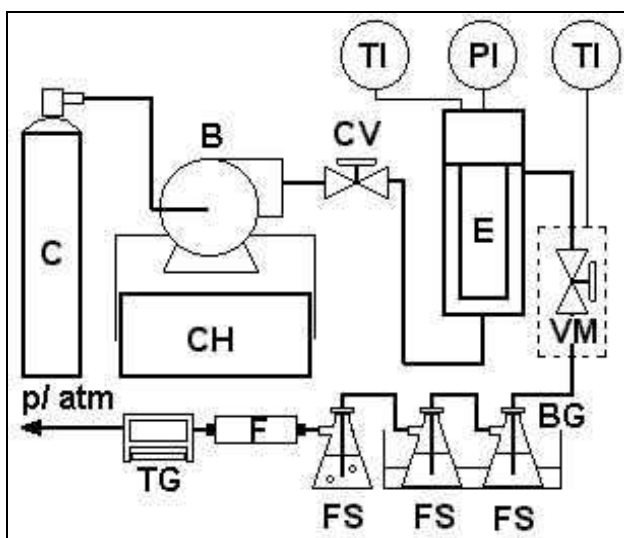


Figura 3.2 - Aparelhagem experimental de extração supercrítica: C- cilindro, BG- banho de gelo, CH- *chiller*, CV- válvula, E- extrator, F- filtro, TG- totalizador de fluxo, VM- válvula micrométrica, B- bomba, PI- indicador de pressão, FS- vasos separadores (com álcool), TI- controlador e indicador de temperatura.

O dióxido de carbono do cilindro (C), era resfriado a 2°C para prevenir sua vaporização na bomba. Uma vez resfriado e na fase líquida, o CO₂ era bombeado (pela bomba-B) e introduzido no sistema, entrava na célula de extração (E). Dentro do extrator, estava a cumarina pura (nos experimentos de solubilidade) ou a semente da emburana (nos experimentos utilizando a matriz vegetal para extração da cumarina). A temperatura interna do extrator podia ser monitorada e controlada por um indicador e controlador de temperatura, enquanto que a pressão podia ser visualizada por um manômetro, e controlada através do controle da vazão, na bomba, do solvente (CO₂) que entra no sistema, ou através do controle da vazão de saída do sistema, pela válvula micrométrica.

A tubulação de saída do extrator era mantida à mesma temperatura da célula de equilíbrio. Ao atingir a pressão desejada, a válvula de expansão (VM) era aberta até que a vazão de operação fosse alcançada. Esta válvula era aquecida por uma fita de aquecimento para evitar o seu resfriamento. A cada ponto experimental, passava-se uma quantidade fixa de CO₂, sendo que a cumarina era coletada em kitassatos (FS) contendo álcool etílico absoluto, colocados em série e em banho de gelo para minimizar as perdas das substâncias extraídas. O CO₂ gasoso continuava fluindo até o medidor de vazão e, em seguida, era descartado na atmosfera. Após a

extração efetuava-se uma lavagem da tubulação de saída com álcool etílico absoluto para recuperação das substâncias precipitadas nas válvulas e na tubulação.

Foram realizados testes para determinação da vazão máxima que poderia ser utilizada com garantia de estabelecimento de uma condição de equilíbrio termodinâmico e sem o comprometimento da transferência do soluto para o solvente supercrítico. Nesta etapa utilizaram-se diferentes vazões do solvente, para que fossem estabelecidas as condições nas quais se encontra a limitação da transferência de massa, com o intuito de saturar o CO₂ e, conseqüentemente, chegar ao equilíbrio.

Foram realizados testes de solubilidade nas temperaturas de 35 °C, 45 °C e 55 °C. Para cada isoterma foi medida a solubilidade nas pressões de 11 MPa, 15 MPa, 20 MPa e 24 MPa. A vazão de solvente utilizado foi de 0,4 L/min. Foram utilizados 5 L de dióxido de carbono para cada ponto coletado. Os pontos foram coletados em triplicata para se determinar a reprodutibilidade dos resultados.

Depois desta etapa, determinada a vazão adequada de solvente, experimentos utilizando vazão de solvente de 0,9 L/min foram feitos nas temperaturas de 35 °C, 45 °C e 55°C, e nas pressões de 11 MPa, 15 MPa, 20 MPa, 24 MPa, 28 MPa e 32 MPa. Foram utilizados 15,8 L de dióxido de carbono para cada ponto coletado. Cada ponto repetido cinco vezes.

Para as medidas de solubilidade da cumarina em CO₂ supercrítico, o extrator foi empacotado com 200 g de esferas de vidro (5 mm de diâmetro) e 40 g de cumarina pura (item E da Figura 3.2). As esferas de vidro foram colocadas com o intuito de aumentar a área de contato fluido-sólido.

Posteriormente, um procedimento semelhante, mas extraíndo a cumarina das sementes da emburana, foi executado. As sementes foram moídas, para avaliação do tamanho de partícula ideal para otimizar o rendimento e seletividade da extração da cumarina a partir da matriz vegetal. Os extratos coletados foram avaliados de acordo com a fração extraída em função de um volume conhecido de CO₂ utilizado.

3.3.2 – Extração convencional

Foram realizados experimentos utilizando álcool etílico absoluto e hexano como solventes extratores, com o objetivo de comparar o rendimento e a seletividade de cada um dos solventes. A extração foi feita utilizando-se 50 mg de sementes de emburana previamente moída (diâmetro variando de 355 μm a 500 μm) em 50 e 100 mL de solvente (para análise do equilíbrio e quantidade de princípio ativo extraído nos dois casos) acondicionados em erlenmeyer que foram imersos em banho ultra-som à temperatura controlada de 50 °C. Escolheu-se o método de extração por sonicação por ter sido descrito por Celeghini (1997) como o método mais eficaz, dentre os estudados pela autora, para extração da cumarina das folhas do guaco. Para o guaco, em 20 min de sonicação o equilíbrio foi atingido.

Com estes resultados espera-se quantificar a cumarina existente na semente da emburana, cujo dado não foi encontrado na literatura.

3.4 – Análise do teor de cumarina dos extratos

Para as medidas de concentração de cumarina solubilizada no sistema modelo foi utilizado um espectrofotômetro UV da HP modelo 84453 (Shimadzu, Hanover, Alemanha). Foram feitas duas curvas padrão para análise da concentração de cumarina dos extratos, uma delas utilizando-se água destilada (Figura 3.3), e a outra, álcool etílico (Figura 3.4) como solvente.

As curvas de calibração foram feitas com pontos de concentração de 10^{-6} , $2 \cdot 10^{-6}$, $4 \cdot 10^{-6}$, $6 \cdot 10^{-6}$, $8 \cdot 10^{-6}$ e 10^{-5} g cumarina/mL de solvente. Foi feita uma solução estoque com 0,05 g de cumarina pura Synth em 50 mL de solvente.

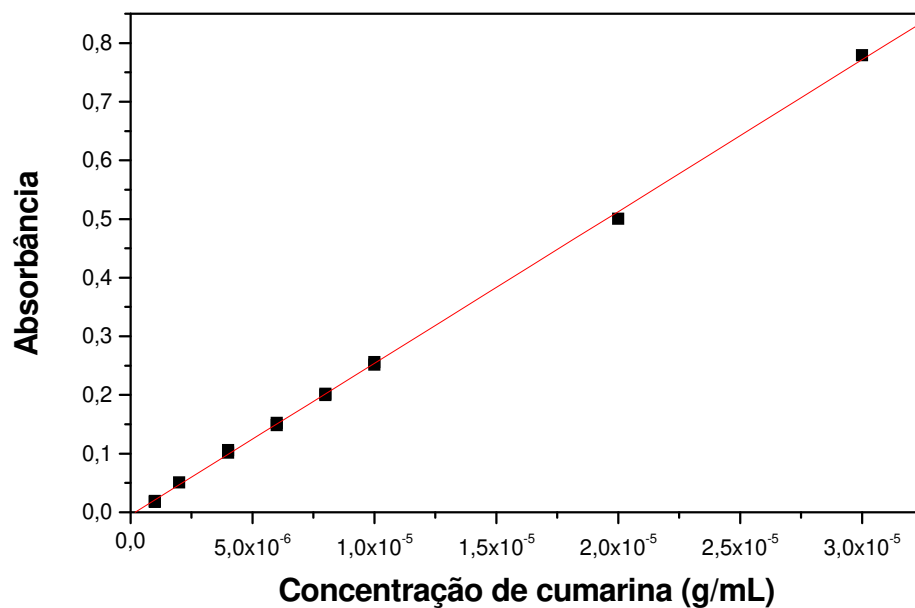


Figura 3.3 – Curva de calibração da cumarina no espectro UV utilizando água destilada como solvente, e leitura em 278 nm.

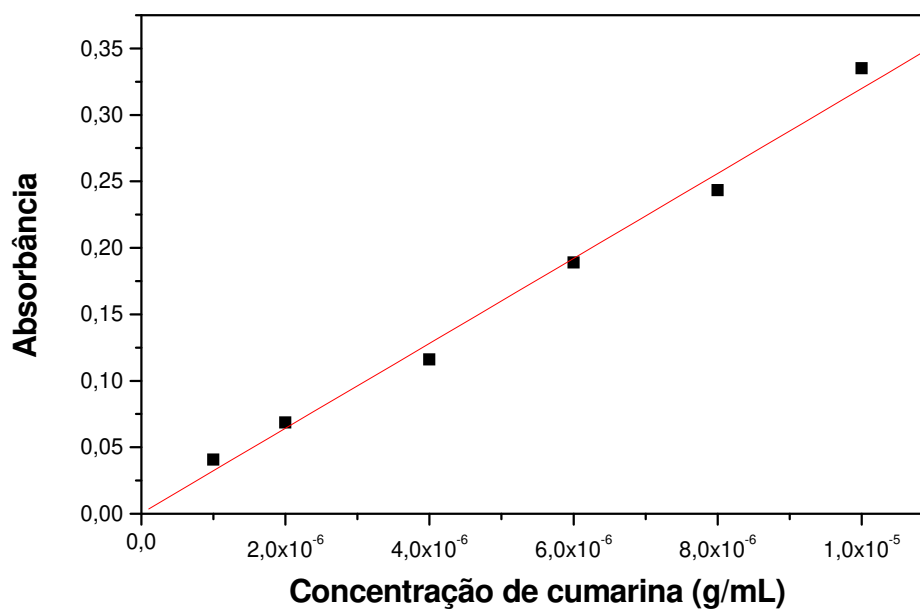


Figura 3.4 – Curva de calibração da cumarina no espectro UV utilizando álcool etílico absoluto como solvente, e leitura em 274 nm.

Para se obter as concentrações desejadas, utilizaram-se 50 μL , 100 μL , 200 μL , 300 μL , 400 μL e 500 μL da solução estoque em 50 mL de solvente.

Varrendo toda a região de UV no espectro foi verificada uma absorbância máxima para a cumarina em um comprimento de onda de 274 nm, para o caso da solução alcoólica e 278 nm, no caso da solução aquosa.

As análises dos extratos obtidos através da extração supercrítica da cumarina a partir da semente da emburana foram feitas através de análise por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) utilizando-se um equipamento da Merck-Hitachi Modelo Lachrom série 7000, detector UV DAD (arranjo de diodo). Foi utilizada coluna analítica C-18 125 mm x 4 mm Merck Lichorpher. Os extratos diluídos e filtrados com filtro da Milipor de 0,45 μm .

Para a execução das análises cromatográficas foi utilizado gradiente de fase móvel. No início do procedimento a fase móvel era composta de 30% de metanol grau HPLC Merck, e 70% de mistura água com ácido fórmico Merck PA (5%). O tempo da corrida era de 30 minutos, e no final, tinha-se um gradiente composto por 80% de metanol e 20% de solução de água com 5% de ácido fórmico. Este método de análise foi desenvolvido e executado no Laboratório NaturalLabor, pela Professora Dra. Regina Mara Silva Pereira.

A princípio foi levantada uma curva de calibração para a cumarina utilizando-se cumarina pura Synth (pureza superior a 99,9%). Foram feitas soluções alcoólicas, utilizando-se álcool etílico absoluto Synth, nas concentrações de 10^{-6} , $4 \cdot 10^{-6}$, $8 \cdot 10^{-6}$, 10^{-5} g/mL. A curva de calibração para a cumarina pura feita no cromatógrafo, que pode ser observada na Figura 3.5, foi ajustada na forma:

$$a = A + Bc \quad (21)$$

Sendo:

$$R^2 = 0,99997$$

a – Área do pico cromatográfico;

$$A = -1183,98;$$

$$B = 4,63 \cdot 10^{10};$$

c – Concentração de cumarina (g/mL)

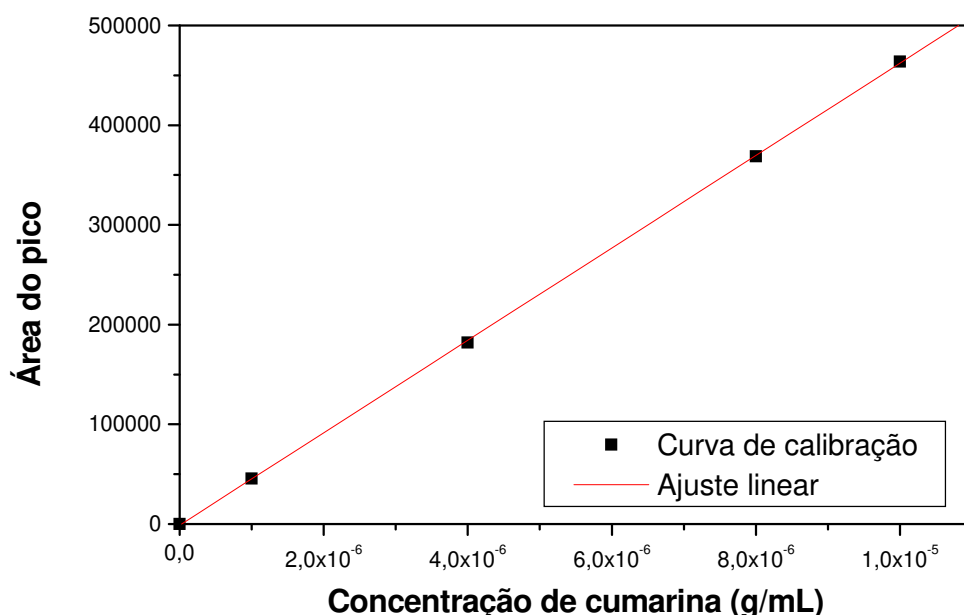


Figura 3.5 - Curva de calibração para a cumarina pura, em solução alcoólica, feita no cromatógrafo.

O tempo de retenção da cumarina, para este método de análise é por volta de 5 min.

Para análise dos extratos coletados nos ensaios de extração convencional foi utilizada a mesma técnica descrita anteriormente, utilizada para análise dos extratos obtidos por extração supercrítica.

3.5 – Modelagem dos dados de solubilidade da cumarina

Para modelagem dos dados de solubilidade foi utilizada a equação de estado de Peng-Robinson (Equação 8), e as regras de mistura de van der Waals (Equação 10) e Mohamed-Holder (Equação 11).

A pressão de sublimação da cumarina foi estimada pela correlação de Watson (Lyman *et al.*, 1990).

$$\ln P^v \approx \frac{\Delta H_{vb}}{\Delta Z_b R T_b} \left[1 - \frac{(3 - 2T_{\rho b})^m}{T_{\rho b}} - 2m(3 - 2T_{\rho b})^{m-1} \ln T_{\rho b} \right] \quad (22)$$

Sendo:

$$T_c \approx 3T_b/2 \quad (23)$$

$$T_{\rho b} = T/T_b \quad (24)$$

$$\Delta H_v \approx \Delta H_{vb} (3 - 2T_{\rho b})^m \quad (25)$$

O valor de m da equação depende do estado físico da substância na temperatura de interesse, para líquidos, $m=0,19$. Para sólidos os valores recomendados para o parâmetro m são:

$$T_{\rho b} > 0,6 \rightarrow m = 0,36$$

$$0,6 > T_{\rho b} > 0,5 \rightarrow m = 0,8 \quad (26)$$

$$T_{\rho b} < 0,5 \rightarrow m = 1,19$$

A Figura 3.6 ilustra uma comparação entre pressões de sublimação experimentais e as preditas pela correlação de Watson.

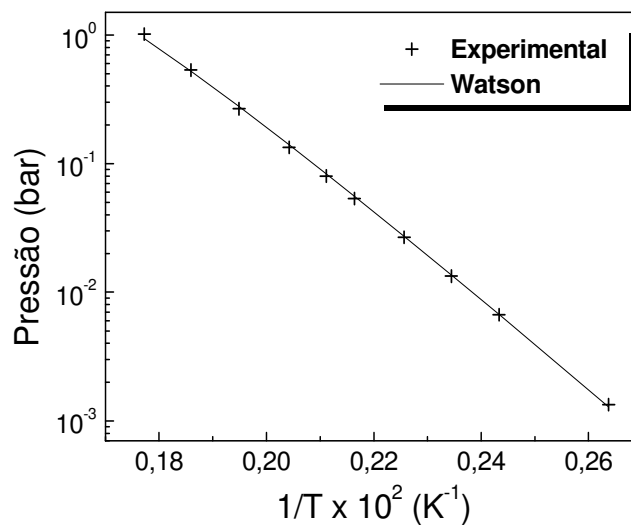


Figura 3.6 - Cálculo da pressão de vapor pela correlação de Watson (Lyman, 1990). Dados experimentais de Perry e Green (1997).

As propriedades críticas foram calculadas pelo método de contribuição de grupos de Lydersen (1955). As propriedades críticas são estimadas utilizando as Equações 27 e 28. As contribuições de grupo estão listadas no Anexo 1.

$$T_c(K) = \frac{T_b(K)}{0,567 + \sum \Delta T_c - (\sum \Delta T_c)^2} \quad (27)$$

$$P_c(bar) = \frac{M_w}{(0,34 + \sum \Delta P_c)^2} \quad (28)$$

4 – RESULTADOS EXPERIMENTAIS

4.1 – Influência da Vazão de Solvente Supercrítico na Solubilização da Cumarina

O processo de extração supercrítica baseia-se principalmente na solubilização do soluto de interesse em solventes no estado supercrítico. Desta forma, a solubilidade do produto desejado em solventes supercríticos é um dado de fundamental importância para escolha do solvente, determinação dos rendimentos, dimensionamento e otimização do processo de extração. Entretanto, os dados de solubilidade reportados na literatura ainda são escassos e, em muitos casos, apresentam grandes divergências entre si, que podem ser resultantes das técnicas empregadas, métodos de análise e pureza dos compostos utilizados.

Foi realizado um teste de vazão para se determinar a vazão máxima admissível para que se atinja o equilíbrio de fases no final do extrator e se obtenha um extrato saturado de cumarina. Possibilitando realizar uma análise qualitativa de como a saturação é desfavorecida com o aumento da vazão, e qual poderia, então, ser a vazão ideal de trabalho, assegurando que os dados obtidos sejam realmente dados de equilíbrio termodinâmico.

Para este teste, inseriu-se 30 g de cumarina pura e foram passados 5 litros de CO₂ para cada ponto. Cada condição experimental foi realizada em triplicata. As vazões testadas foram de 0,2; 0,5; 0,7; 0,9 e 1,0 L/min. Medidas na saída a 0,93 bar e temperatura ambiente. Todas realizadas nas mesmas condições operacionais de: 15 MPa (2200 psi) e 35 °C (308 K).

Na Figura 4.1 encontram-se os dados de solubilização da cumarina em dióxido de carbono supercrítico a 35 °C e 15 MPa em função da vazão de solvente utilizada.

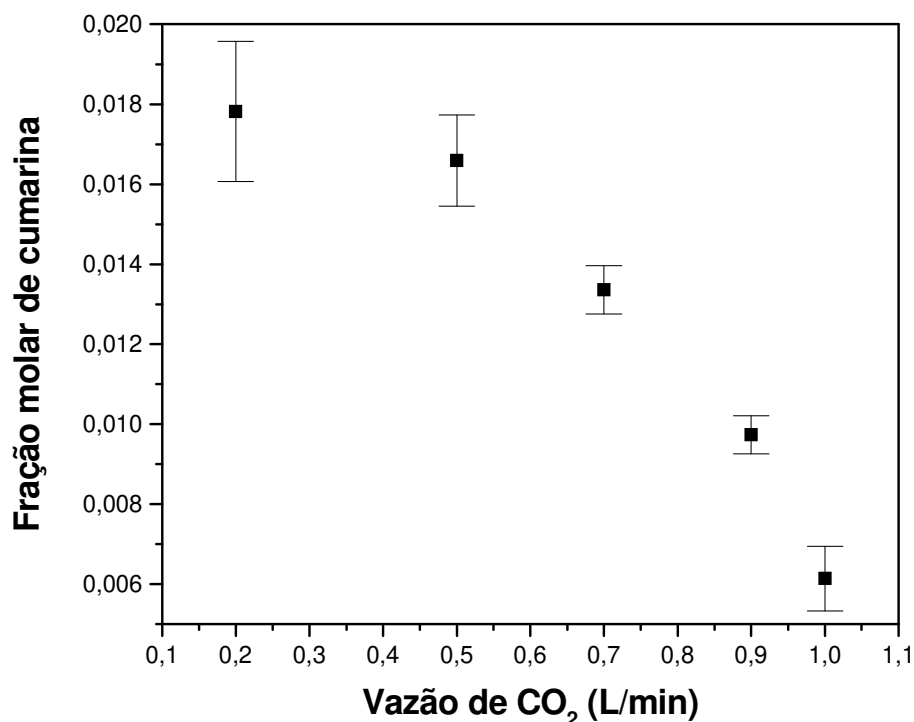


Figura 4.1 - Relação entre vazão e fração molar de cumarina solubilizada. Dados coletados a 15,17 MPa e 35 °C.

Observou-se que para vazões superiores a 0,5 L/min, o tempo de residência do solvente supercrítico dentro do extrator não é suficiente para a sua saturação, ou seja, não se atinge equilíbrio termodinâmico.

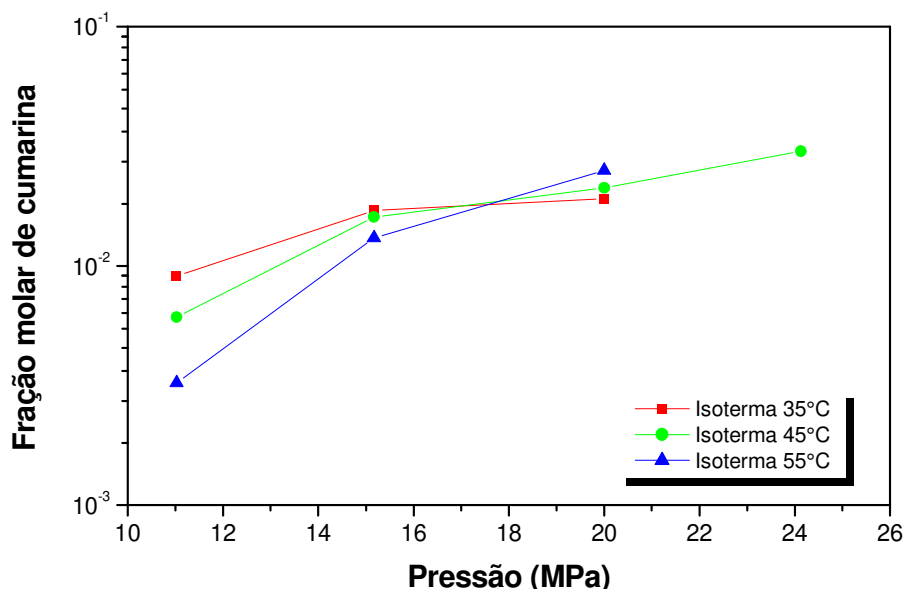
4.2 – Solubilidade da Cumarina em Dióxido de Carbono Supercrítico

Com base no resultado do teste de vazão, optou-se pela realização dos ensaios de solubilidade de cumarina utilizando vazão de 0,4 L/min, assegurando desta forma, que os resultados obtidos sejam de equilíbrio.

Na Tabela 4.1 encontram-se os dados de solubilidade de cumarina em dióxido de carbono supercrítico empregando vazão de solvente de 0,4 L/min, e na Figura 4.2 estão apresentadas as respectivas isotermas.

Tabela 4.1 – Solubilidade da cumarina em CO₂.

Pressão (MPa)	Fração molar ($\times 10^2$)		
	35°C	45°C	55°C
11	$0,91 \pm 0,07$	$0,61 \pm 0,02$	$0,32 \pm 0,04$
15	$1,71 \pm 0,19$	$1,60 \pm 0,19$	$1,31 \pm 0,16$
20	$1,91 \pm 0,02$	$2,12 \pm 0,02$	$2,50 \pm 0,11$
24	--	$3,01 \pm 0,10$	--

**Figura 4.2** – Solubilidade da cumarina em função da temperatura e pressão.

A alta solubilidade da cumarina em CO₂ supercrítico impossibilitou a realização dos experimentos nas pressões acima de 24 MPa, onde obter-se-ia frações molares maiores que 0,03, que equivale à solubilidade maior que 100 g/Kg. O dióxido de carbono em estado supercrítico ao passar pela válvula de expansão na tubulação de saída do extrator, retornava as condições de pressão e temperatura ambientes, perdendo seu poder de solubilização. Com isto, a cumarina solubilizada no CO₂ supercrítico passava a ser insolúvel no fluido, passando ao estado sólido. Porém como a válvula de expansão e tubulação de saída encontrava-se a temperaturas superiores a 120 °C, pois havia necessidade de aquecimento externo para evitar congelamento do CO₂ devido à expansão, o que tornava a vazão instável. Com isto a cumarina solubilizada ao entrar em contato com a superfície aquecida fundia, obstruindo a saída do extrator.

Após a execução dos experimentos foi percebido que nas condições experimentais de maior pressão e temperatura, era formada uma “placa” de cumarina sólida no fundo do extrator e na tubulação de entrada do solvente. Quando este fenômeno acontecia no decorrer do experimento, a entrada do extrator era obstruída, tornando inviável a sua continuidade. O ponto de fusão da cumarina se encontra entre 68 °C - 70 °C, desta forma, supõe-se que houve abaixamento no ponto de fusão da cumarina com aumento da pressão, e como consequência, nestas condições mais extremas a cumarina encontrava-se na fase líquida dentro do extrator durante o experimento.

Nas pressões mais baixas (até 18 MPa) há um aumento da solubilidade com a diminuição da temperatura, representando a região de comportamento retrógrado, ou seja, diminuição da solubilidade com o aumento isobárico da temperatura. Nas pressões acima da pressão de cruzamento o comportamento da solubilidade muda e a cumarina torna-se menos solúvel à medida que a temperatura diminui, como se pode observar na Figura 4.2.

Choi *et al.* (1998) levantaram dados de solubilidade de cumarina em CO₂ supercrítico nas temperaturas de 35, 40 e 50°C e pressões variando entre 8,5 e 25 MPa. Para efeito de comparação entre os resultados, os dados de solubilidade de cumarina encontrados por Choi *et al.* (1998) e os encontrados neste trabalho na vazão de 0,4 L/min são mostrados na Figura 4.3.

Analisando a Figura 4.3 pode-se comprovar que, para os resultados obtidos neste trabalho há a ocorrência de uma única pressão de cruzamento, no intervalo de 15 MPa e 20 MPa, ou seja, acima dessa pressão, não há mais o comportamento retrógrado da solubilidade em função da temperatura. Para os dados de solubilidade de cumarina em dióxido e carbono supercrítico publicados por Choi *et al.* (1998), o comportamento retrógrado foi observado para as isotermas realizadas a 35 e 40°C entre 8,5 e 10,0 MPa, enquanto que a 50°C, os valores de solubilidade obtidos pelos autores para a isoterma são menores que os observados para as isotermas acima citadas para toda a faixa de pressão estudada. Além disso, os autores não verificaram uma pressão única de cruzamento superior.

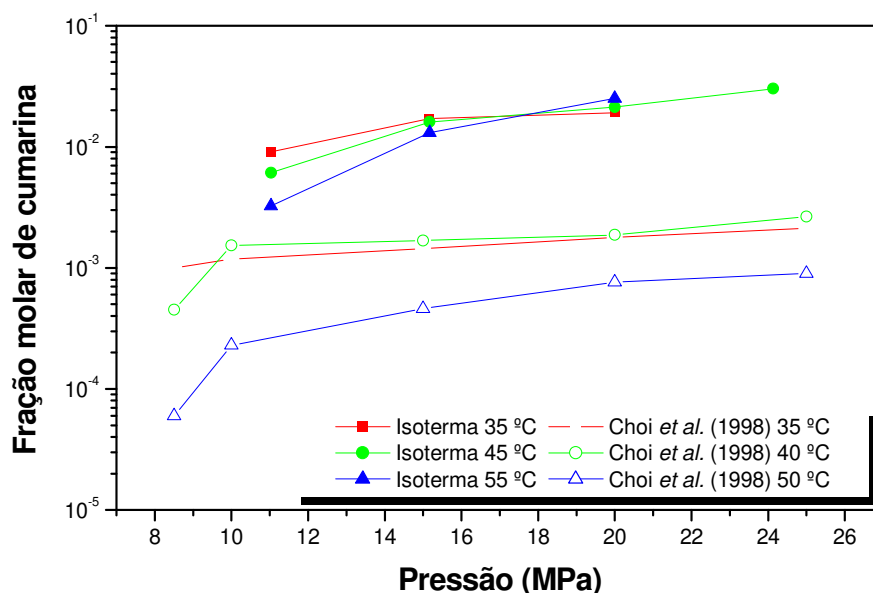


Figura 4.3 – Dados experimentais de fração molar de cumarina solubilizada versus pressão obtidos a 35, 45 e 55 °C e pressões entre 11 MPa e 32 MPa à vazões de solvente de 0,4 L/min. Dados de Choi *et al.* (1998) coletados nas condições de 35 °C, 40 °C e 50 °C, pressões entre 8,5 MPa e 25 MPa, com vazão de solvente de 0,2 L/min.

Chimowitz *et al.* (1988) reportam a existência de uma única pressão de cruzamento superior para sistemas sólido-solvente supercrítico. Em um estudo posterior Foster *et al.* (1991) confirmam a evidência da existência de uma única pressão de cruzamento superior para $1 < T_r < 1,15$.

As possíveis razões para a discrepância entre os resultados de Choi *et al.* (1998) e os deste trabalho podem ser explicadas pelas diferenças de metodologia. A metodologia experimental utilizada no trabalho de Choi *et al.* (1998) apresenta aspectos que podem ter levado a erros sistemáticos nos dados, tais como:

- A quantidade de cumarina inserida no extrator muito pequena, havendo a possibilidade da cumarina ter se esgotado antes do término do experimento;
- Na metodologia de análise dos resultados, os extratos contendo cumarina e metanol eram secos à vácuo para posterior diluição da cumarina e análise da massa extraída; porém, pelo fato da cumarina ser muito volátil, esta metodologia pode ocasionar perda do produto.

4.3 – Solubilização da Cumarina em CO₂ Supercrítico em Estado Estacionário

Ensaio de solubilização de cumarina em vazões de 0,9 L/min de CO₂ supercrítico foram realizados com objetivo de avaliar o comportamento da curva de solubilização em função da temperatura e da pressão, assim como comprovar o distanciamento do equilíbrio termodinâmico nesta condição.

A Tabela 4.2 apresenta a curva de dissolução de cumarina em CO₂ supercrítico em diferentes temperaturas e pressões.

Tabela 4.2 – Dados de solubilização da cumarina em CO₂ supercrítico a diferentes pressões e temperaturas coletados em uma vazão de 0,9 L/min.

Pressão (MPa)	Fração molar (x 10 ²)		
	35°C	45°C	55°C
11	0,52 ± 0,03	0,38 ± 0,03	0,15 ± 0,02
15	0,97 ± 0,05	0,92 ± 0,13	0,74 ± 0,07
20	1,14 ± 0,10	1,29 ± 0,12	1,39 ± 0,06
24	1,27 ± 0,03	1,67 ± 0,10	1,92 ± 0,11
28	1,89 ± 0,20	2,58 ± 0,25	2,70 ± 0,24
32	2,47 ± 0,68	2,76 ± 0,25	3,06 ± 0,31

Comparando os valores da Tabela 4.2 e 4.1 pode-se observar que para a vazão de 0,9 L/min foi possível realizar os experimentos em condições de pressão superior às realizadas com vazão de 0,4 L/min. Isto se deve principalmente a três fatores. Em primeiro, devido a ausência de equilíbrio termodinâmico nos dados obtidos com maior vazão, o CO₂ não se encontrava saturado com a cumarina, e portanto ao sofrer expansão na saída do extrator, a quantidade de cumarina liberada na válvula de expansão era inferior à obtida com menor vazão. O segundo fator é devido ao escoamento na saída do extrator, pois quando em maior vazão, há a ocorrência de maiores velocidades de gás, permitindo melhor escoamento das partículas de cumarina na válvula de expansão e tubulação de saída, por arraste. Além disso, com aumento da vazão, as trocas térmicas entre o fluido e paredes da tubulação e válvula são favorecidas, diminuindo a possibilidade de fusão da cumarina, e conseqüentemente a obstrução da saída do extrator. Devido a estes fatores foi possível realizar experimentos de solubilização de cumarina em dióxido

de carbono supercrítico em pressões maiores, sem a ocorrência de obstrução da saída do extrator.

Analisando os dados da Figura 4.4 pode-se perceber que a vazão empregada de 0,9 L/min era um fator limitante na transferência de massa da cumarina para o fluido supercrítico. Apesar disto, observou-se que o distanciamento do equilíbrio na condição de maior vazão ficou constante todo o tempo do experimento, possibilitando obter resultados de solubilização, em média, 57% do valor da solubilidade termodinâmica em todos os pontos coletados. Observa-se também na Figura 4.1, que o valor de fração molar de cumarina a 0,9 L/min é aproximadamente 57% do valor a 0,4 L/min.

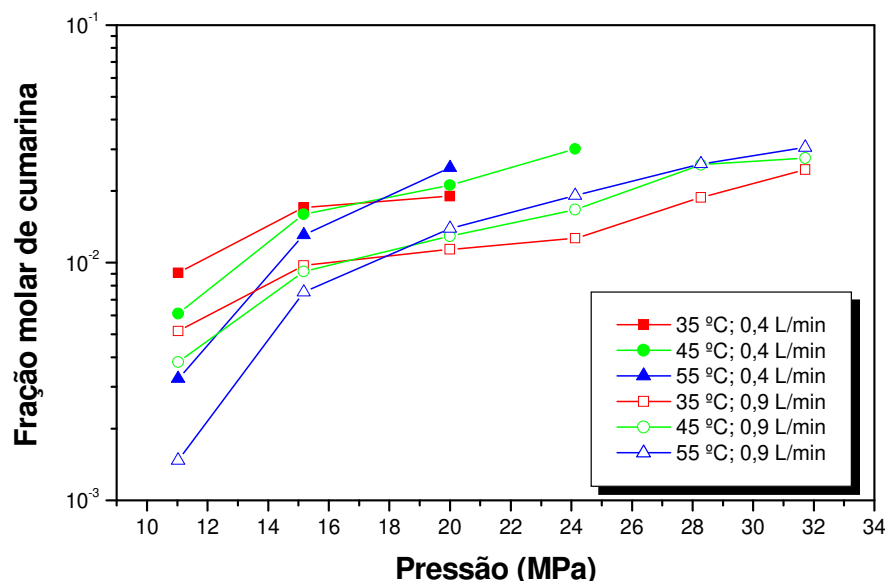


Figura 4.4 – Dados experimentais de fração molar de cumarina solubilizada versus pressão para diferentes temperaturas e vazão de solvente de 0,4 L/min e 0,9 L/min.

Mesmo não havendo equilíbrio termodinâmico para a vazão de 0,9 L/min os dados de concentração obtidos apresentaram o mesmo comportamento obtido para a vazão de 0,4 L/min, apresentando inclusive a pressão de cruzamento na mesma região. O que permite concluir, por meio da comparação dos resultados, que a unidade experimental e a metodologia utilizada nos experimentos são adequadas para a obtenção de dados de solubilidade da cumarina em dióxido de carbono supercrítico, pois, como já era previsto, a cinética não alterou a termodinâmica do sistema.

Os dados coletados na vazão de solvente de 0,9 L/min estão em estado estacionário, e se distanciam do equilíbrio termodinâmico da mesma forma.

4.4 – Modelagem Termodinâmica do Equilíbrio para o Sistema Cumarina-CO₂

A correlação dos dados experimentais foi feita utilizando a equação de estado de Peng-Robinson, utilizando duas regras de mistura distintas, a clássica de van der Waals (PR-VDW) e a de Mohamed-Holder (PR-MH). A pressão de sublimação da cumarina foi estimada pela correlação de Watson (Lyman et al., 1990). As propriedades críticas foram calculadas pelo método de contribuição de grupos de Lydersen (1955) (Tabela 4.3). Os parâmetros de interação utilizados na modelagem termodinâmica são apresentados no Anexo 2.

Tabela 4.3 – Propriedades críticas e volume molar da cumarina (sólida).

Propriedade	Unidade	Valor
T_c	K	960,1 ^a
P_c	Bar	40,1 ^a
ω	adimensional	0,0116
v^s	Cm ³ /gmol	208,79

^a Método de Lydersen (1955).

A Figura 4.5 apresenta o resultado da modelagem utilizando a regra de mistura de van der Waals, e a Figura 4.6 apresenta os resultados utilizando a regra de mistura de Mohamed-Holder.

Observa-se que os modelos obtidos não representaram satisfatoriamente os dados experimentais, independente da regra de mistura utilizada. Apesar disto, no modelo de PR-VDW o comportamento retrógrado foi verificado num mesmo intervalo de pressão, tanto para os dados experimentais quanto para o modelo.

Observou-se durante a realização dos experimentos a formação de uma “placa” de cumarina. Levantou-se então a hipótese de abaixamento do ponto de fusão da cumarina pura, resultando em cumarina fundida nas condições de pressão e temperatura utilizadas no experimento. A obstrução da entrada do extrator foi mais um indício desta hipótese, pois a cumarina, em fase líquida, fluía por gravidade

até a entrada do extrator, entrando em contato com a tubulação, que se encontrava em temperatura ambiente, isto é, menor que a temperatura do experimento, solidificando-se e obstruindo a entrada do extrator.

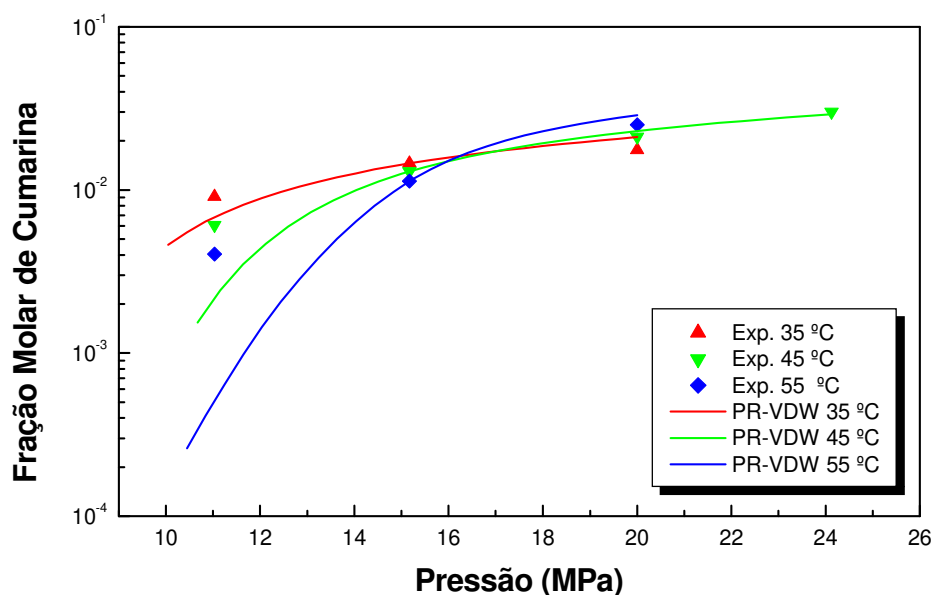


Figura 4.5 – Isotermas de solubilidade da cumarina a 308 K (35 °C), 318 K (45 °C) e 328 K (55 °C) e vazão de 0,4 L/min. Dados experimentais e modelo PR-VDW.

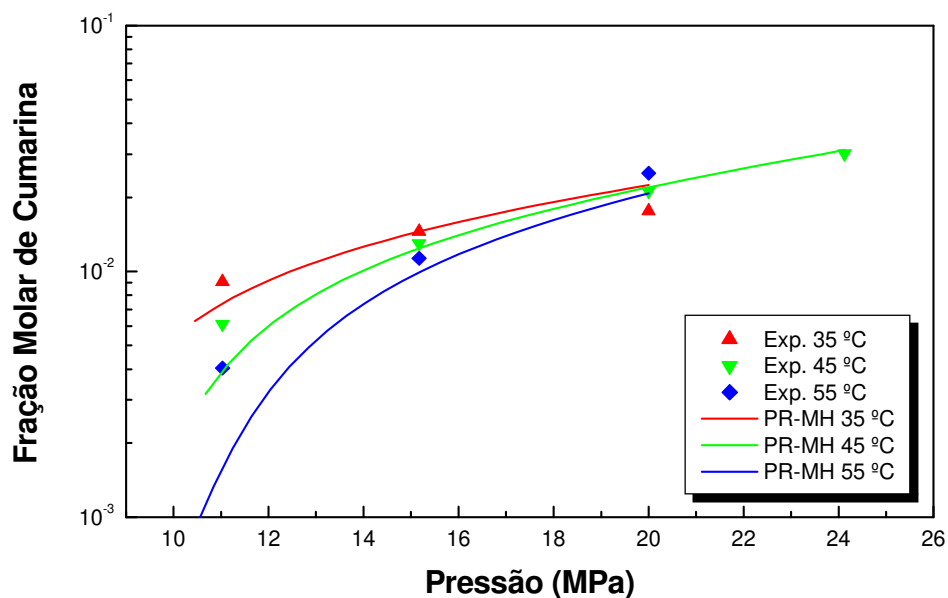


Figura 4.6 – Isotermas de solubilidade da cumarina a 308 K (35 °C), 318 K (45 °C) e 328 K (55 °C) e vazão de 0,4 L/min. Dados experimentais e modelo PR-MH.

Como forma de se avaliar a veracidade desta hipótese, foi realizada a modelagem considerando-se a possibilidade de um equilíbrio líquido-fluido supercrítico, e não o equilíbrio sólido-fluido supercrítico. Nas Tabelas 4.4, 4.5 e 4.6 estão listados os valores de solubilidade experimentais, e os preditos pelo modelo utilizando a equação de estado de Peng-Robinson e regra de mistura de van der Walls, considerando o equilíbrio sólido-vapor e líquido-vapor e seus respectivos erros.

Tabela 4.4 – Comparação entre valores experimentais de solubilidade de cumarina em CO₂ supercrítico à 35°C e previstos pela equação de estado de Peng-Robinson, utilizando regra de mistura de van der Walls, considerando equilíbrio sólido-vapor (SV) e líquido-vapor (LV).

T=35°C					
Pressão (MPa)	Experimental	LV	Erro LV (%)	SL	Erro SL (%)
11	0,0091	0,0107	17,62	0,0078	26,78
15	0,0171	0,0149	12,79	0,0162	9,01
20	0,0191	0,0178	6,82	0,0230	29,69
		Erro médio	12,41%	Erro médio	21,83%

Tabela 4.5 – Comparação entre valores experimentais de solubilidade de cumarina em CO₂ supercrítico à 45°C e previstos pela equação de estado de Peng-Robinson, utilizando regra de mistura de van der Walls, considerando equilíbrio sólido-vapor (SV) e líquido-vapor (LV).

T=45°C					
Pressão (MPa)	Experimental	LV	Erro LV (%)	SL	Erro SL (%)
11	0,0061	0,0072	17,18	0,0026	57,48
15	0,0160	0,0156	2,13	0,0155	3,25
20	0,0212	0,0218	2,83	0,0261	22,98
24	0,0301	0,0256	15,03	0,0323	7,37
		Erro médio	9,29%	Erro médio	22,76%

Tabela 4.6 – Comparação entre valores experimentais de solubilidade de cumarina em CO₂ supercrítico à 55°C e previstos pela equação de estado de Peng-Robinson, utilizando regra de mistura de van der Walls, considerando equilíbrio sólido-vapor (SV) e líquido-vapor (LV).

T=55°C					
Pressão (MPa)	Experimental	LV	Erro LV (%)	SL	Erro SL (%)
11	0,0032	0,0028	13,85	0,0006	80,36
15	0,0131	0,0139	6,19	0,0119	14,53
20	0,0250	0,0247	1,24	0,0297	19,98
		Erro médio	7,09%	Erro médio	38,29%

A seguir encontram-se os gráficos comparando os resultados experimentais obtidos e os resultados da modelagem para solubilidade de cumarina em fluido

supercrítico a 35 °C (Figura 4.7), 45 °C (Figura 4.8) e 55 °C (Figura 4.9), considerando-se o equilíbrio entre o fluido supercrítico e cumarina em fase líquida e em fase sólida.

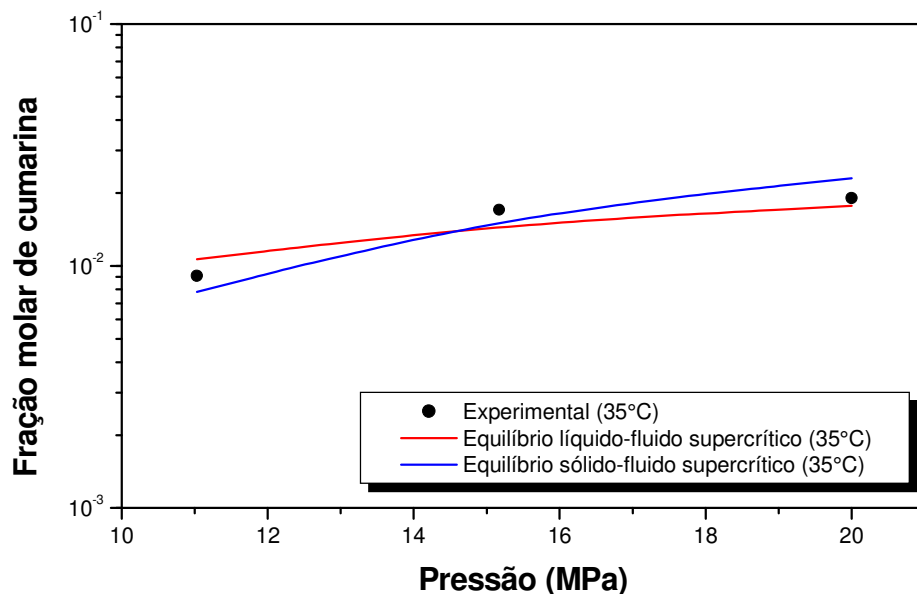


Figura 4.7 – Comparação entre os dados experimentais e preditos utilizando a equação de estado de Peng Robson e a regra de mistura clássica de van der Walls considerando equilíbrio sólido-fluido supercrítico e líquido-fluido supercrítico.

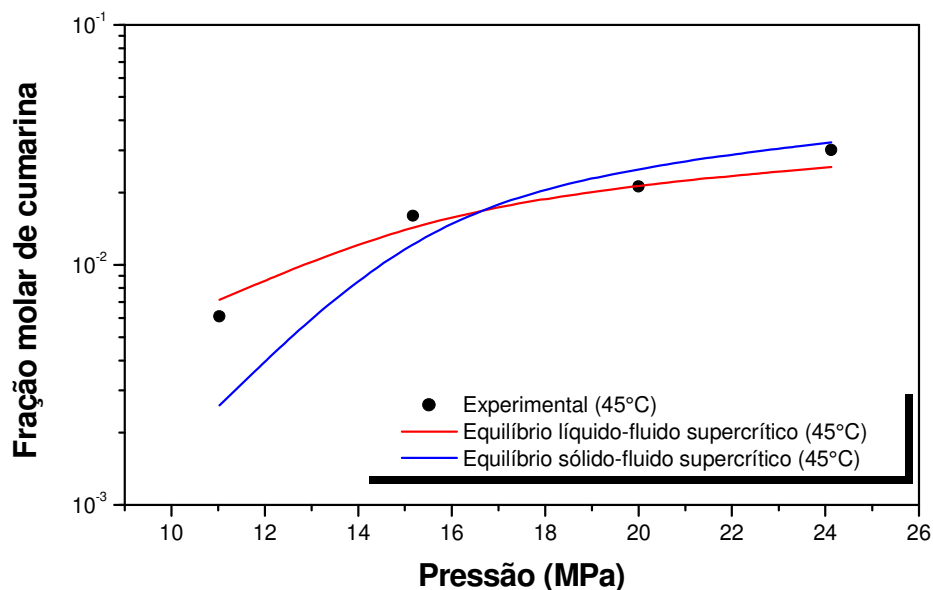


Figura 4.8 – Comparação entre dados experimentais e preditos utilizando a equação de estado de Peng Robinson e a regra de mistura clássica de van der Walls considerando equilíbrio sólido-fluido supercrítico e líquido-fluido supercrítico.

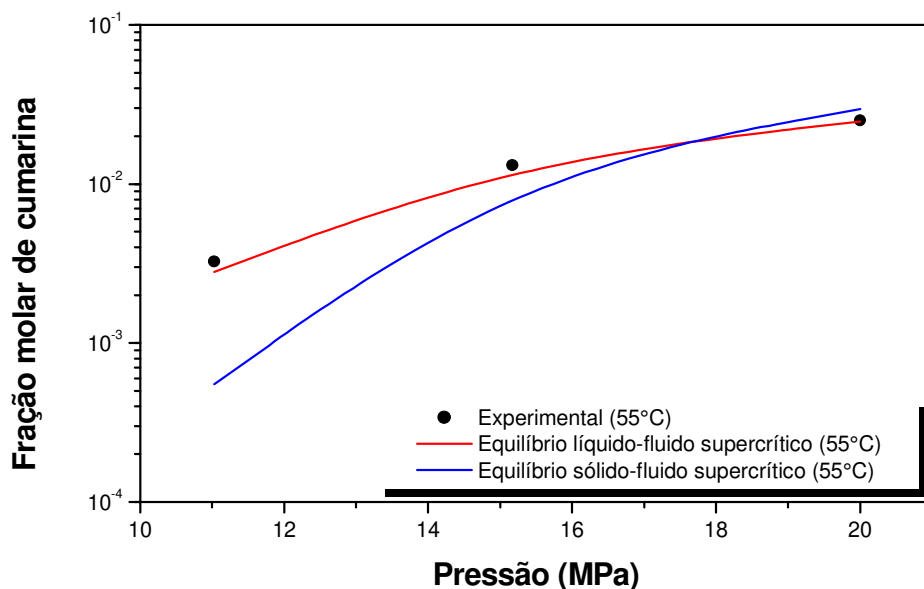


Figura 4.9 – Comparação entre os dados experimentais e preditos pelo modelo utilizando a equação de estado de Peng Robinson e a regra de mistura clássica de van der Waals considerando equilíbrio sólido-fluido supercrítico e líquido-fluido supercrítico.

Pode-se observar que as simulações considerando o equilíbrio líquido-fluido supercrítico (LV), representaram com maior precisão os resultados experimentais. Outra observação é que quanto maior a temperatura melhor foi o ajuste considerando o equilíbrio LV e, portanto, menor o erro, enquanto que, o aumento da temperatura resultou em redução da precisão do modelo considerando o equilíbrio sólido-fluido supercrítico.

Estes resultados reforçam a possibilidade de a cumarina estar na fase líquida dentro do extrator durante o experimento e, com isto, a simulação considerando líquido e fluido supercrítico se aproxima mais do sistema em questão.

Para uma mesma isoterma, o desvio entre os valores experimentais e de equilíbrio LV também diminuem com o aumento da pressão, levando a crer que nas pressões mais altas a cumarina se encontra fundida, devido ao fenômeno do abaixamento do ponto de fusão com a pressão.

Este fenômeno foi anteriormente observado por Nilsson e Hudson (1993) em um estudo sobre solubilidade de triglicerídeos puros em sistemas binários e misturas de triglicerídeos em CO₂ supercrítico. A solubilidade encontrada a 60 °C foi maior que a obtida a 40 °C. Este aumento na solubilidade foi explicado pelos

autores devido a existência de um equilíbrio líquido-fluido supercrítico a 60 °C, enquanto que a 40°C o equilíbrio existente era entre o sólido e fluido supercrítico. Verificaram que há um abaixamento no ponto de fusão do triglicerídeo, de 65,5 °C, na pressão ambiente para 57 °C a 17,2 MPa.

4.5 – Extração convencional da cumarina das sementes da emburana

Muitas substâncias biológicas, orgânicas e inorgânicas ocorrem em uma mistura de diferentes componentes em uma matriz sólida. Com a finalidade de se separar um componente desejado, ou remover componentes indesejados que estão misturados nesta fase sólida, o sólido é posto em contato com uma fase líquida. Quando as fases sólida e líquida estão em contato, o soluto (substância a ser separada) se difunde da fase sólida para a fase líquida, o que ocasiona a separação dos componentes originalmente constituintes da fase sólida. Em processos biológicos, indústrias alimentícia, cosmética e farmacêutica muitas substâncias ativas são separadas de raízes, plantas e folhas por extração sólido-líquido.

Celeghini (1997) comparou quatro diferentes tipos de extração de cumarina a partir das folhas de guaco: maceração, maceração com sonicação, infusão e extração supercrítica. A autora concluiu que o melhor método foi a maceração com sonicação, no qual o equilíbrio foi atingido em cerca de 20 min. Tendo em mãos estes resultados optou-se por fazer alguns ensaios preliminares de extração convencional utilizando ultra-som e álcool etílico absoluto como solvente extrator.

Foi realizado um teste preliminar para verificação da existência da cumarina na casca externa da semente da emburana. Para isto utilizou-se 50 mL de álcool etílico absoluto, 50 mg da casca da semente e banho ultra-sonico. Nesta etapa a temperatura não foi controlada, e por isto aumentou ao longo do experimento, devido ao uso do ultra som.

Os resultados do teste cinético realizado podem ser verificados na Figura 4.10 e Anexo 3 (Tabela 1). Em 40 min de experimento, foram extraídas 0,30 mg de cumarina, representando um rendimento inferior à 1%, levando a conclusão

de que há cumarina na casca, mas em quantidade muito inferior quando comparada com a cumarina presente no miolo da semente.

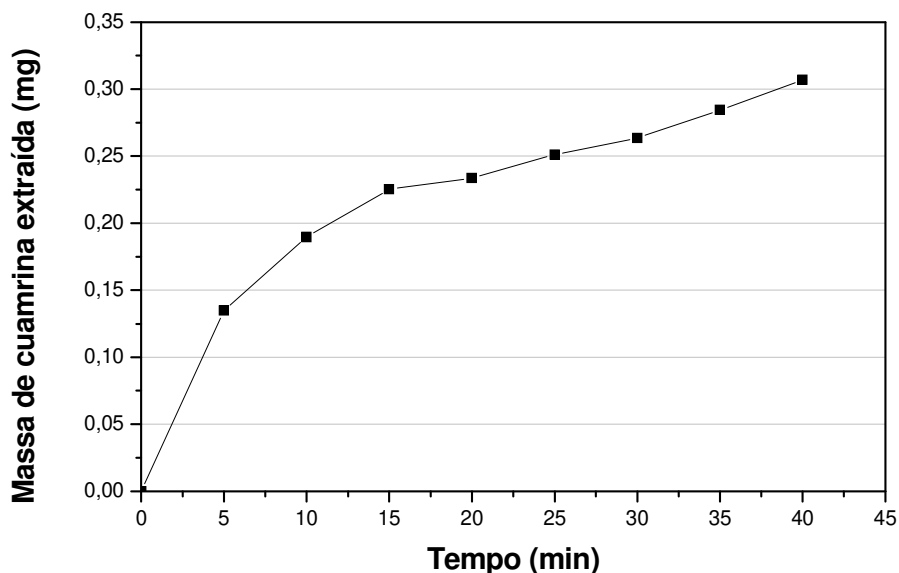


Figura 4.10 - Extração de cumarina utilizando 50 mg de casca da semente da emburana e 50 mL de álcool absoluto como solvente extrator.

Em uma etapa posterior foram feitos ensaios com a temperatura controlada (50 °C), e, utilizando álcool etílico absoluto Synth e hexano P.A. Merck como solventes.

Para confirmação de que toda a cumarina possível de ser extraída utilizando este método experimental fosse solubilizada, e que o solvente não estivesse saturado, foram realizados ensaios utilizando 50 mg de sementes moídas (diâmetro de partícula entre 355 µm e 500 µm) e volumes de 50 e 100 mL de hexano P.A. Na Figura 4.11 (Anexo 3, Tabela 2) estão apresentados as massas de cumarina extraídas para cada um dos experimentos, feitos em triplicata.

Pode-se observar que independente do volume utilizado de solvente a massa de cumarina extraída foi a mesma, salvo erros experimentais e outros erros associados a diferença na matéria prima, por se tratar de um produto natural, e sendo uma mistura de diversos outros componentes. O rendimento (massa cumarina extraída/massa semente) conseguido variou de 11 % a 16%, ficando em média, em torno de 12%, semelhante aos reportados em outros trabalhos da literatura (Leal *et al.*, 2000).

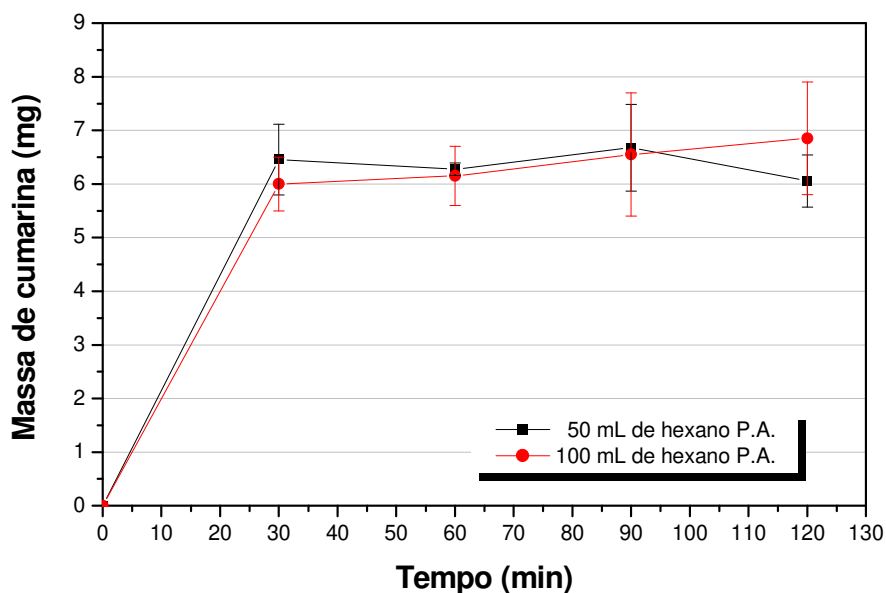


Figura 4.11 - Extração utilizando 50 mL e 100 mL de hexano P.A. e 50 mg de sementes moídas (diâmetro entre 355 μm a 500 μm).

Utilizando-se álcool etílico como solvente, e realizando o mesmo procedimento com banho ultra-sonico e temperatura controlada de 50 °C, iniciando a extração com 50 mg de sementes moídas (diâmetro variando entre 355 μm e 500 μm) e 50 mL de álcool etílico. A Figura 4.12 apresenta a cinética de extração obtida. Rendimentos de 9%, em média foram obtidos, porém com seletividade limitada.

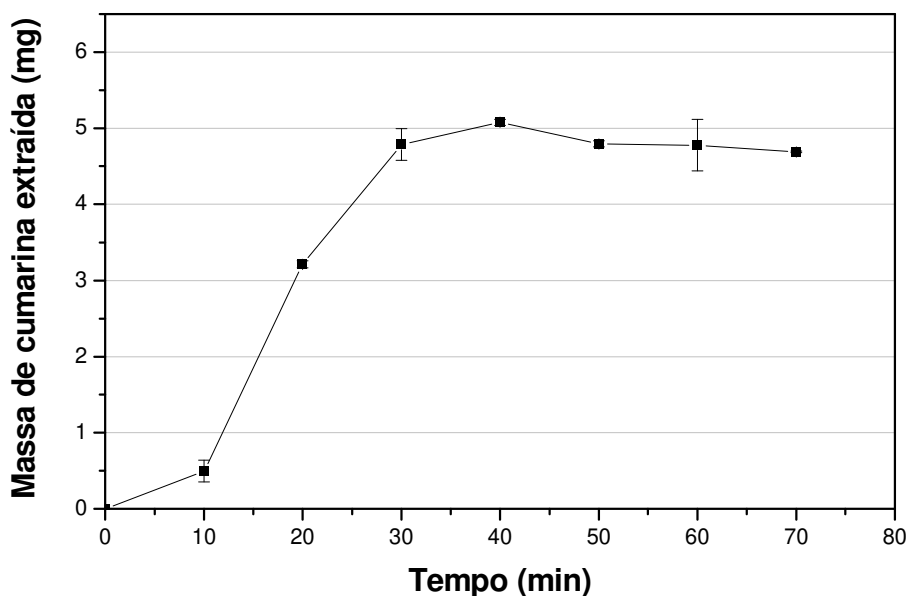


Figura 4.12 - Extração utilizando 50 mL de álcool absoluto e 50 mg de sementes moídas (diâmetro entre 355 μm e 500 μm).

Os extratos obtidos eram opacos para ambos os solventes, mas apresentam-se especialmente turvos no caso do etanol. Pode-se comparar os resultados para ambos os solventes na Figura 4.13 (Anexo 3, Tabela 3).

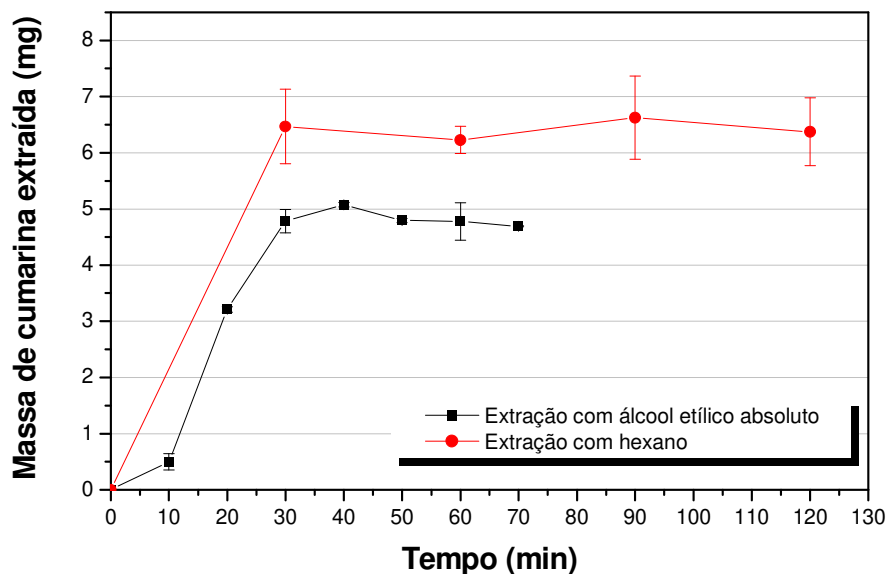


Figura 4.13 - Comparação entre as extrações convencionais utilizando etanol absoluto e hexano como solvente. Utilizou-se 50 mg de sementes moídas (diâmetro entre 300 μm e 500 μm) e 50 mL de solvente.

Observa-se que o hexano obteve rendimentos de extração superiores aos obtidos para o álcool etílico. O hexano se mostrou como sendo um solvente mais seletivo, e, além disso, levou a rendimentos superiores aos obtidos com etanol, sendo aproximadamente 1,3 vezes (30%) maior.

O hexano apresentou maior seletividade para extração da cumarina, como se pode observar pelos cromatogramas da Figura 4.14, que exemplificam a diferença de seletividade entre os solventes. Para a metodologia de análise utilizada, a cumarina sai num tempo de retenção entre 5 a 6 min. Os demais cromatogramas estão apresentados no Anexo 3.

Ao se utilizar o álcool etílico há a extração de outros componentes existente na semente de emburana, como se pode observar pela presença de um pico no início do cromatograma da Figura 4.14(a), indicando a presença de uma substância de maior polaridade. Ao se trocar o solvente, utilizando o hexano, nota-se que há uma redução no pico inicial do cromatograma como se observa na Figura 4.14(b), resultando em praticamente um único pico, sendo este o da cumarina.

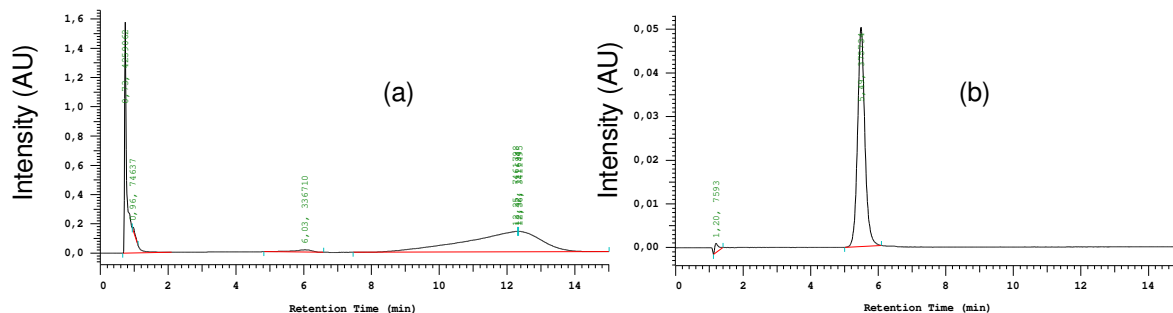


Figura 4.14 – Cromatograma correspondente ao extrato obtido aos 20 min de extração com sonicação a 50°C. O pico da cumarina para o método utilizado fica em torno de 5,2 min. (a) Álcool etílico absoluto como solvente. (b) Hexano como solvente.

Em determinados tempos de extração a quantidade de cumarina presente no extrato diminuiu, levando a crer que poderia estar havendo degradação devido ao sonicador, reação, ou que a cumarina estava sendo perdida de alguma forma. O cotovelo observado no cromatograma (Figura 4.15) é um indício característico, que ocorre no caso de degradação da amostra. Este cromatograma foi obtido a um tempo de extração duas vezes maior (40 min) que os mostrados na Figuras 4.14, o que corrobora com a hipótese de degradação da cumarina no decorrer do experimento.

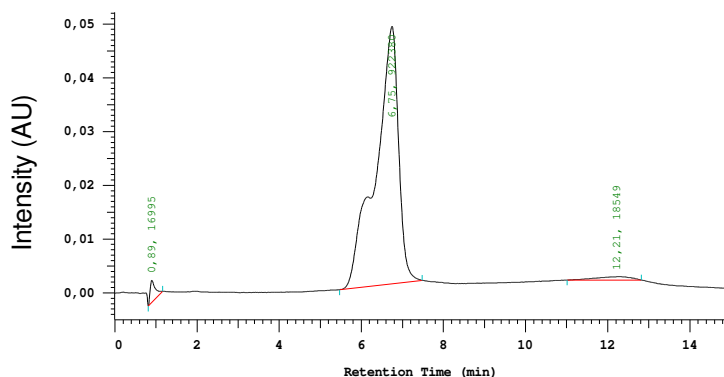


Figura 4.15 – Cromatograma correspondente ao extrato obtido aos 40 min de extração com sonicação a 50°C utilizando-se hexano como solvente extrator. Pode-se observar um 'cotovelo' característico de extratos onde está havendo degradação da substância analisada.

4.6 – Extração supercrítica da cumarina a partir das sementes da emburana

O processo de extração supercrítica é dependente da temperatura, pressão, tamanho de partícula, velocidade superficial do fluido, densidade e natureza do solvente (Recasens *et al.*, 1999). Quanto maior for a solubilidade do soluto no solvente extrator, maior será a quantidade de produto extraído. A solubilidade, sendo uma propriedade termodinâmica, é dependente da pressão, temperatura, natureza e composição do solvente. Outras variáveis que influenciam na extração é a taxa de difusão do solvente e a hidrodinâmica (Recasens *et al.*, 1999). A velocidade do solvente dentro do extrator pode ser um limitante no processo de extração, quando limita a transferência de massa. Os testes realizados com a cumarina pura indicaram que para vazões de solventes inferiores a 0,5 L/min, não ocorre limitação da transferência de massa.

Para todos os experimentos realizados foram utilizadas 14 gramas de sementes de emburana no interior do extrator, temperatura de 35, 45 e 55° C e pressões de operação de 2200 e 3500 psi.

As curvas de extração apresentam três regiões distintas. No início da extração, o soluto mais acessível localizado fora das paredes celulares, é extraído rapidamente, e por isto, a taxa de transferência de massa é maior. Nesta etapa, a extração é controlada diretamente pela solubilidade termodinâmica do soluto no fluido supercrítico, nas condições de extração (desde que a vazão não seja muito alta, e não haja limitações na transferência de massa ou arraste de soluto). Logo após a extração deste soluto é iniciada a extração na região intermediária, onde parte do soluto livre já foi esgotado em algumas seções da matriz vegetal. Depois do esgotamento o soluto livre, a extração começa a ser controlada pelo soluto menos acessível, no interior da célula, onde as paredes celulares ainda estão intactas, isto leva a uma diminuição da taxa de transferência de massa, pois o soluto deverá ser difundido do interior da célula, até sua parede celular, e daí vencer a barreira difusiva, e só depois pode ser solubilizado pela fase fluida. Nesta etapa, que corresponde a terceira etapa da extração, a difusão do soluto controla o processo (McHugh e Krukonis, 1994).

Desta forma, o pré-tratamento é decisivo na cinética da extração, pois através dele é possível o rompimento dos tecidos e paredes celulares que armazenam o soluto, deixando o soluto exposto ao fluxo de solvente. Quanto maior for o grau de ruptura dos tecidos, maior será a região de solubilidade e menor a região controlada pela difusão, mas também haverá perda da seletividade, pois não só o produto desejado, mas todas as outras substâncias constituintes do vegetal ficarão mais acessíveis.

Inicialmente foi explorado o efeito do tamanho da partícula sobre o rendimento e seletividade da cumarina na extração. Para isto foram realizados experimentos à 2200 psi, 35°C e vazão de solvente de 0,4 L/min. Foram testados 5 diferentes diâmetros de partícula: sementes inteiras, sementes inteiras sem casca, sementes moídas com diâmetro entre 300 µm a 355 µm, 355 µm a 600 µm e 600 µm a 850 µm. Na Figura 4.16 (Anexo 4, Tabela 1) está apresentado o resultado do estudo da influência do diâmetro da partícula na extração.

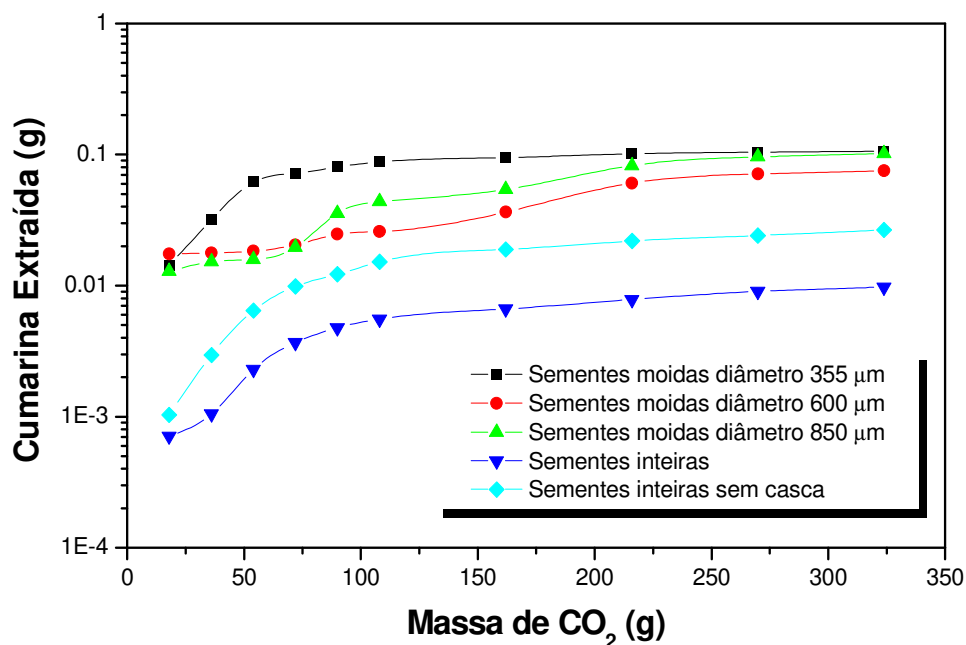
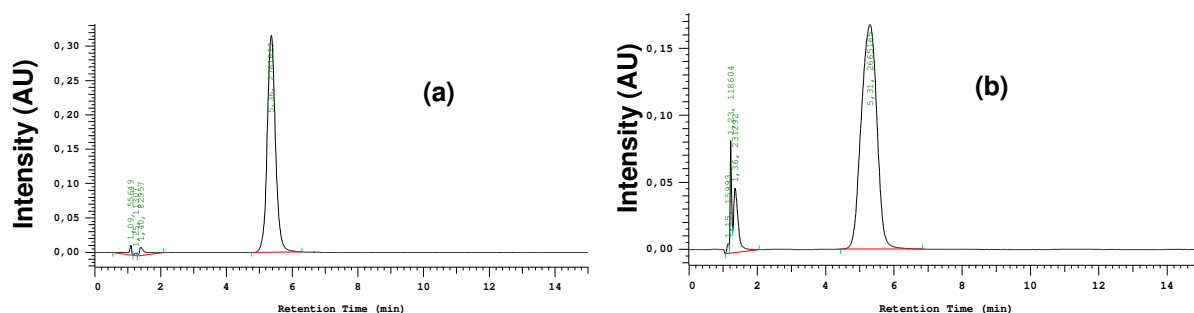


Figura 4.16 - Influência do diâmetro da partícula na semente da emburana. Dados coletados a 35°C e 2200 psi. Vazão de solvente de 0,4 L/min.

Para a coleta dos pontos, foram passados 180 L de CO₂. Até completar 60 L, foram coletados extratos de 10 em 10 L de solvente, e, depois dos 60 L os pontos foram coletados a cada 30 L de solvente passados.

Para visualizar melhor a seletividade de cada extração, estão colocados, nas Figuras 4.17 a 4.21, e Anexo 4, os cromatogramas característicos de cada uma das extrações. Analisando os cromatogramas obtidos, percebe-se que a extração da cumarina fica menos seletiva após o 7º ponto, perdendo eficiência a cada ponto subsequente.



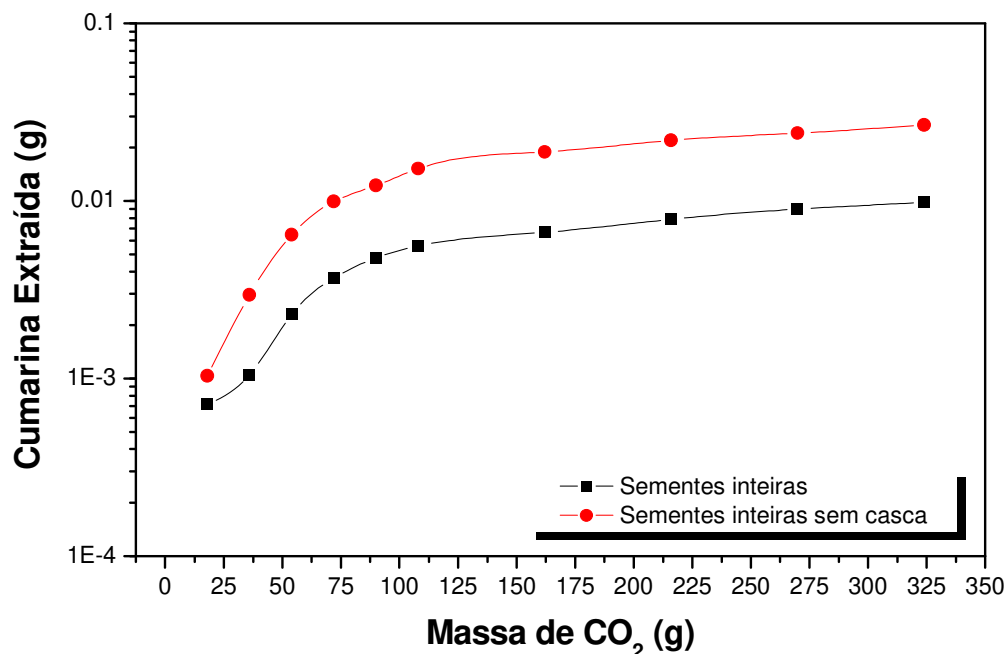


Figura 4.22 - Curvas de Extração da cumarina utilizando sementes inteiras e sementes inteiras sem casca: a casca é um fator limitante da transferência de massa. Dados coletados a 35°C e 2200 psi. Vazão de solvente de 0,4 L/min.

As demais extrações foram realizadas nas temperaturas de 35, 45 e 55°C e pressões de 15 MPa e 24 MPa, utilizando vazão de solvente de 0,4 L/min e diâmetro de partícula variando entre 355 µm a 600 µm (Figura 4.23). Analisando os dados, verifica-se que para uma mesma temperatura, a taxa de extração aumenta com o aumento da pressão. Este resultado já era esperado, pois o poder de solubilização do fluido supercrítico é potencializado, com o incremento da pressão numa mesma temperatura, devido a densidade da fase fluida ser maior.

Por outro lado, o aumento da pressão diminui a seletividade da extração supercrítica, pois haverá um grande aumento do poder de solubilização do solvente, e conseqüentemente um número maior de substâncias serão solubilizadas pelo solvente.

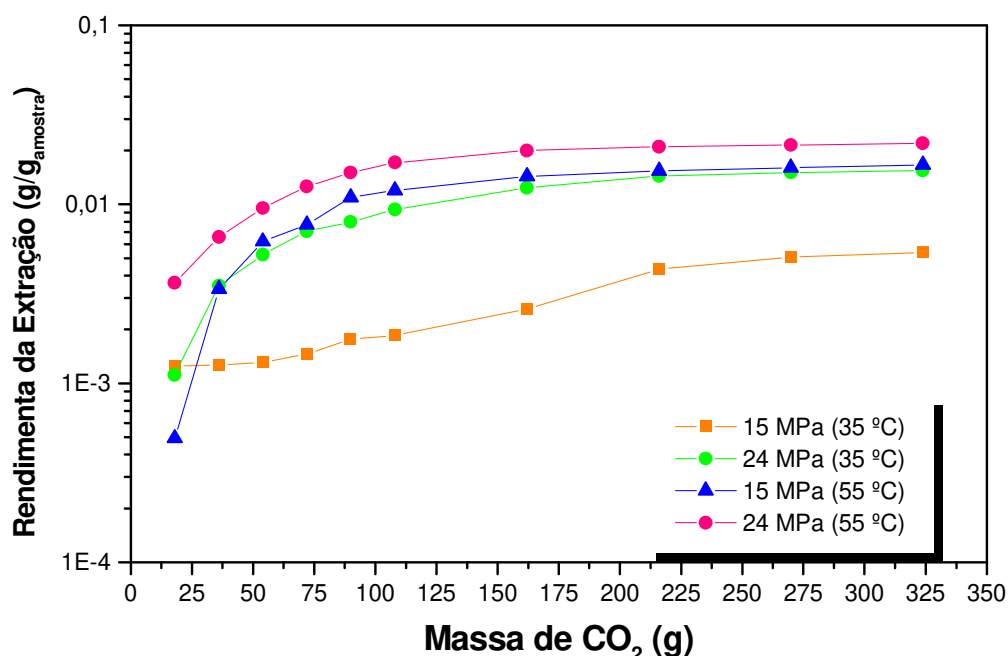


Figura 4.23 - Extração da cumarina das sementes da emburana moídas, diâmetro de 600 μm , em diferentes condições termodinâmicas de temperatura e pressão. Dados tabelados em Anexo 4, Tabela 2.

Na Figura 4.24 está plotada, separadamente a isobárica de 15 MPa para as temperaturas de 35 °C, 45 °C e 55 °C. O aumento da temperatura dentro da matriz vegetal facilita a dessorção de substâncias, e portanto ajuda a extrair. Apesar disto, o aumento da temperatura para 55 °C, levou a uma diminuição da quantidade de cumarina extraída, consequência não só do comprometimento da seletividade da extração (Figuras 4.25 a 4.27), mas também devido ao comportamento retrógrado que foi observado, no caso da cumarina pura para esta pressão e temperatura. Ou seja a 15 MPa, o aumento de temperatura diminui a solubilidade. Apesar disso a quantidade de cumarina solubilizada de matriz vegetal foi pequena quando comparada com a solubilidade desta substância pura. Esta diminuição da seletividade da extração pode ser percebida através do pico no início dos cromatogramas (tempo de retenção de aproximadamente 1,5 min) que representa a extração de outras substâncias presentes na semente de emburana, que não a cumarina. A 55 °C a quantidade destas substâncias extraídas foi superior, prejudicando desta forma o rendimento da extração quando comparada com a isoterma de 45 °C.

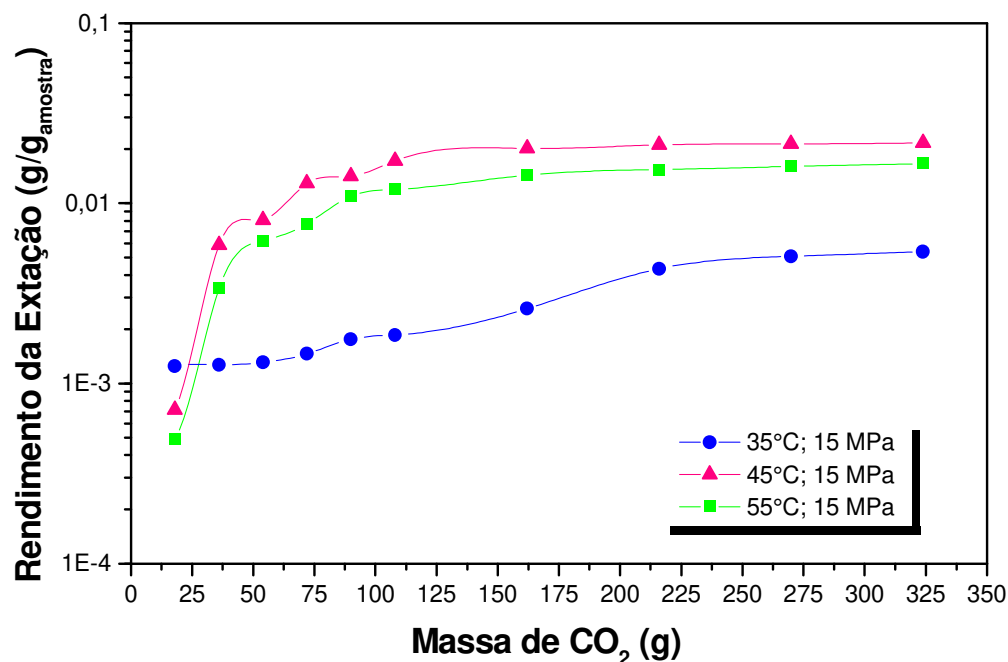


Figura 4.24 - Extração da cumarina das sementes da emburana moídas, diâmetro de 600 μm , pressão de 2200 psi, temperatura de 35, 45 e 55°C.

Nas pressões analisadas dentro do comportamento retrógrado para a cumarina, foi observado que a 35°C a quantidade de cumarina extraída foi muito baixa, apesar de que, nesta região a diminuição da temperatura deveria levar a um aumento da cumarina solubilizada, e, portanto um aumento no rendimento. Alguns fatores que podem ter levado ao grande decaimento do rendimento da extração nesta temperatura são:

- Competitividade (outras substâncias mais acessíveis e mais solúveis no dióxido de carbono supercrítico nesta temperatura);
- Baixa pressão de vapor (para as temperaturas mais altas a cumarina tem uma maior pressão de vapor, favorecendo o seu “desprendimento” da matriz vegetal);
- Fenômeno do abaixamento do ponto de fusão (a 35°C estaria ocorrendo um equilíbrio sólido - fluido supercrítico dentro do extrator, enquanto que, nas outras temperaturas estudadas, tinha-se cumarina líquida em equilíbrio com o CO₂ supercrítico);
- Dessorção favorecida na temperaturas mais altas (interação do CO₂ supercrítico com a cumarina mais propensa a ocorrer).

Outra observação importante é que o rendimento da extração a 45 e 55°C foi muito parecido, podendo-se dizer que nas condições termodinâmicas estudadas, a temperatura não influencia muito no rendimento da extração supercrítica da cumarina.

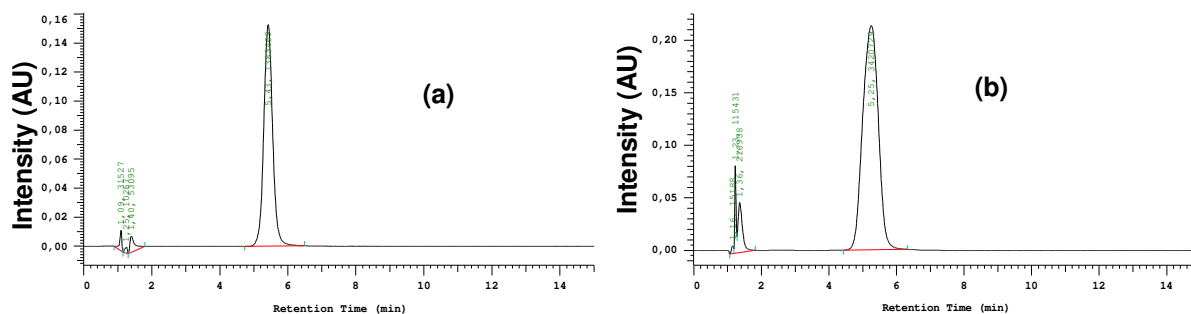


Figura 4.25 - Cromatograma extração da cumarina a pressão de 2200 psi e temperatura de 35°C, sementes da emburana moídas, diâmetro de 600 µm. (a) 10 L de solvente. (b) 180 L de solvente.

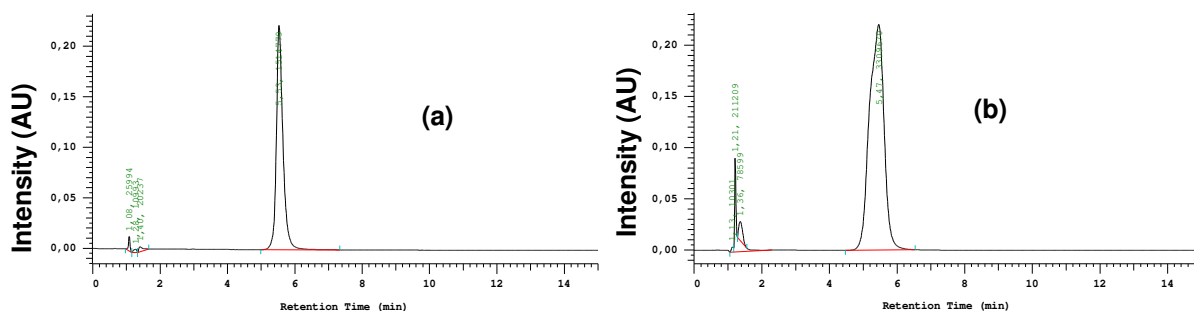


Figura 4.26 - Cromatograma extração da cumarina a pressão de 2200 psi e temperatura de 45°C, sementes da emburana moídas, diâmetro de 600 µm. (a) 10 L de solvente. (b) 180 L de solvente.

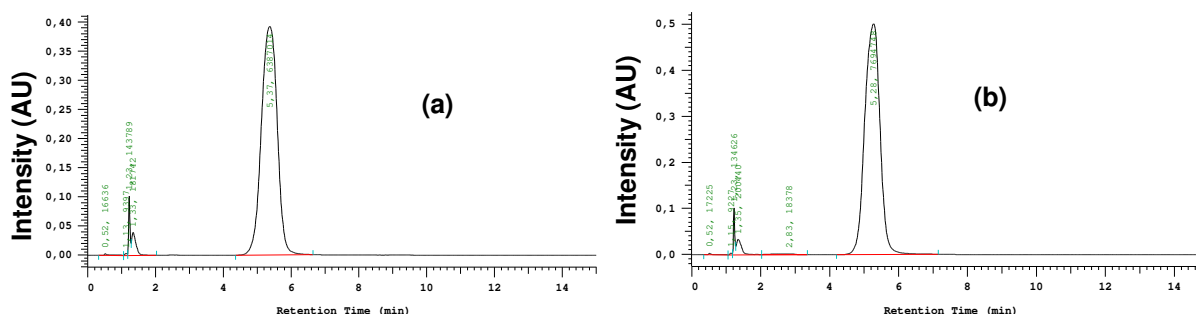


Figura 4.27 - Cromatograma extração da cumarina a pressão de 2200 psi e temperatura de 55°C, sementes da emburana moídas, diâmetro de 600 µm. (a) 10 L de solvente. (b) 180 L de solvente.

Como forma de avaliar a diferença nas extrações obtidas a 45 °C e 55 °C, ambas na mesma pressão, pode-se realizar a derivada numérica da massa de cumarina extraída em função da massa de solvente utilizado para tal, obtendo desta forma a taxa de extração de cumarina em função da massa de solvente, apresentada na Figura 4.28.

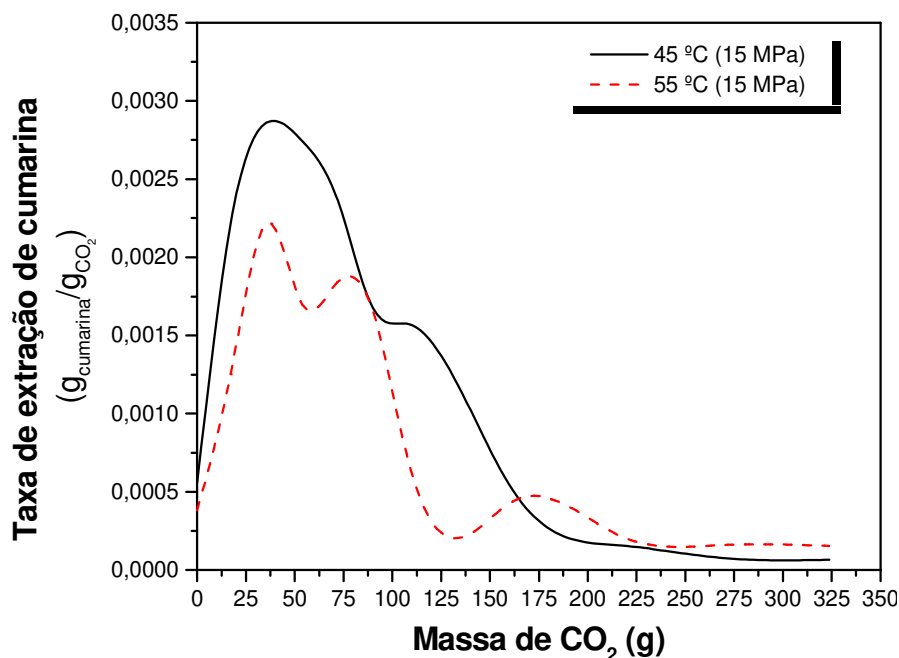


Figura 4.28 – Taxa de extração de cumarina em função da massa de CO₂, para isobáricas de extração realizadas a 45 °C e 55 °C.

Observa-se que para ambas as temperaturas há um ponto de máxima extração na mesma condição de massa de CO₂ (aproximadamente em 37,5 g), que indica máxima extração da cumarina. Para a isoterma de 55 °C, após o ponto de máxima extração há a ocorrência de um segundo pico de extração de cumarina em aproximadamente 75 g de CO₂, inexistente na isoterma de 45 °C ou sobreposta pelo pico principal. Esta diferença indica que a hipótese de mudança de seletividade com a temperatura é válida para as extrações realizadas, pois com o aumento da temperatura, outras substâncias presentes na emburana são solubilizadas mais facilmente. Com isto há a melhor difusão da cumarina para a fase supercrítica, aumentando desta forma a taxa de extração de cumarina novamente. Porém ao solubilizar as demais substâncias existentes, o CO₂ supercrítico perde capacidade de solubilizar maiores quantidades de cumarina, resultando em menor eficiência de extração para a temperatura de 55 °C quando comparada com a isoterma de 45 °C.

5 – CONCLUSÕES

A técnica supercrítica utilizando CO_2 como solvente é eficaz para extração da cumarina. No entanto, no estudo feito com as sementes da emburana, os resultados de extração ficaram muito aquém do esperado. Pois cerca de 10% da cumarina presente na matriz vegetal foi extraída, considerando que 12% em massa da semente é cumarina, baseado em ensaios de extração convencional. Resultando em rendimentos inferiores a 1%.

A cumarina possui uma elevada solubilidade em dióxido de carbono supercrítico em pressões acima do comportamento retrógrado, sendo capaz de solubilizar mais que 100 g de cumarina para cada quilo de solvente.

As modelagens termodinâmicas para a solubilidade utilizando-se da equação de estado de Peng-Robinson com a regra de mistura de van der Waals, descreveram satisfatoriamente o equilíbrio do sistema CO_2 supercrítico-cumarina. Sendo que nas simulações, a consideração do equilíbrio líquido-fluido supercrítico apresentou melhor ajuste aos dados experimentais de solubilidade, quando comparado com a consideração do equilíbrio sólido-fluido supercrítico. Baseado nestes resultados e nas observações experimentais permite levantar a hipótese de que há abaixamento do ponto de fusão da cumarina com o aumento da pressão. Esta característica do sistema poderá ser mais bem explorada em trabalhos futuros, inclusive a consideração de um equilíbrio trifásico correndo dentro do extator.

Desta forma, chega-se a conclusão, que a utilização de um co-solvente apolar, como por exemplo, o etano, poderia ser utilizado, na tentativa de melhorar a seletividade, e conseqüentemente, o rendimento na extração. Um item que poderá ser explorado em trabalhos futuros.

Os experimentos de extrações convencionais resultaram em rendimentos de extração de cumarina da semente da emburana semelhantes aos já reportados na literatura, em torno de 12%.

A dificuldade experimental encontrada ao se trabalhar com a cumarina pura, aliada a dificuldade técnica em se analisar os extratos das extrações supercríticas, limitaram muito a quantidade de dados reportados neste trabalho, e devem ser apontados como fatores limitantes deste estudo.

6 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AZEVEDO, A. B. A.; “*Extração e fracionamento da gordura de cupuaçu das sementes com solventes supercríticos*”. Campinas: Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, Tese (Mestrado), 2001.
- BROGLE, H. “*CO₂ as a solvent: it properties and applications*”. Chemistry and Industry, v. 19, p.385-394, 1982.
- BRUNETTI, M.L.; DAGHETTA, A.; ZANDERIGHI, A.; “*Tecnologie di Estrazione con Fluidi Supercritici*”; Industrie Alimentari; luglio-Agosto; p. 593-603, 1985.
- CARDOSO, C. A. L., VILEGAS, W., BARISON, A., HONDA, N. K., “*Simultaneous determination of furanocoumarins in infusions and decoctions from carapiá (Dorstenia Species) by high-performance liquid chromatography*”, Agricultural and food chemistry, vol 50, p. 1465-1469, 2002.
- CELEGHINI, R. M. S., “*Extração e análise cromatográfica (HPLC) de cumarinas em plantas medicinais brasileiras*”, Tese de doutorado, Instituto de Química, Universidade de São Paulo, 1997.
- CELEGHINI, R. M. S., VILEGAS, J. H. Y., VILEGAS, F. M., “*Extraction and Quantitative HPLC Analysis of Coumarin in Hidroalcoholic Extracts of Mikania glomerata Spreng (“guaco”) Leaves*”, J. Braz. Chem. Soc., vol 12, nº6, pg. 706-709, 2001.
- CHIMOWITZ, E. H., KELLEY, F. D., MUNOZ, F. M., “*Analysis of retrograde behavior and the cross-over effect in supercritical fluids*”, Fluid Phase Equilibria, Vol. 44, No. 1, pg.23-52, 1988.
- CHOI, Y. H., KIM, J., NOH, M. J., CHOI, E. S., YOO, K.P., “*Effect of Functional Groups on the Solubilities of Coumarin Derivatives in Supercritical Carbon Dioxide*”, Chromatographia, vol. 47, nº1/2, January, 1998.
- COHEN, A. J., “*Critical review of the toxicology of coumarin with special reference to interspecies differences in metabolism and hepatotoxic response and their significance to man.*”, Food and Chemical Toxicology, vol. 17, p. 277-289, 1979.
- CYGNAROWICZ-PROVOST, M., O’BIEN, D. J., MAXWELL, R. J. e HAMPSON, J. W., “*Supercritical fluid extraction of fungal lipids using mixed solvents: experiment and modeling*”, J. Supercrit. Fluids, vol 5, pg 24-30, 1992.
- DHARMARATNE, H. R. W., SAJEEVANI, J. R. D. M., MARASINGHE, G. S. P., EKANAYAKE, E. M. H. G. S., “*DISTRIBUTION OF PYRANOCOUMARINS IN*

- CALOPHYLLUM CORDATO-OBLONGUM”, *Phytochemistry*, vol 49, nº 4, pg 995-998, 1998.
- DEGARMO, O. e RAIZMAN P., “*Coumarin*”, Encyclopedia of Chemical Technology, ed. R. E. Kirkand D. F. Othmer, 2ª edn, vol. 12, p. 425-433. John Wiley & Sons, New York, 1967.
- DEITERS, U., SCHNEIDER, G. M., “*Fluid mixtures at high pressures. Computer calculations of the phase equilibria and the critical phenomena in fluid binary mixtures from the Redlich–Kwong equation of state*”. *Phys. Chem.*, 80, pg. 1316-1321, 1976.
- EGAN, D., O’KENNED, Y. R., MORAN, E., COX, D., PROSSER, E. e THORNES, R. D., “*The pharmacology, metabolism, analysis, and applications of coumarin and coumarin-related compounds*.” *Drug Metabolism Reviews*, vol. 22, p.503-529, 1990.
- FENTEM, J. H. e FRY J. R., “*Metabolism of coumarin by rat, gerbil and human liver microsomes*.”, *Xenobiotica*, vol. 22, p. 357-367, 1992.
- GAMSE, T.; MARR, R. “*Use of supercritical fluids for different process including new developments – a review*”, *Chemical Engineering and Processing*, v. 39, pp. 19-28, 2000.
- GAMSE, T.; MARR, R. “*Currente Trends in Supercritical Fluid Technologies*”, 15th International Congress of Chemical and Process Engng, Praga, Rep. Theca, 2002.
- GEANKOPLIS, C.J. “*Transport processes and unit operations*”, Prentice Hall, Englewood Cliffs, 1993.
- HAWLEY, G., “ *The Condensed Chemical Dictionary*”, p.241. Van Nostrand Reinhold, New York, 1971.
- HIGGINS, N.P., PEEBLES, C.L., SUGINO, A., COZZARELLI, N.R., “*Purification of subunits of Escherichia coli DNA gyrase and reconstitution of enzymatic activity*.”, *Proceeding Academic Science*, vol. 75 (4), p.1773–1777, 1978.
- KASHMAN, Y., GUSTAFSON, K. R., FULLER, R. W., CARDELLINA, J. H., MCMAHON, J. B, CURRENS, M. J., BUCKHEIT, Jr. R. W., HUGHES, S., CRAGG, G. M., BOYD, M. R., *Journal of Medicinal Chemistry*. Vol. 35, pg 2735, 1992.
- KOPCAK, U., “*Extração de cafeína das sementes da planta do guaraná com dióxido de carbono supercrítico e co-solventes*”, Campinas: Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, Tese (Mestrado), 2003.

- LANÇAS, F. M., VILEGAS, J. H. Y., VASCONCELOS, E. C., CELEGHINI, R. M. S., "Novas aplicações de sistemas SFE "home made". Plantas medicinais brasileiras.", *Ciência e Tecnologia de alimentos*, vol. 17, n. 4, 1997.
- LACK, E. A., "Kriterien zur Auslegung von Anlagen für die Hochdruckextraktion von Naturstoffen", Ph.D. thesis, TU Graz, 1985.
- LAKE, B. G., "Coumarin metabolism, toxicity, and Carcinogenicity: Relevance for Human Risk Assessment", *Food and Chemical Toxicology*, vol 37, p. 423-453, 1999.
- LEAL, L. K. A. M., FERREIRA, A.A.G., BEZERRA, G.A., MATOS, F.J.A., VIANA, G.S.B., "Antinociceptive, anti-inflammatory and bronchodilator activities of Brazilian medicinal plants containing coumarin: a comparative study", *Journal of Ethnopharmacology*, vol 70, p. 151-150, 2000.
- LEE, A. K. K., BULLEY, N.R., FATTORI, M. e MEISEN, A., "Modelling of supercritical carbon dioxide extraction of canola oilseed in fixed beds", *J. Am. Oil Chem. Soc.*, vol63, pg. 921-925, 1986.
- LEITE, M. G. R. ,SILVA, M. A. M., LINO, C.S., VIANA, G. S. B., MATOS, F. J. A., "Atividade broncodilatadora em *Mikania glomerata*, *Justicia pectoralis* e *Torresea cearencis*", *Congresso Brasileiro de Plantas Medicinais*, Curitiba, 1992, *Anais. Curitiba*, Universidade Federal do Paraná, pg. 21, 1992.
- LUBAMBO, V.,
<http://umbuzeiro.cnip.org.br/fotoweb/Preview.fwx?position=11&folderid=5000&search=Amburana&sorting=modifytime>, versão: 30/03/2004.
- LYDERSEN, A. L., "Estimation of Critical Properties of Organic Compounds by the Method of Group Contributions", University of Wisconsin, Chemical Engineering Department, Eng. Exp. Stn. rept. 3, Abril, 1955.
- LYMAN, W.J., REEHL, W.F., ROSENBLATT, D.H., "Handbook of chemical properties estimation methods", American Chemical Society, 1990.
- MAIA, G. N.,
<http://umbuzeiro.cnip.org.br/fotoweb/Preview.fwx?position=4&folderid=5000&search=Amburana&sorting=modifytime>, versão: 30/03/2004.
- MCHUGH, M.A. and KRUKONIS, V. J., "Supercritical Fluid Extraction: Principles and Practice", Butterworths Publishers; Boston; MA, p. 69-78, 1994.
- MICHAELI, D., MOLAVI, A., MIRELMAN, D., HANOCH, A., WEIN-STEIN, L., "Mode of action of coumermycin A: com-parisons with novobiocin", *Antimicrobians Agents Chemotherapy*, vol. 10, p. 95–99, 1970.
- MODELL, M., e TESTER, J., W., "Thermodynamics and its applications", 3ª Ed., Prentice Hall, 1996.

- MOHAMED, R. S.; HOLDER, G. D., *High pressure phase behavior in systems containing CO₂ and heavier compounds with similar vapor pressures*, Fluid Phase Equilibria, v. 32, 295-317, 1987
- NEVES, G. B. M., “*Remoção do colesterol e fracionamento do óleo de manteiga com dióxido de carbono supercrítico.*” Campinas: Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, Tese (Mestrado), 1996.
- NILSSON, W. B.; HUDSON, J. K., *Solubility of simple and mixed triacylglycerols in supercritical CO₂*. JAOCS, v. 70, nº 8, p 749-754, 1993.
- OCHOCKA, R. J., RAJZER, D., KOWALSKI, P., LAMPARCZYK, H., “*Determination of coumarins from Chrysanthemum segetum L. by capillary electrophoresis*”, Journal of chromatography, vol 709, p. 197-202, 1995.
- OPDYKE, D. L. J., “*Monographs on fragrance raw materials: coumarin.*”, Food and Cosmetics Toxicology, vol. 12, p.385-388, 1974.
- PAYA, M., HALLIWEL, B., HOULT, J.R., “*Interactions of a series of coumarins with reactive oxygen species: scavenging of superoxide, hypochlorous acid and hydroxyl radicals.*”, Biochemical Pharmacology, vol. 44 (2), p. 205–214, 1992.
- PEKHOV, A. V. e GONCHARENKO, G. K., “*Ekstrakcija prjanogo syrja szhizhennymi gazami*”, Maslozhirovaja promyshlennost', vol 34, nº10, pg 26-29, 1968.
- PEREIRA, B. M. R., GONÇALVES, L. C., PEREIRA, N. A., “*Abordagem farmacológica de plantas recomendadas pela medicina folclórica como antiofídicas III. Atividade antidermatogênica*”, Congresso Brasileiro de Plantas Medicinais, Curitiba, 1992, Anais. Curitiba, Universidade Federal do Paraná, pg. 1, 1992.
- PERRY, J.H., GREEN, D.W., “*Perry's chemical engineers'handbook*”, McGraw-Hill, New York, 1997.
- RECASENS, F., ABAROUDI, K., TRABELSI, F., CALLOUD-GABRIEL, B., “*Mas transport enhancement in modified supercritical fluid*”, Ind. Che., Res., vol. 38, pag.3505-3518, 1999.
- RHODIASCENT COUMARIN, “*Updates on antidumping and toxicology work*”, Rhodia, 2004.
- SALDAÑA, M. D. A.; MAZZAFERA, P. e MOHAMED, R. S., “*Extração dos alcalóides: cafeína e trigonelina dos grãos de café com CO₂ supercrítico.*”, Ciência e Tecnologia de Alimentos, vol. 17(4), p. 371-376, 1997.
- SALDAÑA, M. D., “*A. extração de cafeína, trigonelina e ácido clorogênico de café com CO₂ supercrítico.*”, M.Sc. thesis, UNICAMP, Campinas, Brazil, 1997.

- SALDAÑA, M. D. A., "*Extração de alcalóides de produtos naturais com fluidos supercríticos*", Exame de qualificação de Doutorado, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, Brazil, 1998.
- SOCANTAYPE, F. V. H., "*Remoção de colesterol e fracionamento de óleo de manteiga com etano supercrítico.*" Campinas: Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, Tese (Mestrado), 1996.
- SOVOVÁ, H. "*Rate of the vegetable oil extraction with supercritical CO₂: I.- Modeling of extraction curves*", Chemical Engineering Science, v. 49, p. 409, 1994.
- SOVOVÁ, H. "*Evaluation of extraction curves obtained by supercritical fluid extraction from plant materials*", 15th International Congress of Chemical and Process Engng, Praga, Rep. Theca, 2002.
- TAYLOR, L. T., "*Supercritical fluid extraction*", ed. John Wiley e sons, p.34-35, 1996.
- THORNES, D., DALY, L., LYNCH, G., BROWNE, H., TANNER, A., KEANE, F., O'LOUGHLIN, S., CORRIGAN, T., DALY, P., EDWARDS, G., BRESLIN, B., BROWNE HY, SHINE, M., LENNON, F., HANLEY, J., McMURRAY, N., GAFFNEY, E., "*Prevention of early recurrence of high risk malignant melanoma by coumarin*", European Journal of Surgical Oncology, v. 15, p. 431-435, 1989.
- ZHOU, Q., WINTERSTEEN, C. L., CADWALLADER, K. R., "*Identification and Quantification of Aroma-Active Components that Contribute to the Distinct Malty Flavor of Buckwheat Honey*", Journal of Agricultural and food chemistry, vol 50, pg. 2016/2021, 2002.

ANEXO 1

Contribuições de grupo pelo método de Lydersen (1955).

Grupo	ΔT_c	ΔP_c
-CH ₃	0,0200	0,2270
>CH ₂	0,0200	0,2270
>CH ₂ (anel)	0,0130	0,1840
>CH-	0,0120	0,2100
>CH- (anel)	0,0120	0,1920
=CH-	0,0180	0,1980
=CH ₂	0,0180	0,1980
=CH- (anel)	0,0110	0,1540
>C<	0,0000	0,2100
>C< (anel)	-0,0070	0,1540
=C<	0,0000	0,1980
=C< (anel)	0,0110	0,1540
=C=	0,0000	0,1980
=C= (anel)	0,0110	0,1540
$\equiv \text{C} -$	0,0050	0,1530
$\equiv \text{CH}$	0,0143	0,1530
-F	0,0180	0,2240
-Cl	0,0170	0,3200
-Br	0,0100	0,5000
-I	0,0120	0,8300
-O- (não aromático)	0,0210	0,1600
-O- (anel)	0,0140	0,1200
-OH (álcool))	0,0820	0,0600
-OH (fenol)	0,0350	-0,0200
>C=O (não aromático)	0,0400	0,2900
>C=O (anel)	0,0330	0,2000
O=CH- (aldeído)	0,0480	0,3300
-COO- (éster)	0,0470	0,4700
-COOH (ácido)	0,0850	0,4000
-NH ₂	0,0310	0,0950
>NH (não aromático)	0,0310	0,1350
>NH (anel)	0,0240	0,0900
>N- (não aromático)	0,0140	0,1700

Grupo	ΔT_c	ΔP_c
$>N-$ (anel)	0,0070	0,1300
$-CN$	0,0600	0,3600
$-S-$ (não aromático)	0,0150	0,2700
$S-$ (anel)	0,0080	0,2400
$=O$ (except above)	0,0200	0,1200
$-NO_2$	0,0550	0,4200
$=S$	0,0030	0,2400
$>S<$	0,0300	0,5400
$>B-$	0,0300	0,0000

ANEXO 2

Propriedades termodinâmicas da cumarina utilizados na modelagem termodinâmica do sistema CO₂ supercrítico-cumarina.

Pressão de vapor a 35 °C = $8,2061 \cdot 10^{-7}$ bar

Pressão de vapor a 45 °C = $2,5365 \cdot 10^{-6}$ bar

Pressão de vapor a 55 °C = $7,2157 \cdot 10^{-6}$ bar

$T_b = 298^\circ\text{C} = 571,15 \text{ K}$

$T_{\text{pho/b}} = T/T_b = 0,5395$ (35°C)

$T_{\text{pho/b}} = T/T_b = 0,5570$ (45°C)

$T_{\text{pho/b}} = T/T_b = 0,5745$ (55°C)

$m = 0,8$

Tabela 1 – Parâmetros de interação em função da temperatura e do sistema termodinâmico considerado

Sistema	Temperatura		
	35 °C	45 °C	55 °C
Sólido – Fluido	-0,1324	-0,1306	-0,1304
Líquido-Fluido	0,1310	0,1221	0,1116

Tabela 2 – Solubilidade de cumarina em CO₂ supercrítico calculada em função da temperatura, pressão e sistema termodinâmico considerado.

Pressão (MPa)	Sistema	Temperatura		
		35°C	45°C	55°C
11,03	Sólido – Fluido	0,007820	0,002597	0,0005453
	Líquido – Fluido	0,01068	0,007161	0,002814
15,17	Sólido – Fluido	0,0162104	0,0154578	0,011877
	Líquido – Fluido	0,01487	0,01564	0,01390
20,00	Sólido – Fluido	0,023015	0,026064	0,0296674
	Líquido – Fluido	0,01775	0,02179	0,02473
24,13	Sólido – Fluido	--	0,03235	--
	Líquido – Fluido	--	0,02560	--

Observação: considerando para o sistema líquido – fluido, a fase líquida com concentração entre 0,35 a 0,45 de cumarina

ANEXO 3

EXTRAÇÕES CONVENCIONAIS

Tabela 1 - Extração de cumarina utilizando 50 mg de casca da semente da emburana e 50 mL de álcool absoluto como solvente extrator.

Tempo (s)	Massa de Cumarina (mg)
5	0,13489
10	0,1895
15	0,22526
20	0,23368
25	0,25112
30	0,26357
35	0,28433
40	0,30689

Tabela 2 - Extração utilizando 50 mL e 100 mL de hexano P.A. e 50 mg de sementes moídas (diâmetro entre 355 μm a 500 μm).

Tempo (s)	Massa de Cumarina (mg)	
	50 mL	100 mL
0	0	0
30	6,45556	6
60	6,275	6,15
90	6,675	6,55
120	6,05833	6,85

Tabela 3 - Comparação entre as extrações convencionais utilizando etanol absoluto e hexano como solvente. Utilizou-se 50 mg de sementes moídas (diâmetro entre 300 μm e 500 μm) e 50 mL de solvente

Etanol absoluto		Hexano	
Tempo (s)	Massa de Cumarina (mg)	Tempo (s)	Massa de Cumarina (mg)
10	0,49825	30	6,46667
20	3,21267	60	6,225
30	4,7866	90	6,625
40	5,07542	120	6,375
50	4,79491		
60	4,77664		
70	4,68952		

CURVA DE CALIBRAÇÃO DO HPLC

$$y = 3554,9x \quad R^2 = 0,9963$$

Extrações com hexano

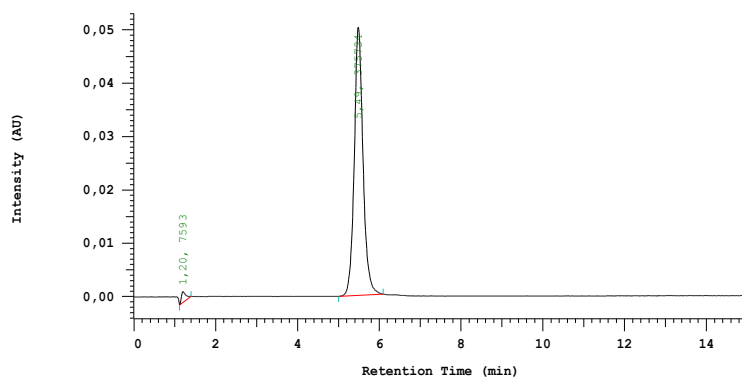


Figura 1 – Cromatograma de extração convencional da cumarina utilizando 50 mL de hexano P.A. como solvente. Tempo de extração: 30 min

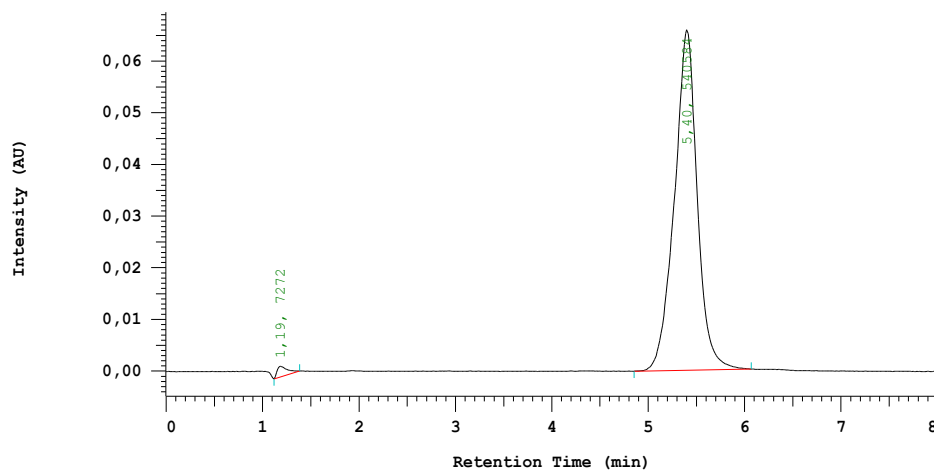


Figura 2 – Cromatograma de extração convencional da cumarina utilizando 50 mL de hexano P.A. como solvente. Tempo de extração: 30 min

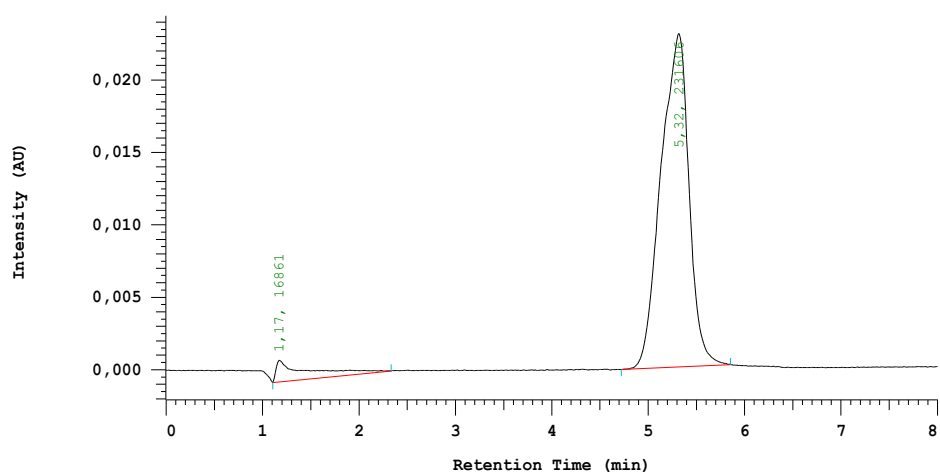


Figura 3 – Cromatograma de extração convencional da cumarina utilizando 100 mL de hexano P.A. como solvente. Tempo de extração: 30 min

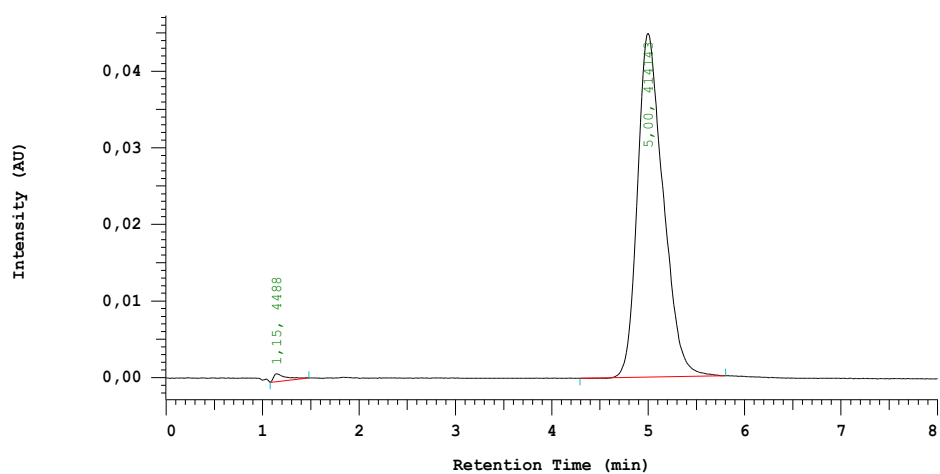


Figura 4 – Cromatograma de extração convencional da cumarina utilizando 50 mL de hexano P.A. como solvente. Tempo de extração: 60 min

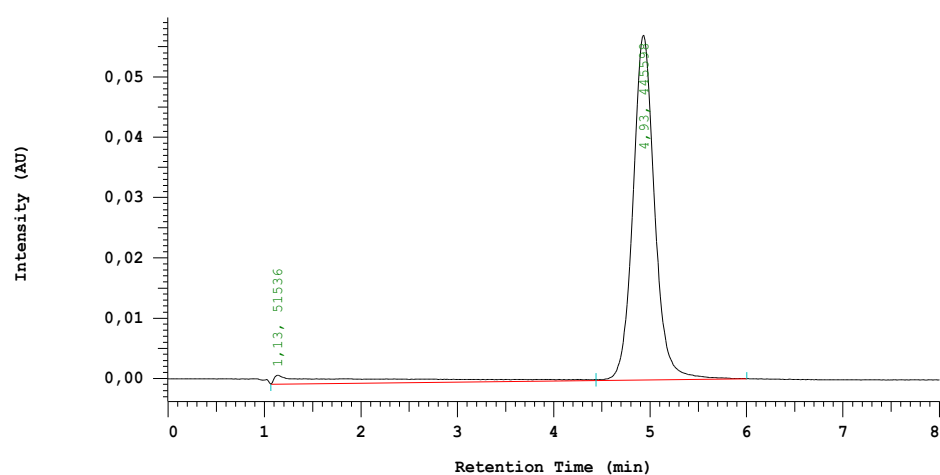


Figura 5 – Cromatograma de extração convencional da cumarina utilizando 50 mL de hexano P.A. como solvente. Tempo de extração: 60 min

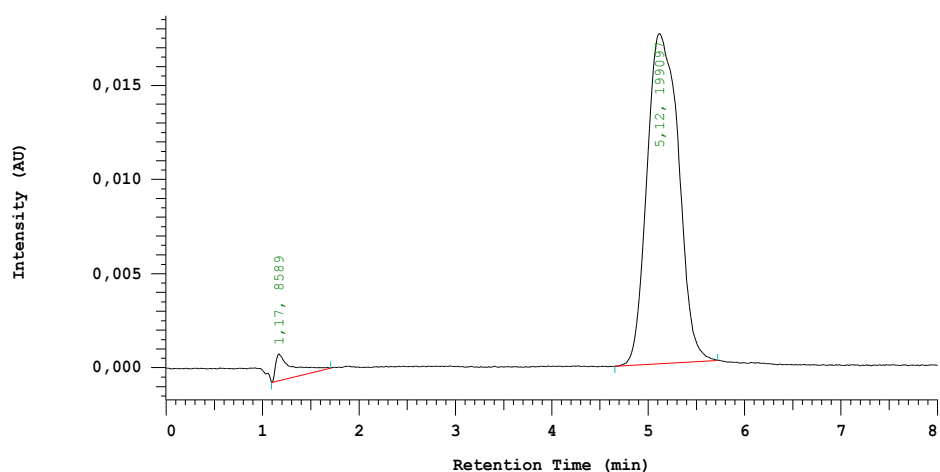


Figura 6 – Cromatograma de extração convencional da cumarina utilizando 100 mL de hexano P.A. como solvente. Tempo de extração: 60 min

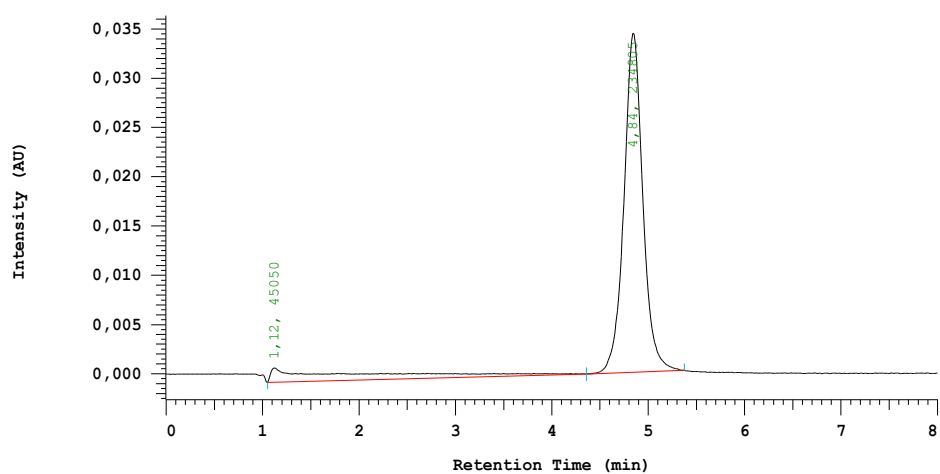


Figura 7 – Cromatograma de extração convencional da cumarina utilizando 100 mL de hexano P.A. como solvente. Tempo de extração: 60 min

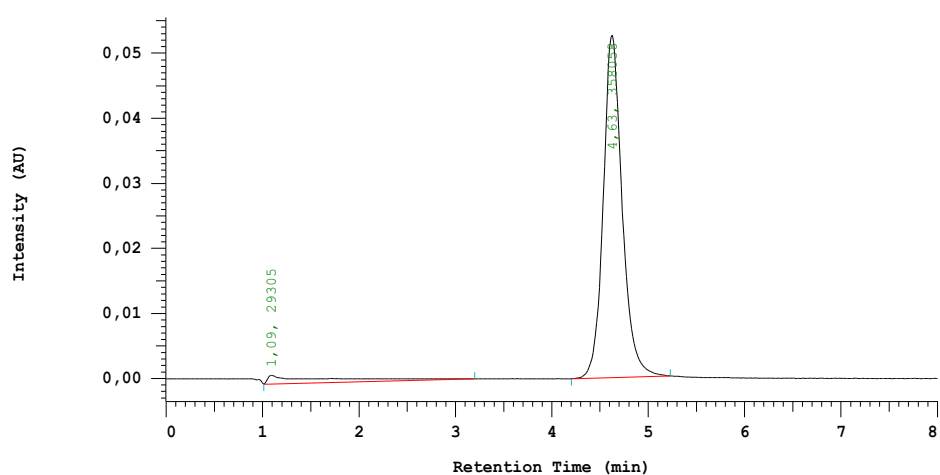


Figura 8 – Cromatograma de extração convencional da cumarina utilizando 50 mL de hexano P.A. como solvente. Tempo de extração: 90 min

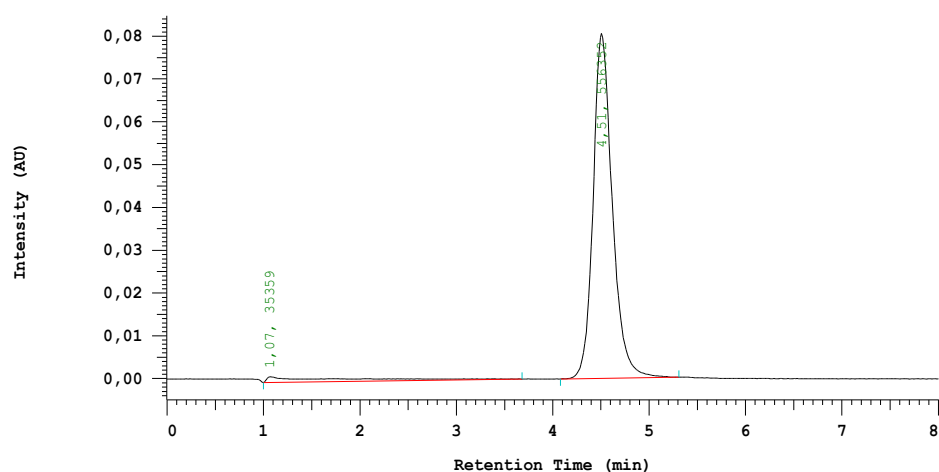


Figura 9 – Cromatograma de extração convencional da cumarina utilizando 50 mL de hexano P.A. como solvente. Tempo de extração: 90 min

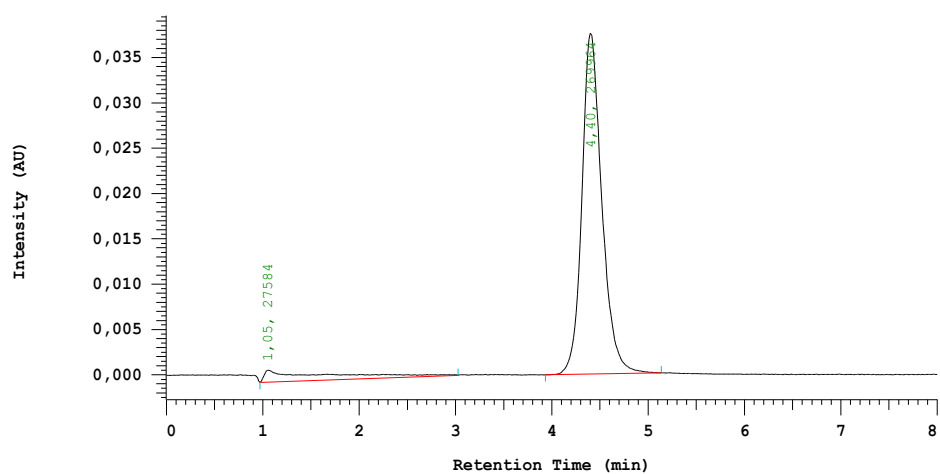


Figura 10 – Cromatograma de extração convencional da cumarina utilizando 100 mL de hexano P.A. como solvente. Tempo de extração: 90 min

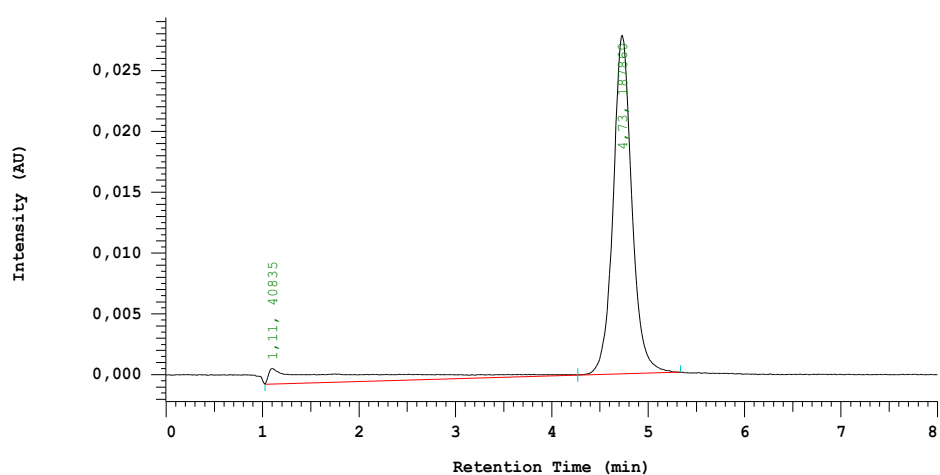


Figura 11 – Cromatograma de extração convencional da cumarina utilizando 100 mL de hexano P.A. como solvente. Tempo de extração: 90 min

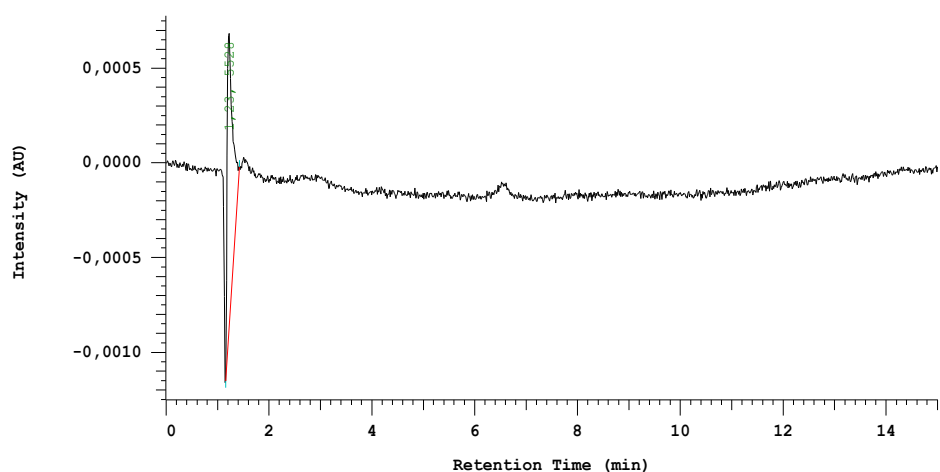


Figura 12 – Cromatograma de extração convencional da cumarina utilizando 100 mL de hexano P.A. como solvente. Tempo de extração: 90 min

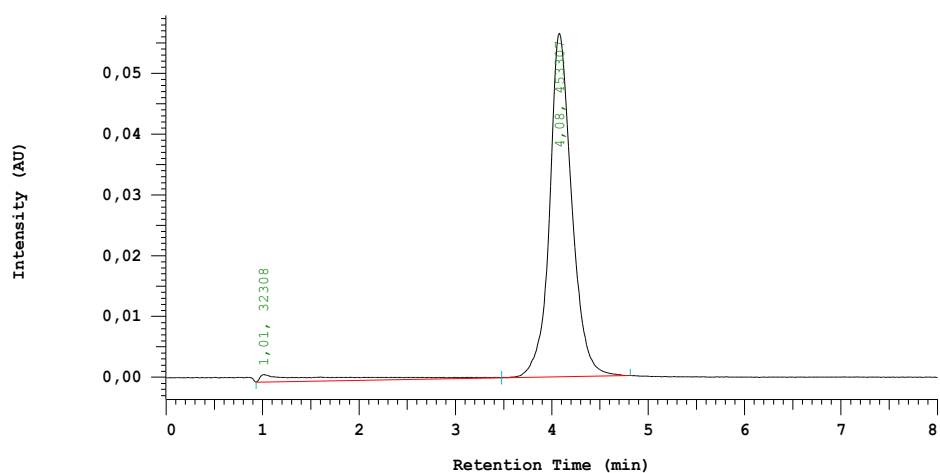


Figura 13 – Cromatograma de extração convencional da cumarina utilizando 50 mL de hexano P.A. como solvente. Tempo de extração: 120 min.

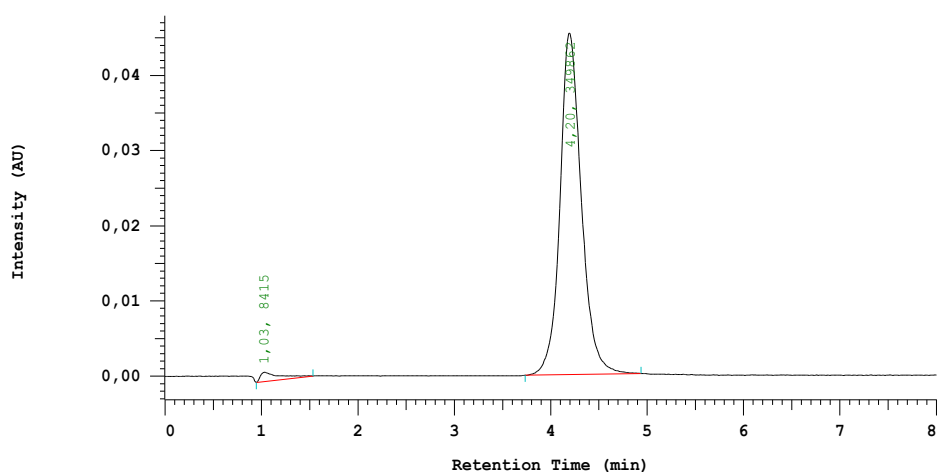


Figura 14 – Cromatograma de extração convencional da cumarina utilizando 50 mL de hexano P.A. como solvente. Tempo de extração: 120 min.

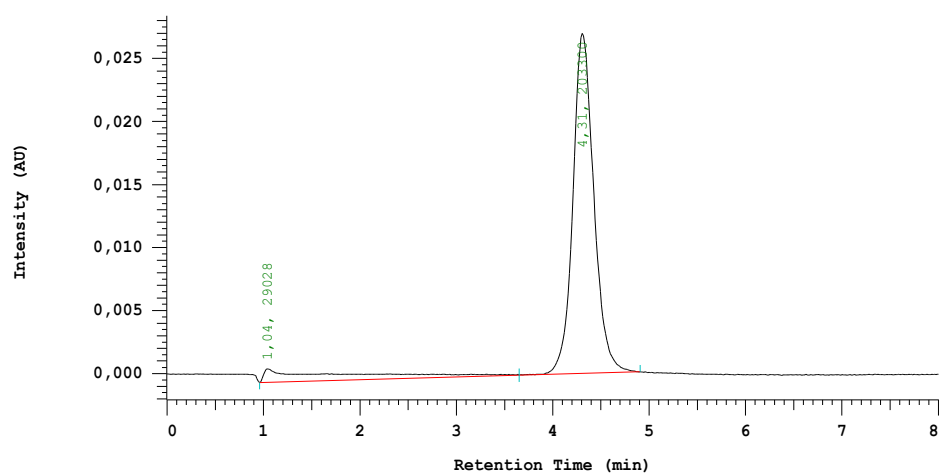


Figura 15 – Cromatograma de extração convencional da cumarina utilizando 100 mL de hexano P.A. como solvente. Tempo de extração: 120 min.

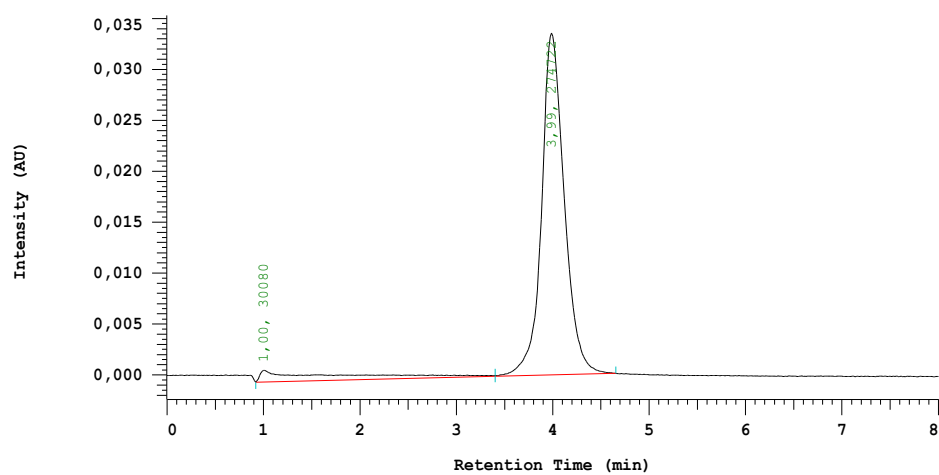


Figura 16 – Cromatograma de extração convencional da cumarina utilizando 100 mL de hexano P.A. como solvente. Tempo de extração: 120 min.

Extrações com álcool etílico absoluto

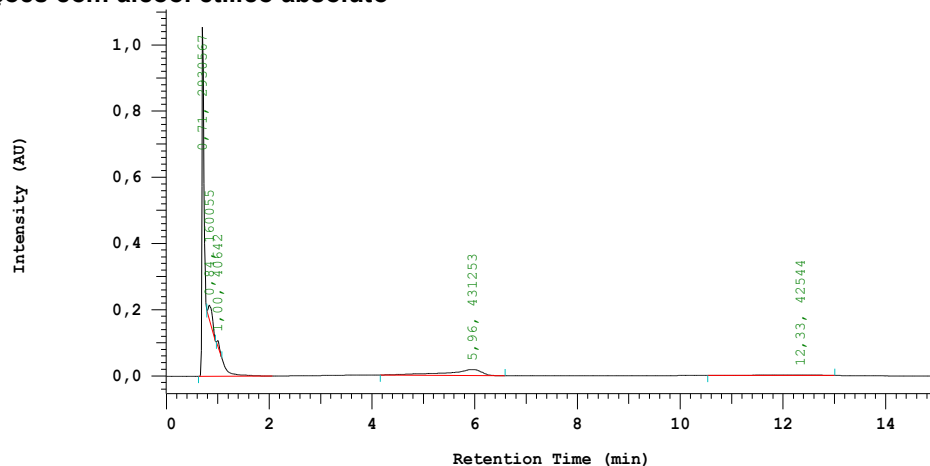


Figura 17 – Cromatograma de extração convencional da cumarina utilizando 50 mL de etanol P.A. como solvente. Tempo de extração: 20 min.

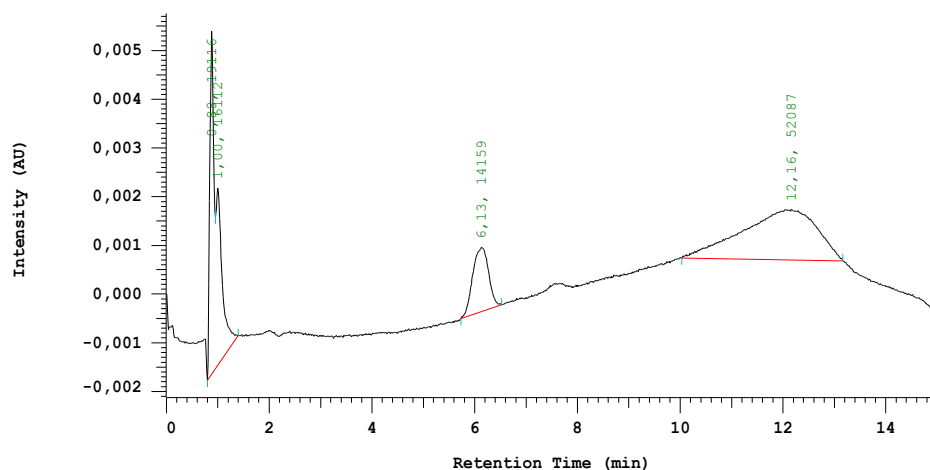


Figura 17 – Cromatograma de extração convencional da cumarina utilizando 50 mL de etanol P.A. como solvente. Tempo de extração: 20 min.

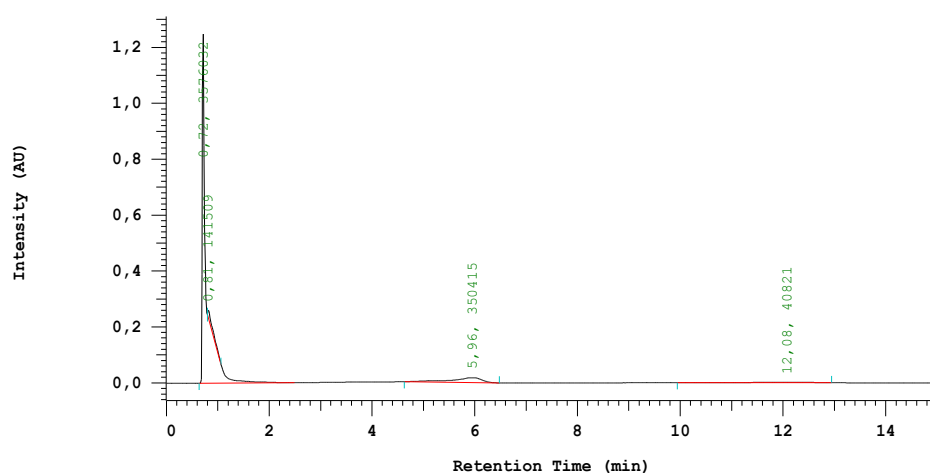


Figura 17 – Cromatograma de extração convencional da cumarina utilizando 50 mL de etanol P.A. como solvente. Tempo de extração: 30 min.

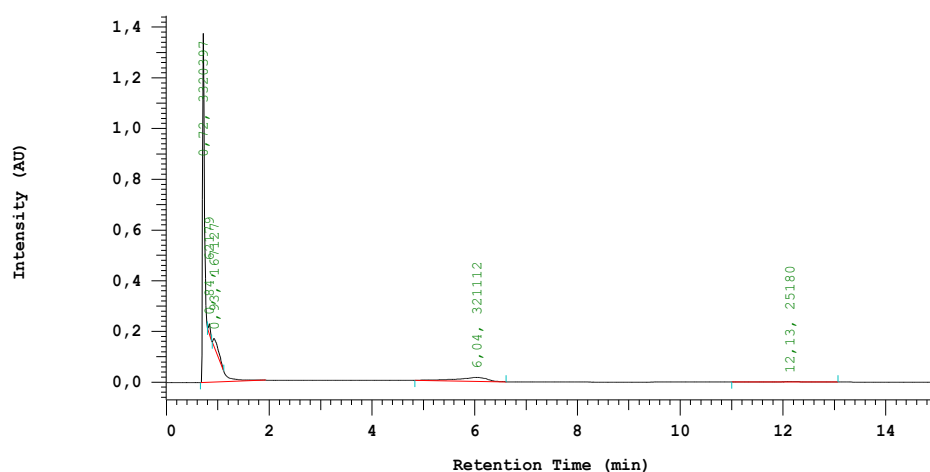


Figura 17 – Cromatograma de extração convencional da cumarina utilizando 50 mL de etanol P.A. como solvente. Tempo de extração: 30 min.

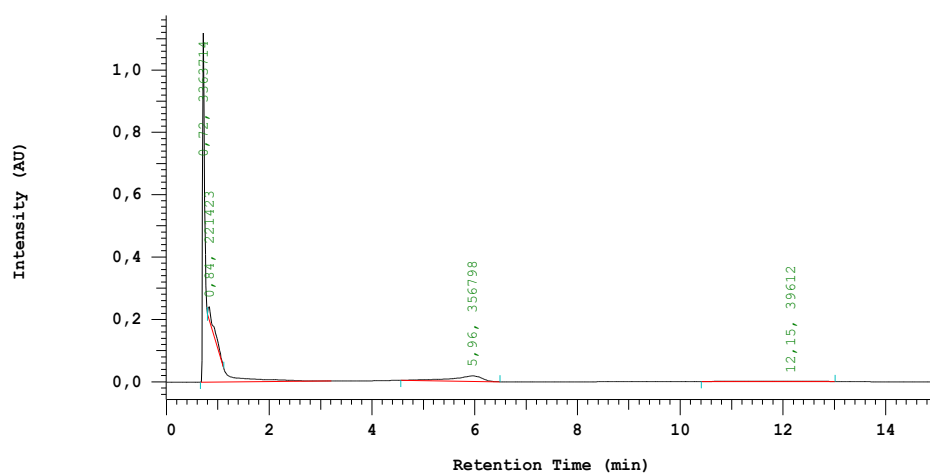


Figura 17 – Cromatograma de extração convencional da cumarina utilizando 50 mL de etanol P.A. como solvente. Tempo de extração: 40 min.

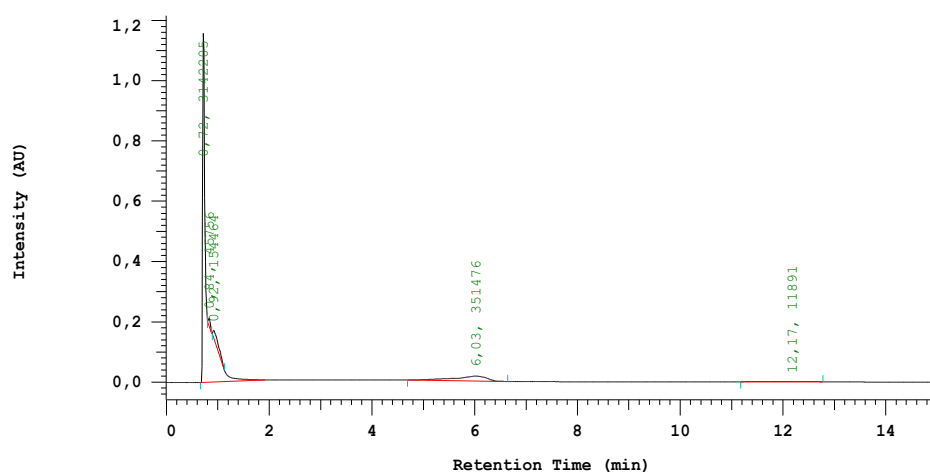


Figura 17 – Cromatograma de extração convencional da cumarina utilizando 50 mL de etanol P.A. como solvente. Tempo de extração: 40 min.

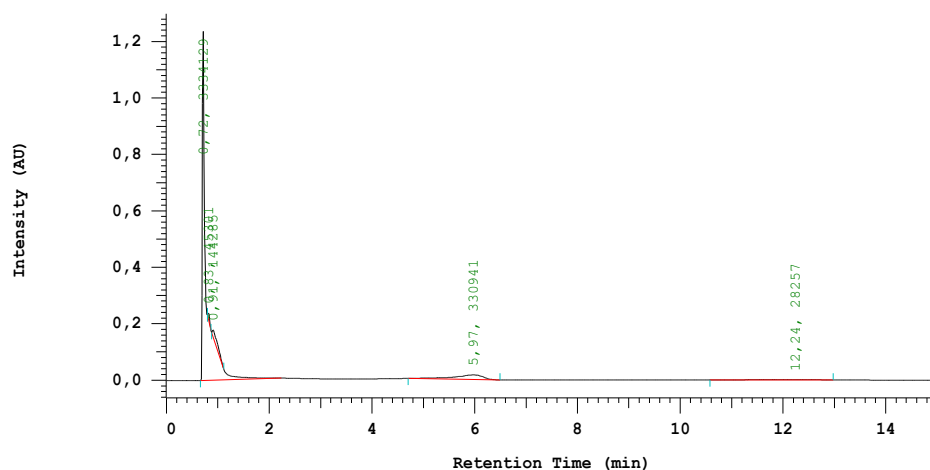


Figura 17 – Cromatograma de extração convencional da cumarina utilizando 50 mL de etanol P.A. como solvente. Tempo de extração: 50 min.

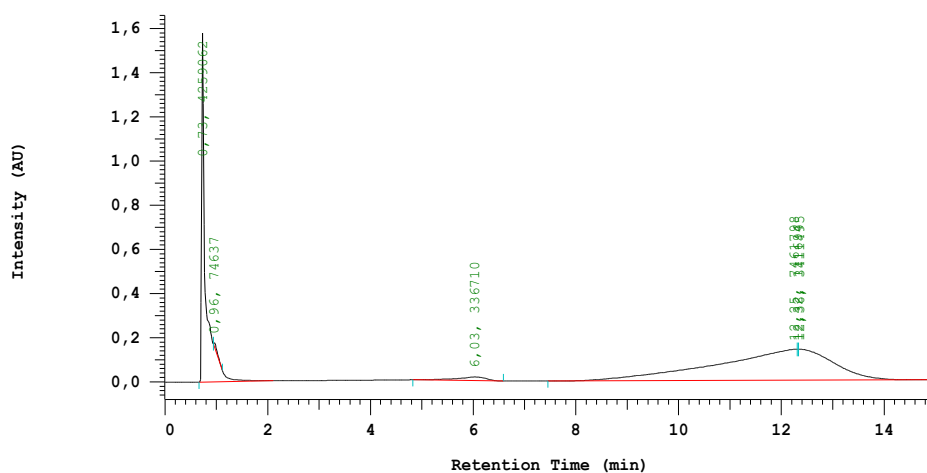


Figura 17 – Cromatograma de extração convencional da cumarina utilizando 50 mL de etanol P.A. como solvente. Tempo de extração: 50 min.

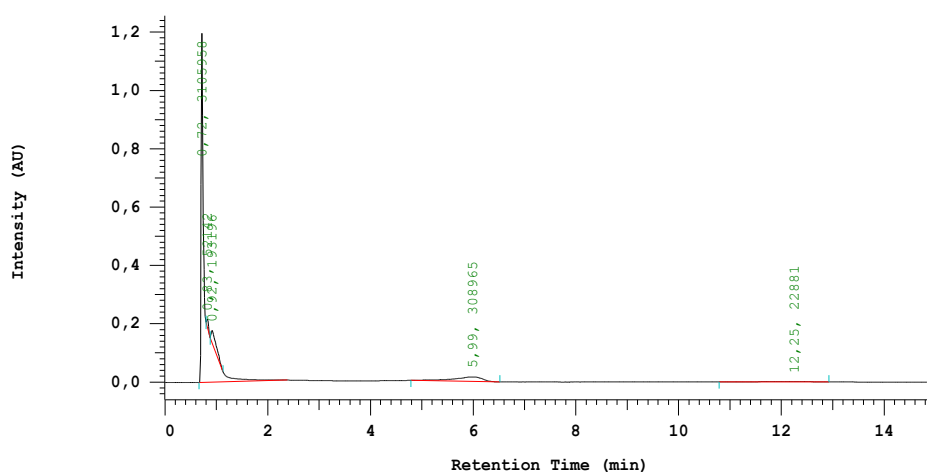


Figura 17 – Cromatograma de extração convencional da cumarina utilizando 50 mL de etanol P.A. como solvente. Tempo de extração: 60 min.

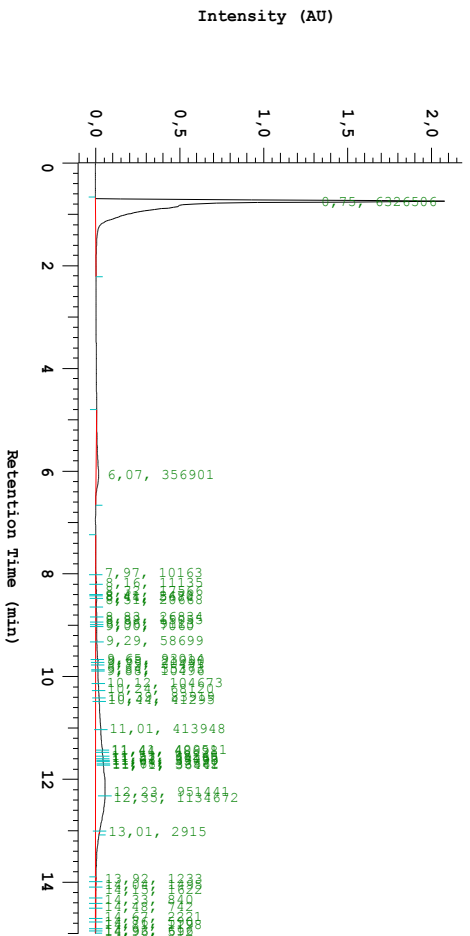


Figura 17 – Cromatograma de extração convencional da cumarina utilizando 50 mL de etanol P.A. como solvente. Tempo de extração: 60 min.

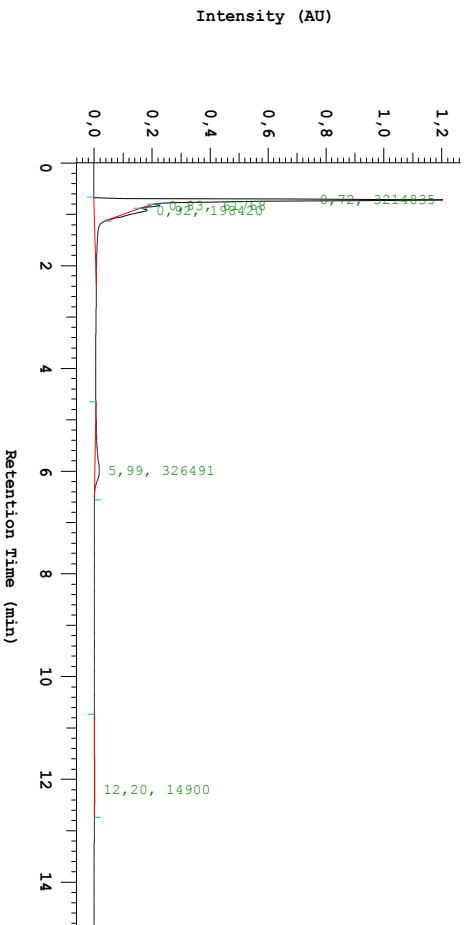


Figura 17 – Cromatograma de extração convencional da cumarina utilizando 50 mL de etanol P.A. como solvente. Tempo de extração: 70 min.

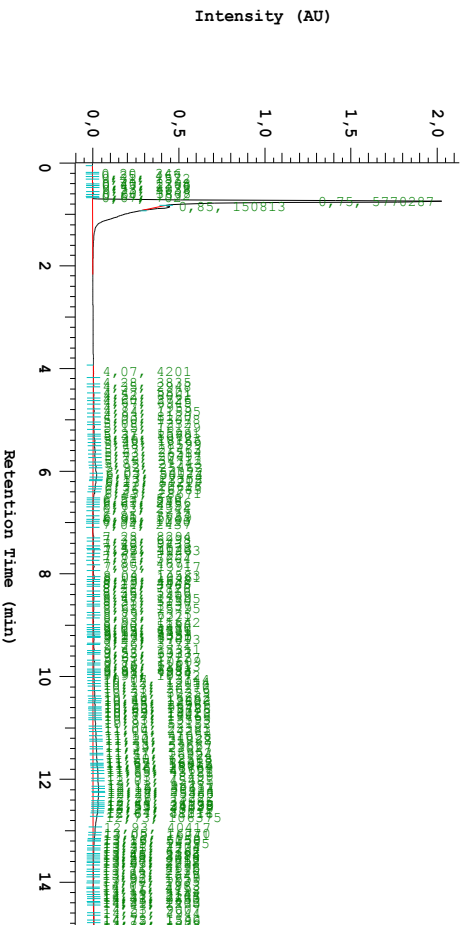


Figura 17 – Cromatograma de extração convencional da cumarina utilizando 50 mL de etanol P.A. como solvente. Tempo de extração: 70 min.

ANEXO 4

EXTRAÇÕES DA CUMARINA COM CO₂ SUPERCRÍTICO

Tabela 1 - Influência do diâmetro da partícula na semente da emburana. Dados coletados a 35°C e 2200 psi. Vazão de solvente de 0,4 L/min.

Massa de CO ₂ (kg)	Massa de Cumarina (g)				
	300 μm	600 μm	800 μm	Semente Inteira	Semente sem casca
17,995	0,01433	0,01744	0,01288	7,13E-04	0,00103
35,989	0,03195	0,01775	0,0152	0,00105	0,00296
53,984	0,06168	0,01834	0,01584	0,00229	0,00645
71,979	0,07185	0,02046	0,0196	0,00368	0,00991
89,973	0,08079	0,02464	0,03562	0,00479	0,01223
107,97	0,08826	0,02595	0,04374	0,00558	0,01518
161,95	0,09516	0,03651	0,05409	0,00665	0,01892
215,94	0,10168	0,06075	0,08255	0,00787	0,02194
269,92	0,10455	0,0711	0,09609	0,00902	0,02414
323,9	0,10643	0,07541	0,10229	0,00979	0,02676

Tabela 2 - Extração da cumarina das sementes da emburana moídas, diâmetro de 600 μm , em diferentes condições termodinâmicas de temperatura e pressão.

Massa de CO ₂ (kg)	Massa de Cumarina (g)				
	35 °C e 2200 psi	45 °C e 2200 psi	55 °C e 2200 psi	35 °C e 3500 psi	55 °C e 3500 psi
0	0	0	0	0	0
17,995	0,01744	0,01	0,0069	0,01564	0,05104
35,989	0,01775	0,08185	0,04702	0,04915	0,09184
53,984	0,01834	0,11303	0,08682	0,07343	0,13357
71,979	0,02046	0,18049	0,10813	0,09935	0,17624
89,973	0,02464	0,1981	0,15308	0,11194	0,21081
107,97	0,02595	0,24075	0,16774	0,1312	0,23958
161,95	0,03651	0,28286	0,20035	0,1735	0,28024
215,94	0,06075	0,2951	0,21549	0,20138	0,29415
269,92	0,0711	0,29979	0,22435	0,21057	0,3011
323,9	0,07541	0,30337	0,23266	0,21663	0,30728

Cromatogramas

Escolha de diâmetro de partícula

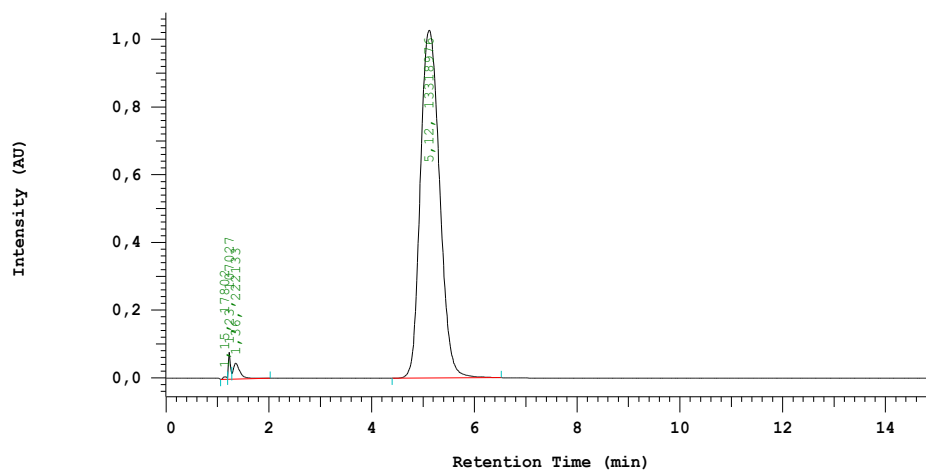


Figura 1 – Cromatograma de extração supercrítica T=35°C, 2200 psi, vazão de 0,4 L/min. 300 micras.

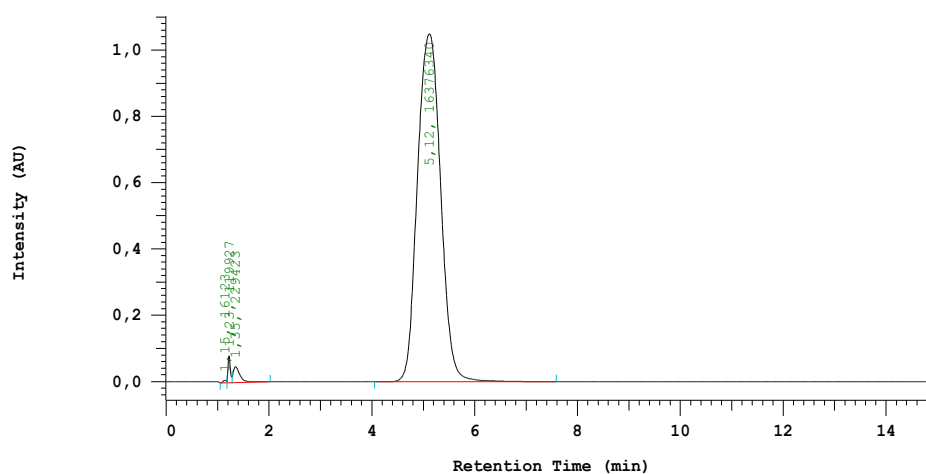


Figura 2 – Cromatograma de extração supercrítica T=35°C, 2200 psi, vazão de 0,4 L/min. 300 micras.

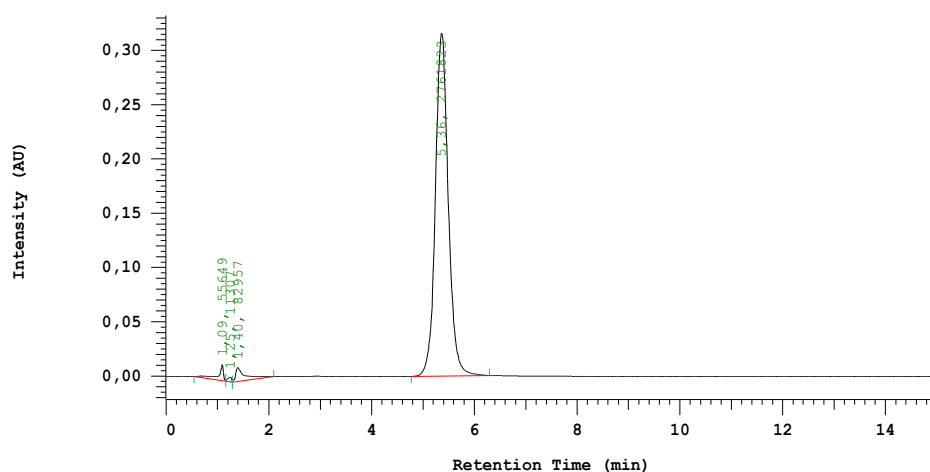


Figura 3 – Cromatograma de extração supercrítica T=35°C, 2200 psi, vazão de 0,4 L/min. 300 micras.

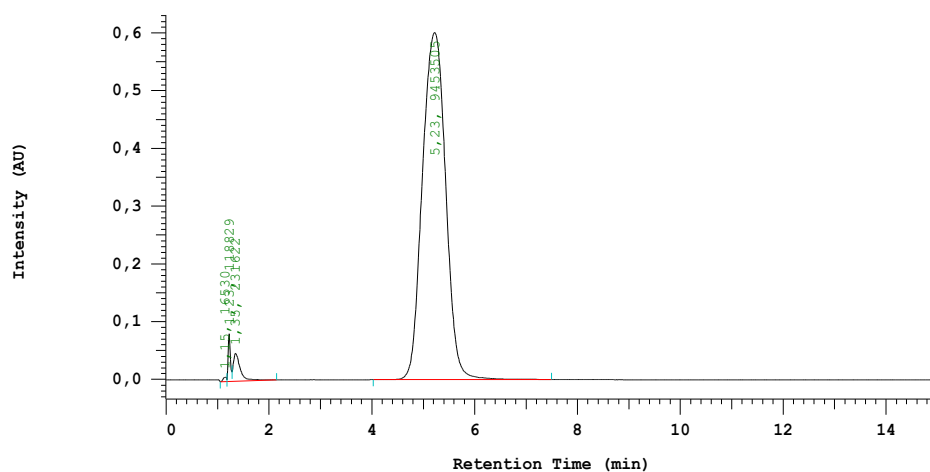
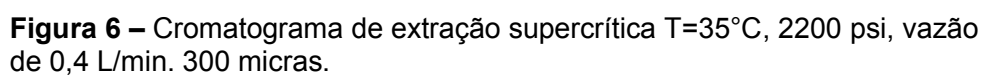
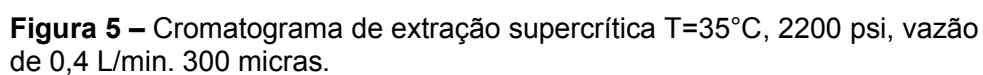


Figura 4 – Cromatograma de extração supercrítica T=35°C, 2200 psi, vazão de 0,4 L/min. 300 micras.



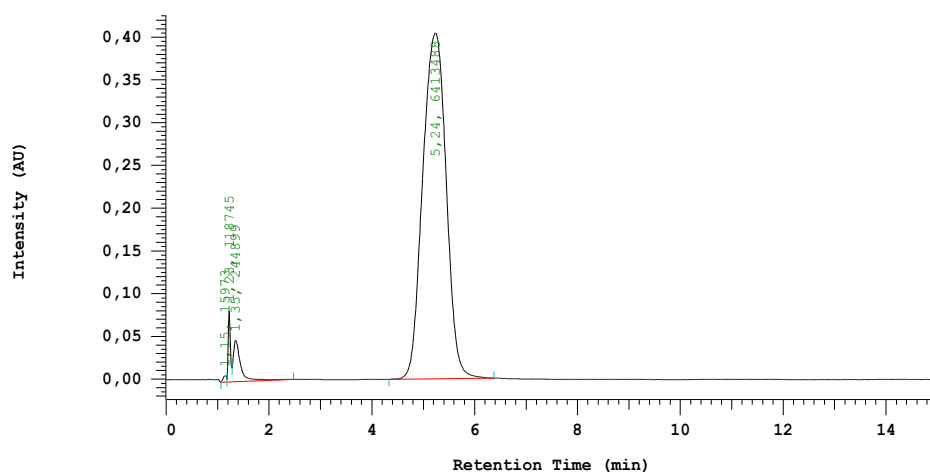


Figura 7 – Cromatograma de extração supercrítica T=35°C, 2200 psi, vazão de 0,4 L/min. 300 micras.

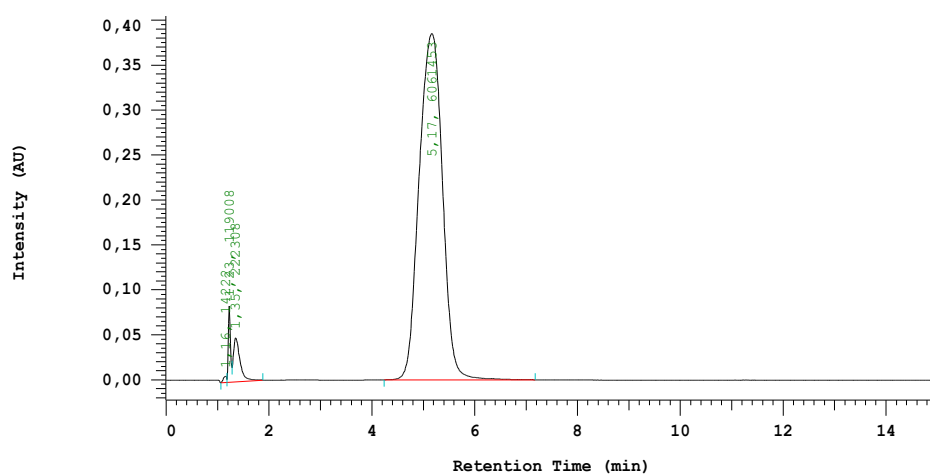


Figura 8 – Cromatograma de extração convencional da cumarina utilizando 50 mL de hexano P.A. como solvente. Tempo de extração: 90 min

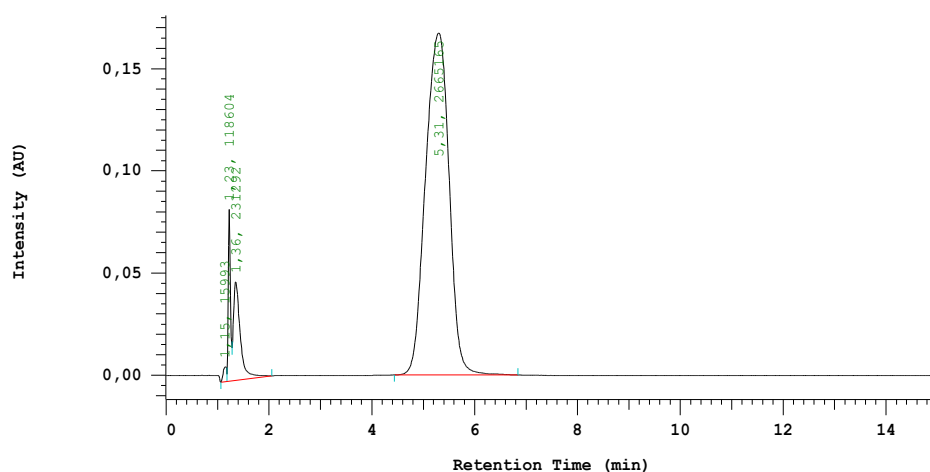


Figura 9 – Cromatograma de extração convencional da cumarina utilizando 50 mL de hexano P.A. como solvente. Tempo de extração: 90 min

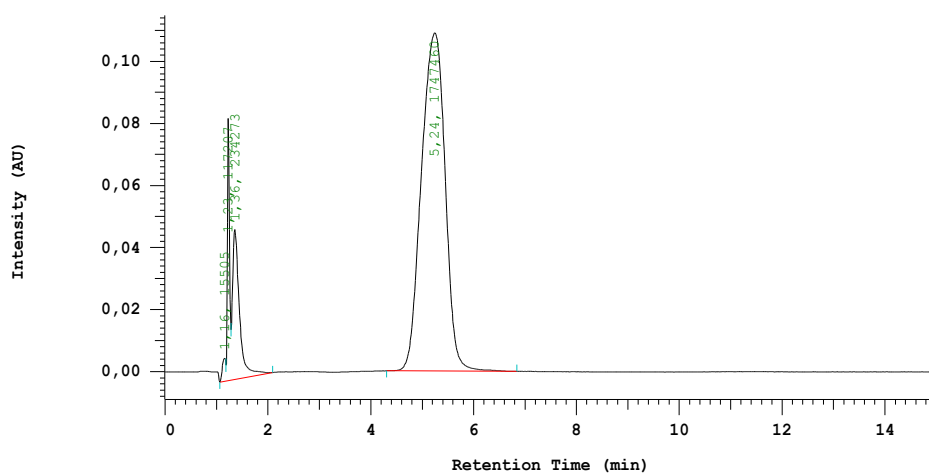


Figura 10 – Cromatograma de extração convencional da cumarina utilizando 100 mL de hexano P.A. como solvente. Tempo de extração: 90 min