



Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul

FACULDADE DE ENGENHARIA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA E TECNOLOGIA DE MATERIAIS

EXTRAÇÃO DE CROMENOS A PARTIR DE *Ageratum conyzoides* L. : IDENTIFICAÇÃO QUÍMICA E MODELAGEM MATEMÁTICA DO PROCESSO

PATRÍCIA CARVALHO ALMEIDA
QUÍMICA PURA E LICENCIATURA PLENA

**DISSERTAÇÃO PARA A OBTENÇÃO DO TÍTULO DE MESTRE EM
ENGENHARIA E TECNOLOGIA DE MATERIAIS**

Porto Alegre
Novembro, 2015



Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul

FACULDADE DE ENGENHARIA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA E TECNOLOGIA DE MATERIAIS

EXTRAÇÃO DE CROMENOS A PARTIR DE *Ageratum conyzoides* L. : IDENTIFICAÇÃO QUÍMICA E MODELAGEM MATEMÁTICA DO PROCESSO

PATRÍCIA CARVALHO ALMEIDA
QUÍMICA PURA E LICENCIATURA PLENA

ORIENTADOR: Prof. Dr. RUBEM M. VARGAS

Dissertação de Mestrado realizada no Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Tecnologia de Materiais (PGETEMA) da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre/Doutor em Engenharia e Tecnologia de Materiais.

Porto Alegre
Novembro, 2015

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

A447 Almeida, Patrícia Carvalho

Extração de cromenos a partir de *ageratum conyzoides* L. : identificação química e modelagem matemática do processo / Patrícia Carvalho Almeida – 2015.

65 fls.

Dissertação (Mestrado) – Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul / Faculdade de Engenharia / Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Tecnologia de Materiais, Porto Alegre, 2015.

Orientador: Prof. Dr. Rubem M. Vargas

1. Plantas – uso terapêutico. 2. Óleos essenciais. 3. Arraste a vapor. I. Vargas, Rubem M. II. Título.

CDD 615.321



EXTRAÇÃO DE CROMENOS A PARTIR DE AGERATUM CONYZOIDES L: IDENTIFICAÇÃO QUÍMICA E MODELAGEM

CANDIDATA: PATRÍCIA CARVALHO ALMEIDA

Esta Dissertação de Mestrado foi julgada para obtenção do título de MESTRE EM ENGENHARIA E TECNOLOGIA DE MATERIAIS e aprovada em sua forma final pelo Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Tecnologia de Materiais da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul.

Rubem Mário F. Vargas

DR. RUBEM MÁRIO FIGUEIRÓ VARGAS - ORIENTADOR

BANCA EXAMINADORA

Aline Machado Lucas

DRA. ALINE MACHADO LUCAS - DA FACULDADE DE ENGENHARIA - PUCRS

Eduardo Cassele

DR. EDUARDO CASSEL - PGETEMA - FENG - PUCRS

“A sabedoria enriquece a alma, não apenas o espírito. É diferente da mera inteligência, informação e sagacidade, que só residem na mente. A sabedoria vai mais fundo do que isso. Quando o cérebro, com sua multidão de fatos e peças de informação, deixa de existir, a alma persistirá. A sabedoria imarcescível da alma sobreviverá.”

(Laurie Cabot)

DEDICATÓRIA

Dedico essa dissertação em memória aos meus pais queridos Sueli Carvalho Almeida e Amaral Almeida.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, por ter me fortalecido e amparado nos momentos mais difíceis.

A todos colaboradores do Laboratório de Operações Unitárias da PUCRS, em especial o Alexandre Timm do Espírito Santo, o Rodrigo Scopel e a Aline Machado Lucas por me auxiliarem com toda paciência nas pesquisas realizadas.

A todos professores do PGETEMA. À professora Dr. Berenice Dedavid pela compreensão e carinho. Aos professores Dr. Rubem M. F. Vargas e Dr. Eduardo Cassel que me oportunizaram o desenvolvimento desse projeto com incentivo e amparo a minha formação profissional.

À professora da UFRGS, Gilsane Lino von Poser, e ao Dr. Francisco Maikon Corrêa de Barros pela apoio e empenho na realização deste trabalho, principalmente no que se refere à parte analítica.

A todos meus familiares em particular a Luci J. de Lima Carvalho e ao incansável amigo Ademir Voss pelo carinho e apoio constante que tornaram possível a conclusão desse trabalho.

A todas as pessoas que de alguma maneira participaram e colaboraram para conclusão desse projeto.

SUMÁRIO

DEDICATÓRIA	3
AGRADECIMENTOS	4
LISTA DE FIGURAS	7
LISTA DE TABELAS	8
LISTA DE SÍMBOLOS	9
RESUMO.....	11
ABSTRACT.....	12
1. INTRODUÇÃO	13
2. OBJETIVOS.....	15
2.1. Objetivo geral	15
2.2. Objetivos específicos.....	15
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	16
3.1. <i>Ageratum conyzoides</i> L.....	16
3.2. Óleos essenciais	18
3.3. Processos de extração	19
3.3.1. Destilação por Arraste a Vapor.....	19
3.4. Extração supercrítica.....	22
3.5. Métodos cromatográficos.....	25
3.5.1. Cromatografia em Camada Delgada.....	25
3.5.2. Cromatografia Gasosa (GC).....	26
3.5.3. Cromatografia Gasosa acoplada ao Espectrômetro de Massas (CG/EM).....	28
3.5.4. Cromatografia Líquida de alta eficiência (CLAE)	28
3.6. Modelagem matemática dos processos de extração	29
4. MATERIAIS E MÉTODOS	33
4.1. Matéria-prima.....	33
4.2. Preparação de extrato hidroalcoólico	33
4.3. Arraste a vapor	34
4.4. Extração supercrítica.....	35
4.5. Análise da composição química	37
4.5.1. Cromatografia em camada delgada.....	37

4.5.2. Cromatografia gasosa e espectrometria de massa	38
4.5.3. Isolamento e identificação de cromenos obtidos na extração supercrítica.....	38
4.6. Modelagem matemática	40
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	44
5.1. Análises preliminares por CCD	44
5.2. Extração por arraste a vapor	45
5.2.1. Análise química por CG/EM	46
5.2.2. Modelagem matemática para a extração por arraste a vapor	48
5.3. Extração supercrítica	50
5.3.2. Modelagem matemática.....	54
6. CONCLUSÃO	56
REFERÊNCIAS.....	57

LISTA DE FIGURAS

Figura 3.1. Anel heterocíclicopirano	16
Figura 3.2. Estruturas moleculares de precoceno I e II	17
Figura 3.3. Diagrama de fases destacando a região supercrítica para uma substância pura.....	24
Figura 4.4. Equipamento de destilação por arraste a vapor em escala piloto	34
Figura 4.5. Unidade piloto de extração supercrítica	35
Figura 4.6. Fluxograma esquemático do processo de extração supercrítica	36
Figura 5.7. CCD de amostras aplicadas nas placas cromatográficas para verificar a existência de cromenos.....	45
Figura 5.8. Curvas do rendimento de extrato obtido via destilação por arraste a vapor de <i>ageratum conyzoides</i>	49
Figura 5.9. Análise via HPLC do extrato obtido por extração supercrítica (40°C, 90 bar) de <i>a. Conyzoides</i>	52
Figura 5.10. Curvas do rendimento de extrato obtido por extração supercrítica de <i>ageratum conyzoides</i> para pressões de + p=90 bar, ◆ p=120 bar; ● p=150 bar e ■ p=200 bar.....	55

LISTA DE TABELAS

- Tabela 5.1. Resultados da destilação por arraste a vapor executada em diferentes pressões em termos da massa de óleo obtida como função do tempo de extração .46
- Tabela 5.2. Análise via (cg/ms) dos componentes do óleo essencial (%) de *a. conyzoides* obtidas por arraste a vapor em diferentes condições de pressão.47
- Tabela 5.3. Parâmetros do modelo matemático ajustados a partir dos dados experimentais para a extração por arraste a vapor.49
- Tabela 5.4. Resultado em termos de massa de extrato e rendimento para extração supercrítica conduzida a partir de aumento gradativo da pressão de forma sequencial50
- Tabela 5.5. Resultado em termos de massa de extrato e rendimento para extração supercrítica conduzida com um novo material a cada extração.51
- Tabela 5.6. Rendimentos para o extrato total e precocenos I e II a partir do procedimentos “contínuo” e em lotes para o *ageratum conyzoides* usando dióxido de carbono supercrítico.....53
- Tabela 5.7. Parâmetros do modelo matemático ajustados a partir dos dados experimentais para a extração com CO₂ supercrítico de *A. conyzoides*55

LISTA DE SÍMBOLOS

D_{mi}	Coeficiente de difusão da espécie m através da espécie i	m^2/s
c_i	Concentração molar da espécie química i	$kgmol/m^3$
t	Tempo	S
y	Concentração adimensional do soluto no fluido	kg/kg de solvente
Y^+	Concentração adimensional de equilíbrio do soluto no fluido em contato com a superfície das partículas	kg/kg de solvente
t_r	Tempo de residência	S
t_i	Tempo característico da transferência de massa na fase sólida	S
t_f	Tempo característico da transferência de massa no fluido	S
t_1	Tempo que separa a extração em termos de retirada de soluto de fácil acesso e de difícil acesso	S
x_o	Concentração adimensional inicial do soluto no sólido	kg/kg de sólido insolúvel
e	Rendimento da extração	kg de extrato/ kg de sólido insolúvel
x_μ	Rendimento assintótico	Kg de soluto/ kg de sólido insolúvel
y_{sat}	Solubilidade adimensional	
q'	Fluxo do solvente por unidade de material insolúvel	1/s
Θ_f	Relação adimensional entre t_f e t_r	

ρ_f	Massa específica do fluido	
ρ_s	Massa específica do sólido	
ε	Porosidade do leito	
γ	Razão entre a massa de solvente e a massa de material sólido	
k_f	Coefficiente de transferência de massa no fluido	m/s
a_0	Área específica	m ² /m ³

RESUMO

ALMEIDA, Patrícia Carvalho. **EXTRAÇÃO DE CROMENOS A PARTIR DE *Ageratum conyzoides* L: IDENTIFICAÇÃO QUÍMICA E MODELAGEM MATEMÁTICA DO PROCESSO.** Porto Alegre. 2015. Dissertação. Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Tecnologia de Materiais, PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO RIO GRANDE DO SUL.

Extratos obtidos a partir de produtos naturais têm atraído o interesse do setor farmacológico devido às propriedades químicas e biológicas. Portanto, neste trabalho foram estudados os processos de extração de cromenos (precoceno I e II), destilação a vapor e extração com fluido supercrítico (SFE), a partir de *Ageratum conyzoides* L. O óleo essencial foi extraído por vapor saturado a 1,0, 1,5, e 2,0 bar e as extrações com fluido supercrítico foram realizadas a 40°C e 90, 120, 150, e 200 bar para obter extratos não voláteis. Os óleos essenciais foram analisados por cromatografia gasosa e espectroscopia de massa, enquanto que a composição dos não-voláteis extratos foi determinada por cromatografia líquida de alta eficiência. O óleo essencial apresentou dois compostos principais, precoceno I ($28,24 \pm 2,64\%$) e precoceno II ($28,55 \pm 2,08\%$). A 90 bar, a SFE resultou em maior rendimento e seletividade para os precoceno I e II, que representaram 65,06% do extrato. Observou-se que o rendimento de cromenos varia de acordo com a pressão da SFE, no entanto, isto não foi observado nos extratos obtidos por meio de destilação a vapor. Um modelo matemático também foi usado para simular os processos e uma boa correlação foi obtida com os dados experimentais.

Palavras-Chave: Cromenos. *Ageratum conyzoides*. Extração com fluido supercrítico. Arraste a vapor.

ABSTRACT

ALMEIDA, Patrícia Carvalho. **CHROMENES EXTRACTION FROM *Ageratum conyzoides*: CHEMICAL ANALYSIS AND PROCESS MATHEMATICAL MODELING**. Porto Alegre. 2015. Dissertação. Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Tecnologia de Materiais, PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO RIO GRANDE DO SUL.

Extracts obtained from natural products have attracted the interest of pharmacological sector due to the chemical and biological properties. Therefore, in this work were studied the chromenes (precocene I and II) extraction processes, steam distillation and supercritical fluid extraction (SFE), from *Ageratum conyzoides* L. Essential oil was extracted by saturated steam at 1.0, 1.5, and 2.0 bar and the supercritical fluid extractions were performed at 40°C and 90, 120, 150, and 200 bar to obtain non-volatile extracts. The essential oils were analyzed by gas chromatography/mass spectroscopy while the non-volatile extracts composition was determined by high-performance liquid chromatography. The essential oil presented two major compounds, precocene I ($28.24 \pm 2.64\%$) and precocene II ($28.55 \pm 2.08\%$). At 90 bar, the SFE resulted in higher yield and selectivity for precocene I and II, which represent 65.06% of extract. It was observed that the yield of chromenes varies according to pressure of SFE, however this behavior was not observed in the extracts obtained by steam distillation. A mathematical model was also used to simulate the processes and a good correlation was attained with the experimental data.

Keywords: Chromenes. *Ageratum conyzoides*. Supercritical fluid extraction. Steam distillation.

1. INTRODUÇÃO

Desde os primórdios a humanidade buscou o uso de vegetais com finalidade terapêutica. As plantas descobertas ao longo dos tempos foram utilizadas com suas propriedades curativas como uma alternativa de grande potencial utilizando produtos de fontes naturais. Assim, ao longo dos anos, houve um desenvolvimento da pesquisa científica na identificação ou aplicação de compostos de origem vegetal. Dentre eles o *Ageratum conyzoides* vem sendo estudado, devido às suas diversas espécies com princípios medicinais aplicados à pesquisa e à cura, estimulando cada vez mais o interesse por ele.

Ageratum Conyzoides é uma planta tropical comum na África Ocidental, algumas partes da Ásia, América do Sul e América Central. *Agera* deriva do grego “a geras”, que significa não-envelhecimento, referindo-se a longevidade da planta inteira, e de “konyz”, nome grego de *Inula helenium*, a qual a planta se assemelha (OKUNADE, 2002). *A. conyzoides* tem usos medicinais tradicionais em muitos países. É considerada uma erva anual comum em algumas regiões do Brasil, especialmente de serras. Tem odor peculiar, tendo nome popular de mentrasto, maria-preta, picão-branco; picão-roxo, erva-de-são-joão, erva-de-são-josé, erva-de-santa-lúcia (LORENZI; MATOS, 2008; OKUNADE, 2002).

São atribuídos alguns preceitos de superstição considerados mágicos devido à sua seiva, podendo citar alguns exemplos como na Costa do Marfim é utilizada na Seita da Serpente contra picada de cobra; na parte ocidental da Nigéria, é usada em encantamentos para acalmar bruxas e matar “maus remédios” com a força de seu cheiro. No Congo, a seiva da folha é passada nas mãos de jogadores, por acreditarem trazer sorte (BURKILL, 1985; OKUNADE, 2002).

Ageratum conyzoides pertence à família *Asteraceae*. O gênero *Ageratum* possui aproximadamente 30 espécies, mas somente poucas têm sido estudadas fitoquimicamente (OKUNADE, 2002). A planta possui aproximadamente 1 m de altura com caules e folhas recobertos de pêlos brancos, sendo que as folhas são opostas, longo-pecioladas, ovoides e ásperas, com até 7,5 cm de comprimento.

Tem emprego de uso popular no tratamento de várias doenças como: dores de cabeça e dispneia, artrose, cólicas menstruais, pneumonia, analgésicos, efeitos anti-inflamatórios, anti-asmáticos, anti-espasmódico, anti-diarreico e doenças do estômago. Também é atribuído a ela propriedades antimicrobianas para muitas doenças infecciosas e infecções bacterianas, bem como para queimaduras e feridas, hanseníase e doenças da pele (LORENZI; MATOS, 2008).

No extrato da planta há compostos químicos, incluindo alcaloides, cumarinas, flavonoides, cromenos, benzofuranos, esteróis e terpenoides isolados dependendo da origem da planta. Nos extratos obtidos a partir de algumas espécies desse vegetal, foram identificadas atividades farmacológicas e inseticidas. É também atribuída a ele a presença de propriedades anti-inflamatória, antidepressiva e ansiolítica, justificando a sua ampla utilização em várias partes do mundo (OKUNADE, 2002).

Nesse trabalho, a busca será focada na extração de cromenos, substâncias que possuem atividades farmacológicas importantes, pois atuam no sistema nervoso central agindo como agente antidepressivo (ESCOBAR, 2007) e também como inseticida (BOWERS et al., 1976). Portanto, serão descritos métodos de obtenção e métodos analíticos para identificação e quantificação de cromenos presentes no *Ageratum conyzoides*. Especificamente, será extraído o óleo essencial da planta utilizando a técnica de arraste a vapor com a identificação e caracterização do extrato realizadas por CG-MS. A extração com dióxido de carbono supercrítico também será realizada e seus extratos serão analisados mediante a uso da HPLC.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

O presente trabalho tem como objetivo geral estudar os processos de destilação por arraste de vapor e extração com dióxido de carbono supercrítico para a obtenção de cromenos a partir de *Ageratum conyzoides*.

2.2. Objetivos específicos

- a) Extrair o óleo essencial da planta através da técnica de destilação por arraste a vapor, sob diferentes condições de pressão de operação;
- b) Realizar experimentos em condições variadas de pressão utilizando CO₂ supercrítico para a obtenção de extrato da planta numa mesma temperatura;
- c) Realizar análises químicas dos óleos essenciais por cromatografia em camada delgada (CCD), cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas, quantificando e identificando substâncias ativas de interesse nos extratos obtidos por arraste a vapor;
- d) Obter curvas de massa de extrato *versus* tempo, tanto pela técnica de arraste a vapor como por extração supercrítica para realizar a modelagem matemática do processo;
- e) Identificar os cromenos nos extratos obtidos tanto na extração por arraste a vapor como na extração com fluido do supercrítico fazendo uso da cromatografia gasosa (CG-EM) no caso do extrato obtido no arraste a vapor e utilizando cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) para os extratos obtidos em condição supercrítica.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. *Ageratum conyzoides* L.

O *Ageratum*, pertencente à família Asteraceae, possui aproximadamente 30 espécies, mas somente algumas delas foram objeto de estudos químicos (OKUNADE, 2002). O vegetal em estudo, *Ageratum conyzoides*, é uma planta aromática com inflorescências, de porte herbáceo, anual, com 1m de altura. Os estudos realizados com esse vegetal citam diversas atividades e efeitos sobre o enfoque de ação estudado, dentre alguns casos possui características farmacológicas no alívio de dores como analgésico, relaxantes, antibactericida e antifúngico e até alguma propriedade como antitumoral e antidepressiva. Todas essas propriedades podem ser atribuídas a substâncias presentes em seu óleo essencial, principalmente aos benzopiranos, também conhecidos como cromenos.

Cromenos ou benzopiranos compreendem um amplo conjunto de produtos naturais com uma notável química e de importância biológica. São compostos orgânicos heterocíclicos resultante da fusão de um anel de benzeno a um heterocíclicopirano, conforme figura 3.1. Existem dois isômeros de benzopirano que variam a orientação da mistura dos dois anéis, em comparação com o oxigênio, resultando em 1-benzopirano (cromeno) e 2-benzopirano (isocromeno). Diferenças isoméricas dão origem à determinação de diferentes atividades biológicas.

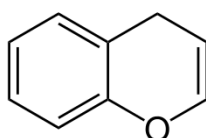


Figura 3.1. Anel heterocíclicopirano

No passado, a semelhança estrutural das 2H-1-benzopirano de canabioides levou a descoberta das suas propriedades antinociceptivas e antidepressivas. Atualmente, o núcleo benzopirano constitui um padrão molecular para drogas que atuam no sistema nervoso central (STOLZ et al., 2012). Vale ressaltar também as suas atividades antiprotozoária (HAREL et al., 2013), antimicrobiana (JARDOSH; PATEL, 2013), antiproliferativa (JARDOSH; PATEL, 2013) e sua capacidade antioxidante (MLADENOCIC et al., 2011). Tendo em vista a capacidade de interagir com alvos moleculares diferentes, os cromenos são considerados estruturas privilegiadas e altamente valiosas como modelos para a modificação ou a síntese de novas moléculas farmacologicamente ativas (HAREL et al., 2013; MLADENOCIC et al., 2011). Tais compostos ocorrem em organismos marinhos, em particular fungos e plantas da família Asteraceae.

Ageratum conyzoides L. é uma planta medicinal distribuída em muitos países tropicais e subtropicais com uma fonte abundante de 7-metoxi-2,2-dimetilcromeno (precoceno I) e derivado de 6,7-dimetoxi (precoceno II ou Ageratocromeno), figura 3.2, (AALBERSBERG et al., 1991; DE NASCIMENTO et al., 2004). Estes metabólitos são bem conhecidos pela sua atividade inseticida (CALLE et al., 1990). Esta característica além dos efeitos alelopáticos (KONG et al., 2004), também confere potencial agrícola para as espécies (OKUNADE, 2002) como pesticidas e herbicidas naturais, considerados seguros para o ambiente e a saúde humana (ALBUQUERQUE et al., 2011).

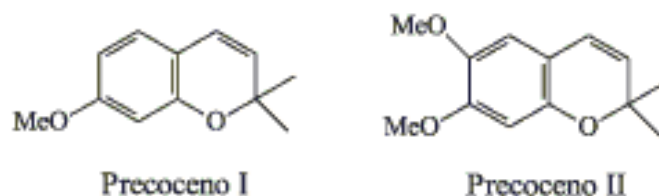


Figura 3.2. Estruturas moleculares de precoceno I e II

3.2. Óleos Essenciais

Os óleos essenciais são utilizados há muitos séculos como recurso terapêutico e têm sido obtidos de vegetais através da extração de partes da planta, tais como folhas, flores, frutas, caules, cascas ou todas as partes aéreas. Usualmente os óleos essenciais apresentam constituição complexa, contendo proporções variáveis de ésteres, éteres, álcoois, fenóis, aldeídos, cetonas, hidrocarbonetos de estrutura aromática ou terpênica. A maioria dos constituintes é de origem terpênica, encontrando-se também derivados de fenilpropanoides (POVH et al., 2001; BORSATO et al., 2008).

Os terpenos são os principais constituintes dos óleos essenciais. Formados por cinco carbonos, unidades do isopreno, dez carbonos ou compostos de três unidades do isopreno, quinze carbonos. Os demais terpenoides, triterpenos, constituídos de trinta unidades de carbono e os tetraterpenos com quarenta unidades de carbono são moléculas de elevado peso molecular, não estando presentes em óleos voláteis (BRUNETON, 1991).

Os óleos essenciais são compostos voláteis e viscosos à temperatura ambiente, menos densos que água e presentes em diversas espécies vegetais. Geralmente apresentam odor e fragrância característicos. A principal característica dos óleos essenciais é a sua fragrância, sendo ela a causa da maioria das civilizações antigas terem utilizado estes extratos voláteis para diversas finalidades.

Nos óleos essenciais de *Ageratum conyzoides*, os terpenos salineno, pineno, eugenol, cineol, felandreno, limoneno, linalol, terpineol e cariofileno, além dos benzopiranos, precocenos I e II já foram detectados (CASTRO et al., 2004; VIEIRA et al., 2012). Entre os fatores que influenciam a composição dos óleos essenciais estão os genéticos, os ambientais (temperatura, luz, solo, latitude, altitude), os fatores técnicos (época e forma de colheita, espaçamento, transporte, secagem, armazenamento) (BORSATO, 2007) e a técnica utilizada para sua extração da matriz vegetal.

3.3. Processos de Extração

O processo de extração pode ser entendido como o conjunto de etapas que envolvem modificações de composição química, ou que envolvem alterações físicas no material a ser extraído. Os processos podem ser constituídos por uma sequência de etapas muito diferentes, que têm princípios fundamentais independentes da substância que está sendo operada e de outras características do sistema. Qualquer processo pode ser decomposto numa série de etapas coordenadas entre si, sendo estas etapas operações que possuem características próprias e na engenharia química são denominadas de operações unitárias (FOUST, 1982).

Conforme informações da literatura, as operações mais utilizadas para obter extratos voláteis e não voláteis a partir de plantas aromáticas são a hidrodestilação, a extração supercrítica e a destilação por arraste a vapor. No entanto, cada método de extração é capaz de produzir um tipo diferente de extrato com composição química distinta, ainda que se utilize a mesma espécie vegetal (WOLFFENBUTTEL, 2010). De acordo com Serafini, Barros e Azevedo (2001), em laboratório, a hidrodestilação e a extração com CO₂ supercrítico concentram os estudos de extração, enquanto que em escala industrial, a destilação por arraste a vapor e a extração supercrítica dominam os processos de obtenção de óleos essenciais. Neste trabalho, serão realizados estudos sobre a obtenção de óleo essencial de *A. conyzoides*, a partir de suas partes aéreas via destilação por arraste a vapor e também por extração com dióxido de carbono supercrítico.

3.3.1. Destilação por Arraste a Vapor

A destilação por arraste a vapor consiste na separação de um soluto de sua matriz vegetal mediante o contato com o vapor de água e posterior condensação com retorno ao estado líquido a partir de uma etapa de refrigeração. Um corpo líquido, quando entra em ebulição, passa para o estado de vapor e para que isto ocorra, o corpo deverá ser submetido a um aumento de temperatura ou a uma diminuição da pressão. A concorrência simultânea destes dois fatores facilitará consideravelmente o fenômeno.

A técnica de destilação por arraste a vapor é uma das mais antigas e utilizadas nas operações de extração empregadas nos processos associados à indústria química. A destilação utilizando vapor de água é uma operação unitária baseada na diferença de volatilidade de determinados compostos presentes na matéria-prima vegetal. A indústria prefere esta técnica devido a sua maior simplicidade e economia, assim como possibilita o processamento de quantidades significativas de material vegetal de uma única vez (GUENTHER, 1976). O fato de ser mais barata quando comparada com os métodos tecnológicos mais avançados, a exemplo da extração com fluido supercrítico (CASSEL; VARGAS, 2006), também justifica a preferência do setor industrial.

Este tipo de técnica pode ser realizada através de sua implantação em escala laboratorial, piloto e industrial. É uma técnica simples e consiste em fazer circular vapor d'água por um recipiente onde contenha o material a ser processado (CASSEL; VARGAS, 2008). A passagem do vapor promove a quebra das bolsas intercelulares da planta liberando o óleo essencial, que por sua vez vaporiza e é carregado junto com o vapor d'água para o topo do recipiente para se encaminhar a próxima etapa do processo que consiste em um resfriamento rápido em um condensador. O produto desta condensação é separado em duas fases líquidas em outro recipiente, onde é possível observar a imiscibilidade do óleo com a água (STEFFENS, 2010; BARROSO, 2011).

Existem variedades de extrações de óleos essenciais de diferentes espécies de vegetais. É importante que os compostos a serem subtraídos, sejam realizados por um método que assegure o processo adequado de separação que isole o óleo para aquele tipo de planta. Embora pareça relativamente simples isolar tais óleos, a composição do óleo pode variar em grande parte dependendo do método da extração usado. As vantagens e as desvantagens de alguns métodos foram discutidas por Scheffer (1993) e Cassel e Vargas (2006).

A destilação por arraste a vapor é um processo tradicional na obtenção dos óleos essenciais, a partir das folhas e caules de plantas aromáticas. Consiste na vaporização a temperaturas inferiores às temperaturas de ebulição de cada um dos

componentes voláteis por efeito de uma corrente direta de vapor de água. Os vapores provenientes da caldeira passam pelo material vegetal depositado no extrator, constituindo um leito fixo por onde o solvente, no caso o vapor, trafega para posteriormente ser resfriado no condensador, onde ocorre a liquefação e finalmente a separação do óleo da água líquida em um decantador, conhecido como vaso florentino. A acomodação do material vegetal no extrator deve ser feita de modo que o contato do vapor com a planta seja suficiente para que a transferência de massa ocorra de forma satisfatória.

Os processos tradicionais de extração, como o de arraste a vapor, apresentam alguns inconvenientes e limitações. No caso da destilação por arraste a vapor, os constituintes dos óleos essenciais podem sofrer degradação térmica ou então hidrólise, o que pode alterar a composição do extrato, conseqüentemente afetar na reprodução das fragrâncias características das plantas aromáticas. No caso dos processos com extração por solvente orgânico, a limitação está relacionada ao uso de solventes tóxicos, já que os óleos essenciais são utilizados em alimentos e em produtos farmacêuticos e cosméticos. Além disso, os processos de remoção de solvente, após a extração dos óleos essenciais, geram custos energéticos ao processo, assim como existe uma forte possibilidade de perder os compostos voláteis. Também, na maioria das vezes, é impossível a remoção completa dos solventes (BANDONI, 2000). Outro fato a ser considerado, é que com o uso do solvente orgânico, ocorre também a extração de compostos mais pesados junto com os óleos essenciais.

Comparando os dois tipos de processos de obtenção de óleos essenciais, destilação por arraste de vapor e extração com solventes, pode-se observar que a destilação apresenta *vantagens* em relação à extração com solventes orgânicos: o vapor de água é muito econômico em comparação aos custos dos solventes orgânicos, assegura que o óleo essencial não seja reaquecido, não requer etapas adicionais para remover o solvente.

A duração da operação de destilação pode ser determinada de acordo com fatores técnicos e (ou) econômicos. Os aspectos técnicos estão relacionados à composição do óleo essencial que é função do tempo de extração. Se a extração for

rápida, o produto apresentará uma maior concentração de compostos voláteis, porém destituído das características aromáticas da planta original. Se a extração for prolongada, o custo do óleo essencial será mais elevado em função do consumo de energia (CASSEL; SERAFINI, 2001).

3.4. Extração supercrítica

Extração com fluido supercrítico é uma técnica usada em processos de separação de produtos naturais no qual, muitas vezes, é utilizado solvente atóxico (não tóxico) como dióxido de carbono, CO₂. O fluido supercrítico tem alta difusão e baixa viscosidade quando comparado ao fluido no estado líquido.

A extração com fluido supercrítico pode ser definida como a solubilização de determinados compostos de uma matriz sólida ou líquida em um solvente nas condições supercríticas. Conforme Cassel, Vargas e Bedinot (2007), a extração supercrítica é um processo de separação que vem sendo muito utilizado nas extrações de compostos ativos presentes em plantas, visto que o solvente universal utilizado, dióxido de carbono, apresenta inúmeras vantagens em relação aos solventes orgânicos tradicionais usados em processos de extração, sendo que sua não toxicidade é uma propriedade fundamental quando se trata de produtos naturais.

O fluido supercrítico é qualquer substância que se encontra acima da temperatura e da pressão crítica. Não existem fluidos supercríticos na natureza. As substâncias são levadas a este estado pela variação de pressão e/ou temperatura.

Quando comparados aos métodos tradicionais de extração e separação, verifica-se que o processo em questão apresenta características importantes (SERAFINI; BARROS; AZEVEDO, 2001). Dentre essas se tem:

- a) o elevado potencial de solubilização de compostos orgânicos de médios e elevados pesos moleculares em fluidos supercríticos, quando comparada à solubilidade dos mesmos em fluidos na fase vapor;

- b) as baixas temperaturas críticas de determinados solventes supercríticos, que permitem a extração de produtos termolábeis, sem que ocorra a alteração nas propriedades dos compostos extraídos;
- c) a eficiência energética do processo;
- d) a facilidade de separação solvente/extrato.

Grosso et al. (2010) comentam no seu trabalho que para se realizar um processo de extração supercrítica (EFS) é necessário que se conheçam as características da matéria-prima: a concentração inicial do soluto na matriz vegetal, a composição da mistura do soluto, a umidade e os pré-tratamento da matéria-prima, como secagem e moagem. Os parâmetros de processo são os seguintes: pressão, temperatura, vazão do solvente e os dados da fase fluida em equilíbrio.

Na literatura, há informações de que a extração supercrítica é uma tecnologia que exige um alto custo do investimento inicial em comparação com os equipamentos clássicos característicos de processos que operam em baixas pressões. No entanto, Perrut (2000) apresenta uma correlação entre um índice de preços, vazão de fluido supercrítico e volume total de produto para unidades de laboratório, piloto e industrial, mostrando que a amortização do capital decresce quando a capacidade da planta cresce. Isto incentivaria a construção de plantas multipropósito, mas há a limitação da imposição da qualidade e normas principalmente no caso de fármacos. A limpeza da planta entre um e outro processamento não deve ser subestimada na estimação do custo. A manutenção deve ser feita de forma preventiva, pois em função dos equipamentos de alta pressão é necessária a inspeção periódica para eliminação de perigos inerentes à operação. Em contrapartida, o custo de operação é baixo, pois o item que mais contribui é a mão de obra, que depende das condições locais e da duração do processo, se esse ocorrer em batelada.

Os fluidos supercríticos apresentam vantagens segundo o potencial de solubilização de compostos orgânicos de médios e elevados pesos moleculares em relação aos processos tradicionais de extração, baixas temperaturas críticas de determinados solventes supercríticos, que permitem a extração de produtos

termolábeis, sem que ocorra a alteração nas propriedades dos compostos extraídos e a facilidade de separação entre solvente e extrato (TAYLOR, 1996).

Para que uma substância atinja o estado supercrítico é necessário exercer uma pressão muito grande sobre um fluido e manejar a sua temperatura para que ela atinja a condição superior à condição de temperatura para o ponto crítico da substância. No caso do dióxido de carbono os valores de temperatura e pressão para o ponto crítico são 304,19 K ou 31,04°C e 72,9 bar, respectivamente (TAYLOR, 1996). O estado supercrítico é um estado intermediário entre as fases líquida e gasosa, apresentando propriedades combinadas destas duas fases e visualmente se apresenta como uma névoa. A Figura 3.3 apresenta o diagrama de fases para uma substância hipotética onde a região associada ao estado supercrítico pode ser identificada.

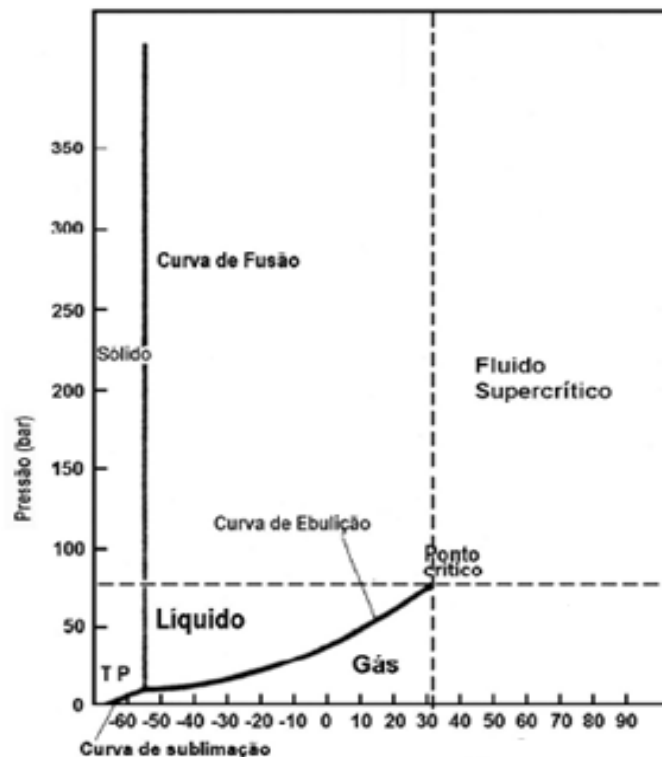


Figura 3.3. Diagrama de fases destacando a região supercrítica para uma substância pura.

Fonte: Taylor (1996).

Assim, pode ser dito que os fluidos supercríticos são substâncias que se encontram sob pressão e temperatura acima do seu ponto crítico, em um estado que

não pode ser considerado líquido nem gasoso, sendo a extração, que o utiliza como solvente.

3.5. Métodos Cromatográficos

A cromatografia é um método de separação e análise de misturas químicas, onde esta mistura é carregada por um líquido ou gás e decomposta em seus componentes como resultado da distribuição diferencial dos solutos à medida que eles fluem na fase móvel.

Existem vários tipos de cromatografia: CP (cromatografia em papel), CCD (cromatografia em camada delgada), CC (cromatografia em coluna), CLAE (cromatografia líquida de alta eficiência), CTI (cromatografia por troca iônica), CE (cromatografia por exclusão), CG (cromatografia gasosa), etc.

Dentre estas, serão abordadas as cromatografias CCD, CLAE e CG, por serem técnicas utilizadas na pesquisa desse estudo.

3.5.1. Cromatografia em Camada Delgada

A cromatografia em camada delgada (CCD) consiste na separação dos componentes de uma mistura, através da migração diferencial sobre uma camada delgada de adsorvente retido sobre uma superfície plana.

Em relação às demais cromatografias, essa técnica é consequência natural de múltiplas vantagens que oferece, tais como: fácil compreensão e execução, separação em breve espaço de tempo, versatilidade, grande reprodutibilidade e baixo custo. Pode ser de aplicação analítica ou preparativa, sua escala está na dependência da espessura da camada de adsorvente (fase fixa) e do tipo de amostra (fase móvel) em análise.

O processo de separação está fundamentado principalmente no fenômeno da adsorção, onde as partículas sólidas de uma solução se aderem à superfície de um sólido. Entretanto, usando fases estacionárias tratadas, pode ocorrer também por

partição ou troca iônica, o que permite seu emprego tanto na separação de substâncias hidrofóbicas como hidrófilas. Para preparação das placas cromatográficas são determinadas algumas etapas que citamos com termos técnicos: ponto de aplicação, eluente, razão entre a distância percorrida pelo composto e a distância percorrida pelo eluente (R_f), resolução, padrão de caracterização, saturação da cuba, revelação e cromatograma. Sendo que cada etapa preparativa determinará o desenvolvimento analítico apropriado quanto à amostra pesquisada.

3.5.2. Cromatografia Gasosa (GC)

Esse método foi desenvolvido por *James e Martin* em 1952. A cromatografia gasosa apresenta uma amostra ou derivado volátil, termicamente estável na temperatura de operação do sistema cromatográfico. O tempo de análise é de minutos a horas e os tipos de amostras podem ser gases, líquidos e sólidos. Usa-se, dependendo do tipo de análise, uma capacidade preparativa de múltiplas injeções de amostras. Sua capacidade analítica é excelente podendo apresentar separação de até 200 compostos.

A cromatografia gasosa consiste numa fase móvel e uma fase estacionária, onde a fase móvel é um gás (geralmente He, N₂ ou H₂) e a fase estacionária é geralmente um líquido não-volátil, podendo ser também um sólido. Na cromatografia gasosa, o constituinte gasoso (ou líquido volátil) é transportado pela coluna por uma fase móvel gasosa, chamada de gás de arraste. A escolha do gás de arraste depende do detector e da eficiência e velocidade de separação desejada. De maneira geral, a cromatografia gasosa é aplicável para a separação e análise de misturas cujos constituintes tenham pontos de ebulição de até 300°C e que sejam termicamente estáveis (LUCAS, 2011).

Uma amostra líquida volátil ou gasosa é injetada por um septo (disco de borracha ou de silicone) dentro de uma câmara aquecida, na qual ela vaporiza rapidamente. O vapor é arrastado na coluna pelo gás de arraste e os constituintes separados fluem pelo detector, cuja resposta é mostrada num computador ou registrador. A coluna deve estar aquecida o bastante para proporcionar uma pressão

de vapor suficiente para que os constituintes sejam eluídos num tempo razoável. O detector é mantido numa temperatura superior à da coluna, logo todos os constituintes serão gasosos (HARRIS, 2001).

Existem diferentes tipos de colunas cromatográficas, mas a grande maioria das análises são usadas colunas capilares feitas de sílica fundida (SiO_2) e cobertas com poliimida, um plástico capaz de resistir até 350°C , para suportar e proteger da umidade atmosférica. Os diâmetros internos da coluna normalmente são de 0,10 a 0,53 mm e os comprimentos normais são de 15 a 100m.

A estrutura capilar oferece maior resolução, menos tempo de análise e maior sensibilidade que as colunas recheadas, mas estas possuem uma menor capacidade para a amostra. A coluna capilar se caracteriza por um filme de espessura de 0,1 a 5 μm de fase estacionária líquida na parede interna da coluna. A escolha da fase estacionária para um dado problema está baseada na regra “semelhante dissolve semelhante”. As colunas apolares são melhores para os solutos apolares, assim como, as colunas de polaridade intermediária são melhores para solutos de polaridade intermediária e as colunas fortemente polares são melhores para solutos fortemente polares. Com o tempo de uso a fase estacionária da coluna capilar se decompõe e os grupos silanol da superfície ($\text{Si} - \text{O} - \text{H}$) ficam expostos, aumentando a cauda do pico no cromatograma. A exposição ao oxigênio em altas temperaturas também leva à degradação e à formação de cauda no cromatograma, o que prejudica e interfere na interpretação do cromatograma. Para reduzir a tendência da fase estacionária de “sangrar” da coluna em temperaturas elevadas, ela pode estar ligada covalentemente à superfície da sílica ou a ela mesma. Entre os sólidos usados como camada porosa de colunas capilares está a alumina (Al_2O_3) (HARRIS, 2001).

O tempo de retenção – tempo decorrido entre a injeção de uma amostra e o ápice do pico cromatográfico – é relativo às substâncias polares e apolares com a mudança na polaridade da fase estacionária. Os compostos eluídos de uma fase estacionária apolar se encontram em ordem crescente do ponto de ebulição. O determinante principal da retenção da coluna é a volatilidade das substâncias.

Quanto mais fortemente polar for à fase estacionária, mais fortemente a coluna irá reter as substâncias polares (HARRIS, 2001).

A temperatura de uma coluna é elevada durante a separação para aumentar a pressão de vapor do soluto e assim diminuir os tempos de retenção dos últimos componentes a serem eluídos. Com a elevação da temperatura é possível uma melhor resolução dos picos, pois estes se tornam mais finos. Mas, é importante salientar que, elevando-se muito a temperatura poderá ocorrer decomposição térmica dos constituintes da análise ou da fase estacionária (HARRIS, 2001).

3.5.3. Cromatografia Gasosa acoplada ao Espectrômetro de Massas (CG/EM)

Durante as duas últimas décadas, ficou demonstrado que um dos métodos mais eficientes para a identificação de compostos voláteis em óleos essenciais é a cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de massa (CG/EM). Este método é muito adequado para a identificação devido aos componentes do óleo serem compostos voláteis de baixo peso molecular (<300 Dalton); aproximadamente $4,98 \times 10^{-25}$ Kg/mol) (LUCAS, 2011).

No cromatógrafo, os componentes do óleo essencial se separam e, em seguida, penetram no espectrômetro de massas, que permite registrar o correspondente espectro de cada uma das substâncias separadas. Os constituintes do óleo essencial são identificados por comparação aos diferentes padrões de fragmentação que se observam em seus espectros de massas presentes em bibliotecas, onde se relaciona os espectros obtidos das análises com os do banco de dados das bibliotecas. Existem bases de dados, como a biblioteca Adams, com os espectros de massas de muitos componentes (SERAFINI; BARROS; AZEVEDO, 2002).

3.5.4. Cromatografia Líquida de alta eficiência (CLAE)

A CLAE é um tipo de cromatografia líquida que emprega pequenas colunas, cheias de materiais especialmente preparados e uma fase móvel que é eluída sob

altas pressões. Emprega-se uma coluna fechada, reaproveitável, com recheios de alta resolução, muito eficazes, mas oferecem uma grande resistência à vazão da fase móvel. É necessário empregar sistema de bomba de alta pressão (até 400 bar) que fazem a fase móvel migrar a uma velocidade razoável através da coluna.

A CLAE é um método ideal para a separação de espécies iônicas ou macromoléculas de interesse biológico e produtos naturais, bem como uma imensa variedade de outros compostos de alta massa molecular ou baixa estabilidade térmica. Essa técnica utiliza pressão alta para forçar a passagem do solvente pelas colunas contendo partículas muito pequenas que proporcionam separações muito eficientes. Consiste em um sistema de distribuição de solvente, uma válvula de injeção de amostra, uma coluna de alta pressão associada a uma bomba, um detector e um computador para monitorar o sistema e apresentar os resultados (COLLINS et al., 2006).

3.6. Modelagem Matemática dos processos de Extração

Diferentes abordagens do problema físico associado ao processo de extração, reguladas por equações, que buscam descrever o que acontece na realidade a partir de um conjunto de hipóteses, dão origem a modelos matemáticos. Existem modelos simples e modelos que se complexificam à medida que se tenta incorporar mais informações da realidade em sua construção. Modelos com diferentes características têm sido usados, tanto para modelar a extração com fluido supercrítico como para a extração por arraste a vapor. Pode-se citar entre muitos aqueles que são representados por equações com origem na observação empírica, modelos com origem na equação diferencial de transferência de massa em uma única fase do processo extrativo, modelos estabelecidos via analogia da transferência de massa com fenômenos de transporte de calor, modelos com origem em balanços de massa nas duas fases que constituem o leito de extração, além de combinações entre eles (CASSEL; VARGAS; BRUN, 2008). Estas diferentes abordagens vêm comparecendo na literatura em diferentes cenários, levando em conta as condições de extração, o tipo de produto obtido, o tipo de matéria prima e (ou) solvente utilizado, a forma geométrica do extrator bem como da estrutura vegetal do material usado na extração. Ressalta-se que a habilidade de predizer o curso de um processo de extração, conhecendo os parâmetros do processo, é uma

poderosa ferramenta no projeto e na otimização de uma planta industrial de extração, portanto a modelagem matemática do sistema é provavelmente a mais desafiadora ferramenta preditiva com relação a informações relacionadas ao processo (CASSEL; VARGAS; BRUN, 2008).

Segundo Reverchon (1997) modelos com enfoque empírico são úteis quando a informação sobre os mecanismos de transferência de massa e relações de equilíbrio não está disponível, entretanto tais modelos são pouco mais que uma técnica de interpolação para os dados experimentais. Existem trabalhos na literatura que adotam esta estratégia para gerar modelos simples que representem o processo extrativo. Os trabalhos de Barton, Hughes e Hussein (1992) e Kandiah e Spiro (1990) podem ser incluídos nesta categoria. Modelos sustentados pela analogia entre o fenômeno da transferência de calor e a representação do processo de extração também têm sido usados (BARTLE et al., 1990). Estes modelos assumem que a segunda lei de Fick para a difusão, (Equação 3.6.1), descreve o processo de extração.

$$\frac{1}{D_{mi}} \frac{\partial c_i}{\partial t} = \nabla^2 c_i \quad (3.6.1)$$

Reverchon, Donsi e Ósseo (1993) utiliza o modelo de esfera única, com variação da concentração apenas na direção radial da esfera, para modelar a extração supercrítica a partir de várias matrizes herbáceas, com dados obtidos em escala laboratorial. O autor também assume que uma condição de contorno convectiva se estabelece na superfície da esfera em contato com o fluido, sendo o coeficiente de transferência de massa avaliado a partir de uma correlação disponível na literatura.

Gaspar et al. (2003) utiliza o princípio deste tipo de modelo, considerando geometria plana para avaliar a extração supercrítica de orégano. Mais recentemente Vargas et al. (2013) utilizou uma combinação de modelo difusivo com interface variante no interior do leito separando a zona de extração do soluto de fácil acesso do de difícil acesso para avaliar o processo extrativo com fluido subcrítico e supercrítico aplicados à marcela.

Outra classe de modelos matemáticos vem sustentada por equações diferenciais deduzidas de acordo com os fundamentos da transferência de massa para as duas fases, solvente e material sólido, que constituem o leito do extrator, e pode-se dizer que são os modelos mais usados atualmente para simular a extração com fluido supercrítico. Nesta categoria, Reverchon (1996) apresenta um modelo, onde o óleo essencial é considerado um único elemento, sem efeitos de dispersão axial ao longo do leito, supondo que a massa específica e a taxa de escoamento do solvente ao longo do leito são constantes. Com estas hipóteses o balanço de massa em um elemento de altura infinitesimal do leito, gera equações diferenciais parciais que descrevem o fenômeno da transferência de massa nas fases que constituem o extrator. O autor, utilizando uma técnica numérica, resolve estas equações e utiliza para simular o processo de obtenção do óleo essencial de sálvia sob diferentes condições de extração supercrítica (REVERCHON, 1996).

Sovová (1994), também, elabora um modelo baseado no balanço de massa para as duas fases do leito de extração e negligenciando o termo de acúmulo na equação para a fase fluida. Estabelece uma solução analítica que tem sido utilizada largamente por vários autores na representação de processos de extração com fluido supercrítico. Vargas et al. (2006) estuda obtenção de óleo essencial a partir da extração supercrítica de carqueja (*Baccharis trimera*) usando CO₂ supercrítico em escala laboratorial e emprega o modelo apresentado anteriormente para produzir a simulação dos dados mediante o ajuste dos parâmetros desconhecidos do modelo. Ferreira e Meireles (2002) também utilizam o mesmo modelo para investigar a extração supercrítica do óleo essencial de pimenta preta e geram os parâmetros desconhecidos no modelo para suas condições de extração.

Outros pesquisadores têm adotado esta categoria de modelos para investigar a modelagem matemática da curva de extração considerando diferentes efeitos no modelo físico (REIS-VASCO et al., 2000; GROSSO et al., 2010; HONARVAR et al., 2013).

Mais recentemente Sovová (2012) utilizou o conceito de tempos característicos para as etapas individuais do processo de extração que acoplados às

equações da curva de extração permitiram a análise aproximada de diferentes processos onde a extração com fluido supercrítico é utilizada.

Cassel e Vargas (2006) modelaram a extração por arraste a vapor do óleo essencial de *Cymbopogon winterianus* usando um modelo sustentado em princípios de difusão como controlador do processo de transferência de massa, os autores usaram este modelo para a partir de dados laboratoriais predizerem a extração em escala industrial. Este mesmo modelo foi usado para simular o processo de arraste a vapor quando aplicado ao manjeriço, alecrim e lavanda (CASSEL et al., 2009). Benyoussef et al. (2002) modelou a extração de óleo essencial de coentro também utilizando um modelo para a difusão no interior das partículas. Sovová e Aleksovski (2006) usaram um modelo matemático onde dois tipos de partículas foram considerados na modelagem. Na primeira hipótese, uma parte do material foi considerada depositada sobre a superfície do material vegetal em tricomas com fácil acesso e contato com o vapor de água enquanto na segunda, o óleo foi admitido se encontrar no interior de partículas uniformemente distribuídas no interior da planta. O modelo matemático advindo destas considerações foi solucionado analiticamente e duas constantes de tempo foram determinadas, uma associada à extração do óleo essencial dos tricomas externos e outra vinculada à extração do material mais interno com acesso mais difícil por parte do solvente. Cerpa, Mato e Cocero (2008) desenvolveram um modelo considerando três estágios no processo de obtenção do óleo por arraste a vapor. Primeiramente, uma exsudação do óleo ocorre devido aos efeitos da temperatura, ou seja, o óleo sai dos tricomas glandulares e se deposita na superfície do material vegetal, ficando acessível ao vapor; na segunda etapa, uma consideração de equilíbrio entre o óleo e o vapor é considerada e por último, a transferência de massa do óleo na fase vapor é considerada. Os autores usaram os dados experimentais da extração do óleo essencial de uma espécie de lavanda para determinar os parâmetros desconhecidos do modelo matemático construído.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Matéria-prima

O material vegetal utilizado nos experimentos foi coletado na cidade de Nova Santa Rita, RS, Brasil (setembro, 2013). A planta coletada foi identificada pelo Dr. S. BORDIGNON (UNILASSALE, Canoas, RS, Brazil). E a amostra foi depositada no herbário da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (ICN – Bordignon 3200). Após a matéria-prima *in natura* foi encaminhada ao laboratório LOPE – PUCRS, consistindo das partes aéreas como galhos, caules e folhas. Também foi utilizada, em estudos preliminares, uma amostra de planta adquirida no comércio da cidade de Porto Alegre.

4.2. Preparação de extrato hidroalcoólico

A amostra de extrato seco do *Ageratum conizoides L.* coletada em Nova Santa Rita-RS e uma outra adquirida em comércio da cidade de Porto Alegre foram secas, trituradas e submetidas a uma extração com uma mistura hidro alcoólica (80mL de em metanol e 20% em água). Foi utilizada uma massa de 94,9g na extração para o material coletado e moído, enquanto que utilizou-se 8,81g quando se extraiu da planta adquirida no comercio da cidade de Porto Alegre. Estas extrações foram realizadas inicialmente com o objetivo de verificar a existência de cromenos na planta.

4.3. Arraste a vapor

Os óleos essenciais da *Ageratum conyzoides* L. foram obtidos através da extração por arraste a vapor no equipamento em escala piloto instalado no Laboratório de Operações Unitárias (LOPE) da Faculdade de Engenharia da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul.

O equipamento de extração por arraste a vapor (Figura 4.4) utilizado neste trabalho possui um vaso de extração com capacidade de 10 L de volume útil. A unidade piloto foi projetada para operar até 3,5 bar (pressão absoluta). A geração de vapor é feita por uma caldeira elétrica de 1 kW/h com capacidade de 20 L e a condensação da mistura vapor-óleo essencial ocorre em um trocador de calor multitubular tipo casco-tubo. A interface com o operador do equipamento é feita por intermédio de um *software* de controle que apresenta gráficos de tendência e *displays* de variáveis como temperatura em diversos pontos do processo, vazão, pressão e volume de óleo. Estes dados são armazenados em banco de dados que é também compartilhado com o *software* de gerenciamento das bateladas. O *software* de gerenciamento permite a visualização e análise dos dados de processo das extrações, como tempo de extração, porosidade do leito, quantidade de vapor empregada e rendimento de óleo essencial.

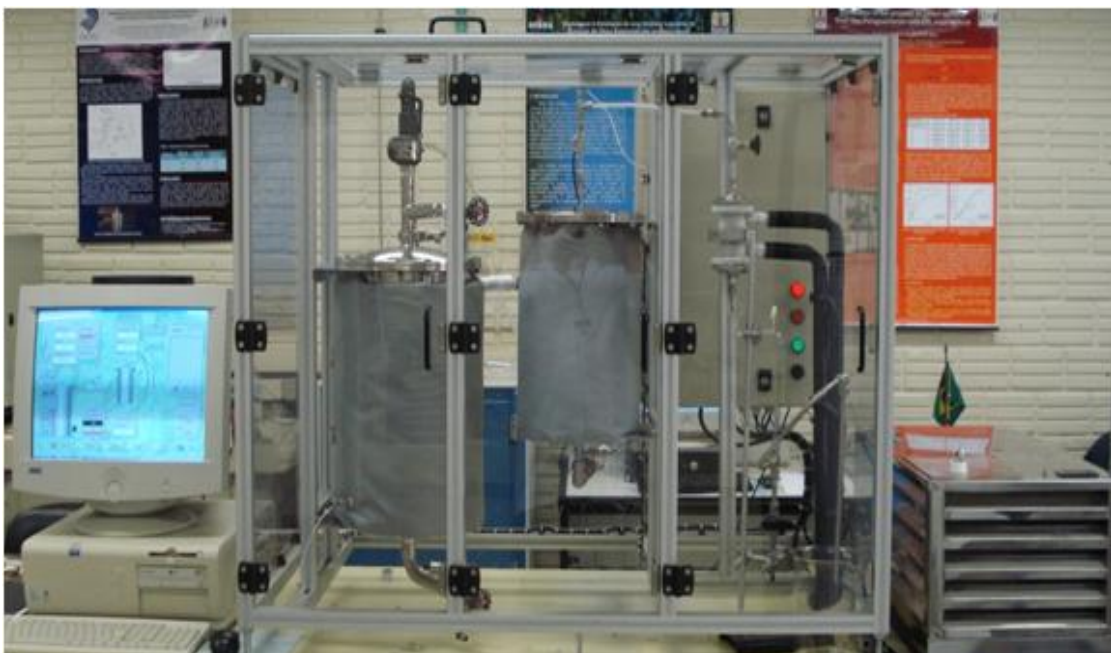


Figura 4.4. Equipamento de destilação por arraste a vapor em escala piloto, situado no LOPE

As partes aéreas de *A. conyzoides* foram colocadas no interior da câmara de extração, constituindo um leito fixo de extração através do qual o vapor passa, promovendo a extração dos compostos voláteis presentes nas partes aéreas da planta. Foram definidas três pressões: 1,0; 1,5 e 2,0 bar. A massa de planta utilizada para obtenção dos extratos voláteis de *A. conyzoides* para cada condição de extração foi de 550 g do material in natura.

4.4. Extração supercrítica

As extrações com fluido supercrítico foram realizadas na unidade piloto (Figura 4.5) do Laboratório de Operações Unitárias (LOPE) da PUCRS.



Figura 4.5. Unidade piloto de extração supercrítica – LOPE

A unidade de extração supercrítica, representada pelo fluxograma da Figura 4.6, é constituída por dois cilindros com CO₂, o qual, no estado líquido, passa por um condensador (C1) para evitar sua vaporização devido a diferença de temperatura entre o ambiente e a tubulação e é pressurizado através de uma bomba de alta

pressão Maximator® G35 (P1). Após, o CO₂ segue por um pré-aquecedor (W1) para que atinja o estado supercrítico e, então, o fluido supercrítico é alimentado no vaso de extração (B1) que contém a matriz a ser extraída. O equipamento conta com vasos de 100 mL, 500 mL e 1000 mL. Em seguida, o produto passa por uma válvula micrométrica Hoke®-Micromite® 1600 (VC1) onde o CO₂ se expande e tem sua vazão mássica de 1.2 kg/h of CO₂ determinada por um sensor Siemens® Sitrans F C Massflo® Mass 6000. A válvula micrométrica é aquecida por resistências elétricas para que assim seja evitado o congelamento do solvente na etapa de despressurização devido ao efeito Joule-Thomson. O extrato, já separado do solvente que passa para a fase gasosa durante a expansão, é coletado no vaso separador (B2). O equipamento conta ainda com uma bomba para co-solvente, *software* de monitoramento e controle automatizado.

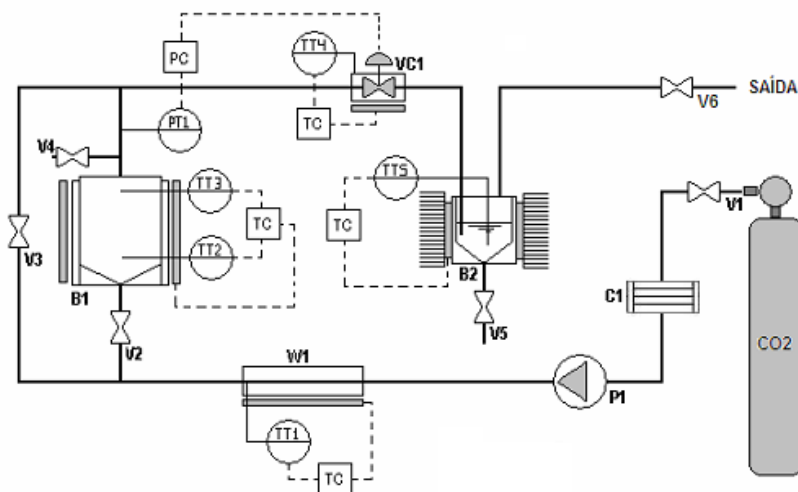


Figura 4.6. Fluxograma esquemático do processo de extração supercrítica

Fonte: BARROSO et al. (2011)

Legenda: C1 – condensador; P1 – bomba de alta pressão; W1 – pré-aquecedor; B1 – vaso de extração; B2 – vaso de separação; VC1 – válvula de expansão micrométrica; TC – controlador de temperatura, V1 a V6 – válvulas.

Foram utilizados dois modos de extração. No primeiro caso, o modo aqui denominado 1, o mesmo material de planta (84,54 g de material seco) foi extraído a uma temperatura constante (40°C) e um gradiente de pressão foi aplicado durante a extração (90, 120, 150 e 200 bar); na segunda, aqui chamado modo 2, utilizando

sempre uma nova amostra (60 g de material seco) para cada extração. Estas extrações foram realizadas a 40°C e pressão de 90, 120, 150 e 200 bar, respectivamente. No modo 2, foram colhidas amostras a cada 10 minutos para avaliar a produtividade dos extratos em função do tempo. Em ambos os modos, o fim do processo foi determinado quando a massa do extrato não variou após três medições consecutivas. A seleção de faixa de pressão e temperatura foi baseada na extração com fluido supercrítico de cromenos (benzopiranos) em *Hypericum* sp. realizada anteriormente por Cargnin et al. (2010).

As extrações foram realizadas no vaso de 500 mL utilizando CO₂ com vazão de 800 g.h⁻¹. Em cada procedimento foram utilizados a planta seca e moída com granulometria média final de 0,487mm.

4.5. Análise da Composição Química

Primeiramente, uma análise preliminar usando cromatografia em camada delgada foi usada para identificar o perfil dos compostos presentes no extrato hidroalcoólico. Já com vistas à quantificação do extrato obtido em cada tipo de processo de extração foram utilizadas técnicas de cromatografia diferentes. A análise dos extratos foi realizada de acordo com as suas características, no caso de extratos na forma de óleo essencial foi utilizada a cromatografia gasosa enquanto que extratos mais resinosos foram submetidos à cromatografia líquida de alta eficiência.

4.5.1. Cromatografia em camada delgada

As análises por cromatografia em camada delgada foram realizadas em uma placa de sílica gel, onde alíquotas de amostras do extrato hidroalcoólico da planta foram aplicadas. Dois eluentes foram utilizados na placa: o metanol e o diclorometano (100%) para os ensaios preliminares com vistas à identificação de cromenos na planta. O revelador aplicado foi vanilina sulfúrica e se utilizou o método comparativo de seus R_fs e colorimetrias.

4.5.2. Cromatografia gasosa e espectrometria de massa

A análise da composição química do óleo essencial de *A. conyzoides* foi realizada por cromatografia gasosa, acoplada a um detector de espectrometria de massas (equipamento Hewlett Packard – Agilent sistema GC/EM, GC modelo 7890A e detector de massas modelo 5975C). O óleo essencial coletado foi desidratado, utilizando sulfato de sódio anidro (Na_2SO_4), e após diluído em ciclo-hexano (P.A) na proporção 1:2.

A coluna que foi utilizada é do tipo HP-5MS (Hewlett Packard - Agilent, 5% fenil metil silox, 30m x 250 μm de diâmetro interno com espessura de filme de 0,25 μm). A programação de temperatura do forno começa em 60°C, que se mantém durante 8 minutos, aumentando a 3°C/min até 180°C, mantendo esta temperatura por 1 minuto, aumentando a 20°C/min até 250°C e mantendo essa temperatura por 10 minutos. O gás de arraste, que foi utilizado, é o Hélio com fluxo de 0,8 mL/min, temperatura do injetor 250°C, volume de injeção 0,2 μl , no modo *split*, razão de *split* 1:55. A faixa de massa de análise foi de 50 a 700 u.m.

A identificação e quantificação dos componentes do óleo foram realizadas mediante a comparação dos seus índices de retenção (RI), determinado em relação a uma série homóloga de *n*-alcanos, com os de padrões puros ou relatados na literatura. A comparação foi realizada com os padrões de fragmentação do espectro de massa que estão armazenados nas bases de dados de GC-ME (MCLAFFERTY; STAUFFER, 1991; ADAMS, 2007).

4.5.3. Isolamento e identificação de cromenos obtidos na extração supercrítica

Os solventes *n*-hexano e diclorometano foram adquiridos da Química Moderna (Barueri, São Paulo, Brazil). Todos extratos foram analisados por cromatografia de camada delgada utilizando sílica gel 60 F254 Merck (Darmstadt, Alemanha) como fase estacionária o *n*-hexano:diclorometano (1:1) como eluente. As placas foram visualizadas sob a luz ultravioleta (257 nm) e depois pulverizada com reagente de ácido sulfúrico-anisaldeído, seguido por aquecimento a 95 °C. O extrato

obtido da extração supercrítica 90 bar foi escolhido para o isolamento dos compostos principais. Uma amostra de 200 mg foi submetida à cromatografia em coluna de sílica gel (70–230 mesh; Merck, Darmstadt, Alemanha) utilizando *n*-hexano:diclorometano (100:0 → 0:100 v/v) como sistema gradiente. Catorze frações foram recolhidas. As frações de 4 e 8 estão associadas ao precoceno I e precoceno II, respectivamente. A identidade e pureza dos compostos foram confirmadas por espectroscopia de RMN (Eft-60; Anasazi Instruments, Indianapolis, Indiana, USA) e comparados com os dados da literatura (STEINBECK et al., 1997). Os compostos foram utilizados como padrões na obtenção de curvas de calibração.

No HPLC foram usados metanol (MeOH) e acetonitrila (CH₃CN) da Merck (Darmstadt, Germany); ácido fórmico (HCOOH) com um grau de reagente (85-88%) do CRQ (Diadema, São Paulo, Brazil).

O sistema de HPLC consistiu de um instrumento de cromatografia líquida Shimadzu (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japan), equipado com um desgaseificador DGU-20A₅, Bombas, LC-6AD, amostrador automático SIL-10AD, CTO – 20 AC no forno de coluna, SPD – 20AV detector UV/VIS.

Os dados cromatográficos foram gravados e processados. Para as separações foi usada uma coluna Waters Nova Pack C18 (4 µm; 3,9 x 150 mm) e outra coluna de guarda Waters Nova-Pack C18 60Å (3,9 x 20 mm).

As análises dos extratos realizadas na extração supercrítica, foram dissolvidos em MeOH, filtrados (tamanho de poro de 0,22 µm, Merck) e analisada a 280 nm. As condições do HPLC foram da seguinte maneira: o solvente A foi acetonitrila e ácido metanoico (0,1%); o solvente B foi água e ácido metanoico (0,01%). O perfil (tempo) de programa de gradiente: 0 à 10 minutos e 50% a 0% de solvente B; 10 a 15 minutos, 100% de solvente A; 15 a 20 minutos, 0% a 50% de solvente B; o último solvente foi mantido até 30 minutos para estabilizar o sistema. As análises foram realizadas à temperatura ambiente (25 °C) e com taxa de fluxo de 1 mL.min⁻¹. Num volume de 20 µL e três injeções foram realizadas para cada amostra.

Os picos foram identificados por comparação dos seus tempos de retenção (t_R) com padrões. Os valores de t_R foram 5,20 à 8,54 minutos, para o precoceno II e precoceno I, respectivamente. As curvas de calibração foram preparadas para os padrões selecionados em MeOH com minimamente cinco pontos de dados que cobrem a faixa de concentração de 5,0 – 1000,0 $\mu\text{g/mL}$ para precoceno II ($r^2 = 0,9997$) e 2,5 – 600,0 $\mu\text{g/mL}$ para precoceno I ($r^2 = 0,9997$). Cada curva foi obtida representando graficamente a área do pico do composto em função da concentração da amostra.

4.6. MODELAGEM MATEMÁTICA

O modelo matemático utilizado para representar o processo de extração, neste trabalho, é baseado em balanços de massa para as fases fluida (associada ao solvente) e sólida (material vegetal) presentes no extrator. O modelo foi apresentado por Sovová (2012), considerando que o solvente flui através de um leito fixo formado pelo material sólido promovendo a extração de substâncias, aqui denominadas soluto, do material vegetal. Sovová (2012) descreve um processo padrão de extração que depende de muitos fatores, considerando um fluxo fixo, seguindo as seguintes equações obtidas pelo balanço de massa na fase fluida

$$\frac{\partial y}{\partial t} + \frac{1}{t_r} \frac{\partial y}{\partial z} = \frac{y^+ - y}{t_f} \quad (4.6.1)$$

Sujeita às seguintes condições: $y(t = 0, z) = y_0$, $y(t > 0, z = 0) = 0$.

Para a fase sólida, as seguintes equações resultam do balanço de massa

$$\frac{\partial x}{\partial t} = - \frac{x - x^+}{t_i} \quad (4.6.2)$$

Sujeita à seguinte condição inicial $x(t = 0, z) = x_0$.

Nas equações anteriores, y é a concentração da fase fluida, y^* é a concentração de equilíbrio do soluto no fluido com as partículas de superfície, t_r é o tempo de residência, t_f é o tempo característico da transferência de massa na fase fluida, t é o tempo de extração é z a coordenada dimensional axial, y_0 é a concentração inicial de soluto na fase fluida, x é a concentração de soluto na fase sólida, x^* é a concentração de equilíbrio do soluto para a fase sólida nas superfícies das partículas, t_s é o tempo característico da transferência de massa na fase sólida e x_0 é a concentração inicial na fase sólida. A solução dessa equação pode ser integrada por um procedimento matemático adequado e possibilita a determinação da solução para a concentração na fase fluida. Com a especificação da concentração do soluto na saída do extrator, fica possível o cálculo do rendimento da extração com uma função do tempo:

$$e = q' \int_0^t y_{out} dt \quad (4.6.3)$$

Sovová (2012) considera que a concentração inicial satisfaz as condições:

$$x_0 + \gamma y_0 = x_\mu \quad (4.6.4)$$

Onde, x_μ é igual ao rendimento de extração assintótica, ou seja, o rendimento seria obtido para o tempo infinito de extração o que implica a máxima quantidade de extrato obtida para uma dada condição de extração. E, o desenvolvimento formal, foi baseado na não existência da interação do soluto com a matriz. Além disso, o extrato é considerado um único soluto (chamado de pseudo componente) presente na composição da mistura. Desprezando o termo de acúmulo no balanço de massa no fluido, Sovová (2012) soluciona as equações diferenciais e expressões são apresentadas pela autora para a curva de extração e rendimento de extração como função do tempo. Basicamente, dois períodos distintos são identificados nas curvas de extração. Sendo, que no primeiro período é extraído o soluto das células abertas, devido a moagem, este passo da extração é limitado pela solubilidade do extrato contido no fluido. A expressão para curva de rendimento nesse período segundo Brunner (1984) pode ser escrita como

$$e = y_{sat} q' t \left[1 - \exp\left(-\frac{t}{\Theta_f}\right) \right] \quad \text{para} \quad t \leq t_f \quad (4.6.5)$$

onde y_{sat} é a solubilidade, e q' é o fluxo específico avaliado $\Theta_f = \frac{t_f}{t_r}$. O tempo de residência é definido como:

$$t_r = \frac{\gamma}{q'} \quad (4.6.6)$$

onde γ é a razão entre a massa de solvente e a massa de material sólido presente no extrator, definindo como:

$$\gamma = \frac{\rho_f \varepsilon}{\rho_s (1 - \varepsilon)} \quad (4.6.7)$$

sendo ρ_f , a massa específica do solvente, ρ_s , a massa específica da partícula sólida e ε é a porosidade do leito.

O tempo característico da transferência de massa externa é definido como:

$$t_f = \frac{\varepsilon}{k_f a_0} \quad (4.6.8)$$

sendo, a_0 , a área específica e k_f , o coeficiente de massa transferida na fase fluida.

No segundo período a extração é limitada pela difusão interna de soluto a partir das células intactas, ou seja, o soluto extraído é proveniente dos núcleos das partículas sendo transferido por difusão até a superfície da partícula, esta etapa é bastante lenta (SOVOVÁ, 2012). Para esse período, Sovová (2012) apresenta a seguinte equação para curva de extração:

$$e = x_{\mu} \left[1 - (1 - G) \exp\left(-\frac{(t - t_1)}{t_i}\right) \right] \quad \text{para} \quad t > t_1 \quad (4.6.9)$$

onde G é a fração inicial do extrato nas células abertas t_1 é o tempo associado à exaustão do óleo nas células abertas, ou seja, esse tempo é associado com a parte reta da curva de extração. O tempo t_i é definido por Sovová (2012) como

$$t_i = \frac{R^2(1 - G)^{2/3}}{15D_e} \quad (4.6.10)$$

onde D_e é o coeficiente efetivo da difusão no interior da partícula e R é o raio da partícula esférica. Este é o tempo característico da transferência de massa na fase sólida.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados referentes à identificação de cromenos nos extratos obtidos pelas diferentes técnicas de extração utilizadas neste trabalho juntamente com os resultados advindos da simulação matemática dos processos extrativos são apresentados a seguir. Na primeira seção são apresentados os estudos preliminares para a identificação de cromenos por análise cromatográfica em camada delgada para os extratos hidroalcoólicos da planta. Na sequência, os resultados são apresentados em duas seções: uma referente à extração por arraste a vapor e a outra para a extração com fluido supercrítico.

A análise dos óleos oriundos da destilação por arraste a vapor foi realizada a partir da cromatografia gasosa e espectrometria de massa (CG/MS), enquanto a técnica de HPLC foi utilizada para os produtos da extração supercrítica. As curvas de extração construídas em termos da massa de extrato como função do tempo são apresentadas em cada subseção referente à modalidade de extração assim como os resultados da modelagem matemática.

5.1. Análises preliminares por CCD

Análise preliminar por cromatografia em camada delgada foi realizada, a fim de verificar o perfil cromatográfico dos compostos presentes no extrato hidroalcoólico da amostra vegetal. As placas com o resultado do processo cromatográfico são apresentadas na Figura 5.7. A partir de relatos na literatura, que indicam a forte presença de cromenos no *Ageratum conyzoides* pode se inferir que as manchas apresentadas nas placas são indicativos da presença deste tipo de substância no extrato obtido. Análises mais detalhadas e precisas serão apresentadas na

sequência com vistas a caracterizar a composição química do extrato obtido pela extração por arraste a vapor e mediante o uso do fluido supercrítico.

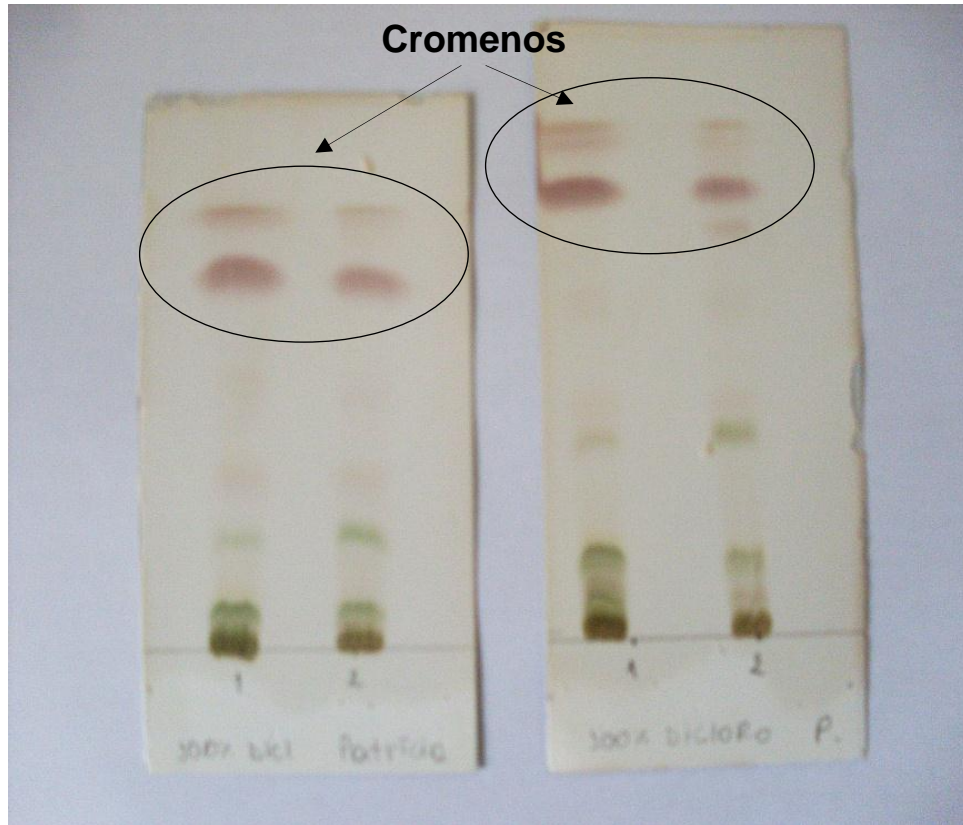


Figura 5.7. CCD de amostras aplicadas nas placas cromatográficas para verificar a existência de cromenos (1 – planta coletada; 2 – planta comercial) em extrato hidro alcoólico.

5.2. Extração por arraste a vapor

No procedimento da extração de destilação por arraste a vapor realizado na amostra de *Ageratum conyzoides* foi utilizada a massa de 550 g de planta. O óleo essencial foi extraído das partes aéreas e frescas da planta sem qualquer pré-processamento. E as características do material vegetal, obtidos experimentalmente, são as seguintes: 0,11mm para espessura do material depositado no extrator e sua massa específica igual a 0,40 g/mL.

O rendimento médio foi calculado com base no peso úmido a partir da conversão do volume medido e a massa de folhas de plantas frescas (%). O volume medido durante a extração foi convertido em massa de óleo utilizando o valor de

0,89 g/cm³ para a massa específica do óleo. Este valor foi determinado experimentalmente para o produto obtido durante a extração.

Os resultados em termos da massa de óleo obtido a cada extração como função do tempo estão apresentados na tabela 5.1.

Tabela 5.1. Resultados da destilação por arraste a vapor executada em diferentes pressões em termos da massa de óleo obtida como função do tempo de extração

Tempo(min)	P=1atm		P=1,5 atm		P=2,0 atm	
	M (g)	R(%)	M(g)	R(%)	M(g)	R(%)
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
5	0,044	0,008	0,178	0,032	0,178	0,032
10	0,133	0,024	0,356	0,063	0,267	0,047
15	0,222	0,040	0,445	0,079	0,356	0,063
20	0,267	0,047	0,534	0,095	0,445	0,079
25	0,356	0,063	0,561	0,099	0,534	0,095
30	0,400	0,071	0,596	0,106	0,623	0,111
35	0,418	0,074	0,623	0,111	0,650	0,116
40	0,436	0,078	0,623	0,111	0,667	0,119
45	0,445	0,080	0,623	0,111	0,712	0,127
50	0,445	0,080	0,000	0,000	0,712	0,127

5.2.1. Análise química por CG/EM

Os resultados para a análise do óleo essencial foi realizada com repetitividade de medição que demonstrou coeficientes de variação inferiores a 5% para todos os componentes apresentados na Tabela 5.2.

O rendimento médio dos óleos essenciais de *A. conyzoides* obtido por destilação a vapor foi de 0,08% (1 bar), 0,11% (1,5 bar) e 0,13% (2 bar). A composição determinada por GC-MS revelou 31 componentes presentes em cada amostra e três compostos principais, precoceno I (28,24 ± 2,64%), precoceno II

(28,55 ± 2,08%) e E-cariofileno (18,50 ± 4,54%). Na Tabela 5.2 são apresentados todos os compostos voláteis identificados e a respectiva composição percentual.

Em geral, o rendimento (Tabela 5.1) e os principais compostos do óleo essencial de *Ageratum conyzoides* obtidos por destilação a vapor foram similares para outros estudos. O intervalo de concentração dos precocenos é grande (OKUNADE, 2002). Castro et al. (2004) encontrou valores entre 15,63-76,57% para precoceno I e, 41-76,71% para precoceno II de cinco coletas no estado de Minas Gerais, Brasil. Tais variações podem ser devido a fatores como genética, partes da planta utilizada, as condições climáticas e de crescimento (AALBERSBERG et al., 1991; CASTRO et al., 2004). Entre os compostos em menor quantidade, observou-se a presença de cumarina e andro-encecalinol no óleo essencial, metabólitos estruturalmente relacionados com os cromenos. Em relação à variável de processo, é interessante notar que o aumento de pressão provocou um ligeiro aumento no rendimento de óleo essencial e na quantidade total de sesquiterpenoides, mas reduziu o teor de monoterpenoides e cromenos (Tabela 5.2).

Tabela 5.2. Análise via (CG/MS) dos componentes do óleo essencial (%) de *A. conyzoides* obtidas por arraste a vapor em diferentes condições de pressão.

Compostos	IR	% Area		
		1 bar	1.5 bar	2 bar
α -Pineno	929	0,42	0,37	0,26
Canfeno	944	2,48	2,17	1,36
β -Pineno	972	0,20	0,18	0,12
Mirceno	989	0,38	0,27	0,13
δ -2-Careno	998	1,47	1,22	0,89
α -Felandreno	1001	0,07	0,05	0,04
Limoneno	1026	0,35	0,31	0,23
Terpinoleno	1085	0,06	0,06	0,04
Borneol	1162	0,03	-	0,10
Formato de Isobornila	1224	0,89	0,89	0,61
Bornil acetato	1284	2,64	2,96	2,16
α -Cubebeno	1347	0,06	0,07	0,15
α -Copaeno	1373	0,21	0,15	0,20
β -Bourboneno	1381	0,45	0,52	0,79
β -Cubebeno	1387	1,66	1,09	0,87

β -Elemeno	1389	-	0,17	0,41
<i>E</i> -Cariofileno	1421	14,45	17,64	23,40
β -Copaeno	1426	0,09	0,09	0,15
Cumarina	1433	0,10	0,05	0,14
α -Humuleno	1451	1,45	1,16	1,53
Preconeno I	1468	28,66	30,64	25,41
Germacreno D	1482	3,23	0,17	5,10
<i>trans</i> -Muurolo-4(14),5-dieno	1489	-	0,85	-
Biciclogermacreno	1496	2,19	2,56	3,29
α -Muurolo	1498	0,25	0,20	0,29
δ -Cadineno	1522	0,49	0,49	0,99
Germacreno B	1554	0,08	0,07	0,05
<i>E</i> -Nerolidol	1562	0,11	0,12	0,16
Espatulenol	1575	0,17	0,19	0,16
Óxido cariofileno	1581	0,57	0,58	0,61
Selina-1,3,7(11)-trien-8-ona	1629	0,65	0,65	0,38
Precoceno II	1668	29,73	26,15	29,77
andro Encecalinol	1673	0,07	0,58	0,07
Monoterpenoides		5,46	4,63	3,17
Sesquiterpenoides		26,11	26,77	38,53
Cumarinicos		0,10	0,05	0,14
Cromenos		58,46	57,37	55,25
Outros		3,53	3,85	2,77
Total		93,66	92,67	99,86

5.2.2. Modelagem matemática para a extração por arraste a vapor

Os parâmetros desconhecidos do modelo matemático foram estimados por minimização da soma dos quadrados dos erros entre os dados experimentais e as previsões utilizando o modelo. Os resultados obtidos para os parâmetros relativos à destilação por arraste a vapor são apresentados na Tabela 5.3, assim como as curvas ajustadas por estes parâmetros são apresentadas na Figura 5.8. A partir da observação do comportamento da curva modelada e dos pontos experimentais pode-se dizer da adequação do modelo para representar o processo extrativo. Além

disso, tendo em vista os valores do coeficiente de determinação, R^2 , pode ser dito que o processo de ajuste dos dados experimentais foi realizado satisfatoriamente revelando a compatibilidade entre os dados experimentais e o modelo.

Tabela 5.3. Parâmetros do modelo matemático ajustados a partir dos dados experimentais para a extração por arraste a vapor.

	Θ_f	G	$D_e \left(\frac{m^2}{s} \right)$	$y_{sat} \left(\frac{g}{g_{solvent}} \right)$	$k_f \left(\frac{m}{s} \right)$	X_μ	R^2
1 bar	0,0555	0,8988	$2,00 \times 10^{-15}$	0,0019	$6,16 \times 10^{-10}$	0,0008	0,9949
1.5 bar	0,0481	0,8812	$2,00 \times 10^{-15}$	0,0044	$5,08 \times 10^{-10}$	0,0011	0,9924
2.0 bar	0,0364	0,8646	$2,00 \times 10^{-15}$	0,0031	$4,37 \times 10^{-10}$	0,0013	0,9921

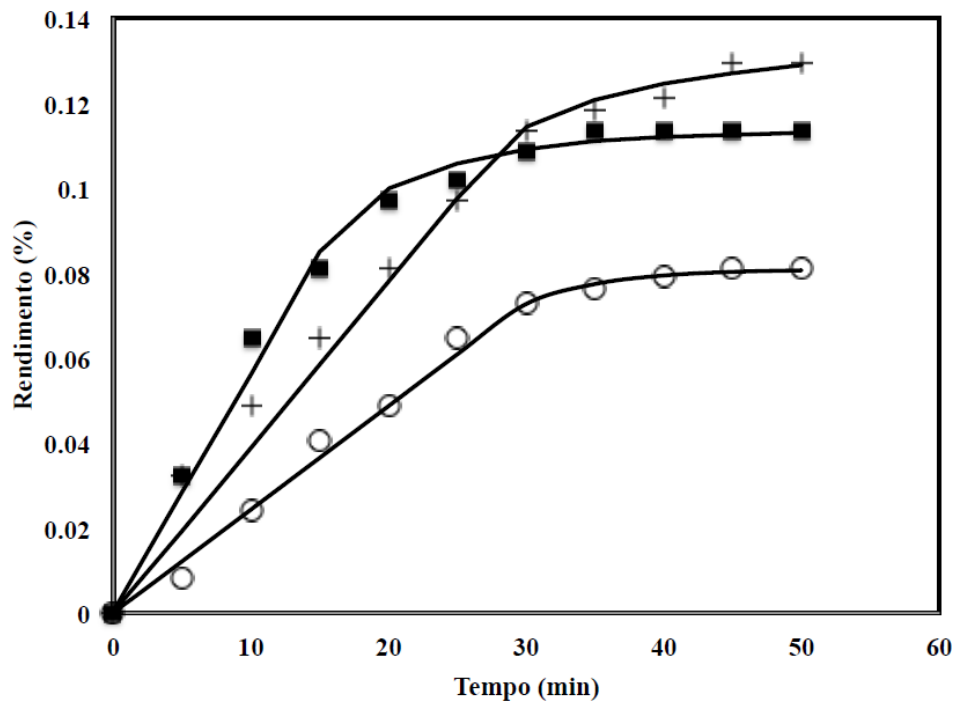


Figura 5.8. Curvas do rendimento de extrato obtido via destilação por arraste a vapor de *Ageratum conyzoides*. Dados experimentais representados por \circ para pressão de 1 atm, \blacksquare para 1,5atm e $+$ para 2 atm. Linhas contínuas representam os dados do modelo matemático ajustado com os parâmetros apresentados na tabela 5.3.

5.3. Extração supercrítica

Os experimentos de extração supercrítica foram realizados em equipamento automatizado em escala piloto, a partir do material vegetal seco à temperatura ambiente e moído (1mm de abertura de malha). O fluxograma do aparelho conforme figura 4.6 e os seus detalhes foram descritos anteriormente por Scopel et al. (2013). Dois modos de extração foram empregados um contínuo e outro em lotes conforme descrito na metodologia. No primeiro caso, o material vegetal (84,54 g), foi extraído a uma temperatura constante de 40°C e com aumento sequencial gradativo de pressão passando pelos valores de 90, 120, 150 e 200 bar.

Os resultados obtidos para a quantidade máxima de extrato e seus respectivos rendimentos estão sintetizados na tabela 5.4.

Tabela 5.4. Resultado em termos de massa de extrato e rendimento para extração supercrítica conduzida a partir de aumento gradativo da pressão de forma sequencial

P=90bar		P=120bar		P=150bar		P=200bar	
M (g)	R(%)	M(g)	R(%)	M(g)	R(%)	M(g)	R(%)
3,97	4,69	1,04	1,23	0,73	0,86	0,61	0,72

No segundo procedimento denominado de processamento em lotes, foi utilizada sempre uma nova amostra de 60g e as extrações foram realizadas à temperatura de 40°C e pressões constantes respectivamente de 120, 150 e 200 bar. Para a condição de 90 bar foi utilizada a massa de 84,54 g. As amostras de extratos foram retiradas a cada 10 minutos para a construção da curva de extração, que é uma representação da massa total de extrato coletada em função do tempo.

Os resultados obtidos estão apresentados na tabela 5.5 em termos da massa de extrato total obtida e também em termos do rendimento com relação à quantidade de planta utilizada na extração com CO₂ supercrítico.

Tabela 5.5. Resultado em termos de massa de extrato e rendimento para extração supercrítica conduzida com um novo material a cada extração.

Tempo(min)	P=90bar		P=120bar		P=150bar		P=200bar	
	M (g)	R(%)	M(g)	R(%)	M(g)	R(%)	M(g)	R(%)
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
10	0,494	0,584	0,119	0,198	0,152	0,253	0,288	0,480
20	0,902	1,067	0,360	0,600	0,306	0,510	0,649	1,082
30	1,286	1,521	0,432	0,720	0,485	0,808	1,151	1,918
40	1,513	1,789	0,494	0,823	0,772	1,287	1,338	2,230
50	1,675	1,981	0,546	0,910	0,905	1,508	1,513	2,522
60	1,896	2,243	0,619	1,032	1,128	1,880	1,648	2,747
70	2,121	2,509	0,641	1,068	1,253	2,088	1,791	2,985
80	2,254	2,662	0,653	1,088	1,330	2,216	1,887	3,145
90	2,451	2,899	0,667	1,112	1,363	2,272	1,952	3,253
100	2,661	3,148	0,678	1,130	1,468	2,447	1,985	3,308
110	2,877	3,403	0,698	1,163	1,522	2,537	2,067	3,445
120	3,075	3,637	0,718	1,197	1,523	2,538	2,097	3,495
130	3,244	3,837	0,735	1,225	1,553	2,588	2,101	3,502
140	3,413	4,037	0,744	1,240	1,554	2,589	2,102	3,503
150	3,566	4,218	0,751	1,252	1,562	2,603	-	-
160	3,678	4,351	-	-	1,563	2,604	-	-
170	3,770	4,459	-	-	-	-	-	-
180	3,845	4,548	-	-	-	-	-	-
190	3,936	4,655	-	-	-	-	-	-
200	3,956	4,679	-	-	-	-	-	-
210	3,963	4,688	-	-	-	-	-	-
220	3,969	4,695	-	-	-	-	-	-

Embora os principais compostos de *A. conyzoides* sejam voláteis, os extratos supercríticos foram analisados por CLAE uma vez que compostos não voláteis podem ser extraídos usando este método de extração devido às pressões utilizadas no processo. Foram observadas diferenças qualitativas e quantitativas nos extratos obtidos com o uso do dióxido de carbono supercrítico. O extrato para a condição de

40° C e 90 bar foi um óleo amarelo e para a pressão de 120 bar foi um óleo-resina de cor amarelo alaranjado. Para as condições de 150-200 bar também se obteve óleo-resina só que com cor amarelo-esverdeado. Um perfil cromatográfico dos extratos pode ser visto na figura 5.9.

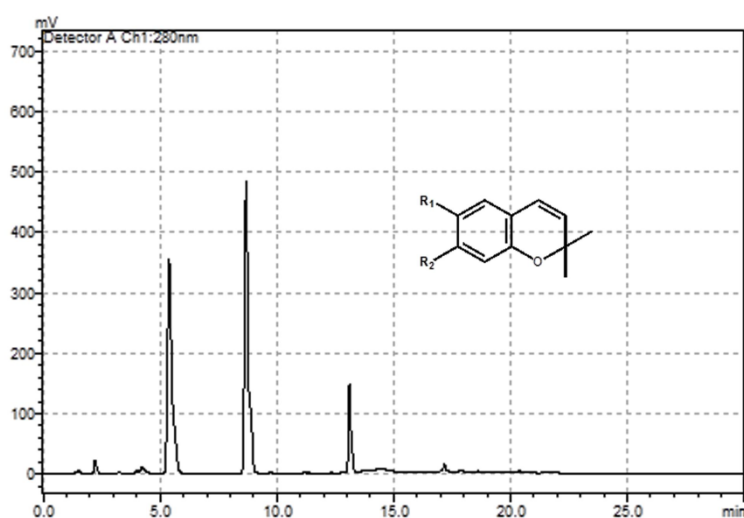


Figura 5.9. Análise via HPLC do extrato obtido por extração supercrítica (40°C, 90 bar) de *A. conyzoides*. Os picos para 5.20 min (precoceno II, $R_1 = \text{OCH}_3$; $R_2 = \text{OCH}_3$); 8.54 min (precoceno I, $R_1 = \text{H}$; $R_2 = \text{OCH}_3$).

Conforme descrição anterior para análises por HPLC realizadas para os produtos obtidos na extração supercrítica obtiveram-se resultados com dados de picos identificados por comparação dos seus tempos de retenção (t_R) como padrões. Os valores de t_R foram 5.20 e 8.54 minutos, para o precoceno II e precoceno I, respectivamente. Cada curva foi obtida representando graficamente a área do pico do composto em função da concentração na amostra.

A identificação de cromenos, conforme descrição apresentada na subseção 4.5.3, está apresentada na tabela 5.2 tanto para os extratos obtidos pela extração supercrítica com amostra submetida ao aumento gradual de pressão como para os extratos obtidos pela operação em lotes. O rendimento total e quantidades de precoceno I e precoceno II em cada condição de extração são apresentados na tabela 5.6.

Tabela 5.6. Rendimentos para o extrato total e precocenos I e II a partir do procedimentos “contínuo” e em lotes para o *Ageratum conyzoides* usando dióxido de carbono supercrítico.

Condições da extração		Extrato				
		total	Precoceno I ^a		Precoceno II ^a	
		%	% (g/g planta)	% (g/g extrato)	% (g/g planta)	% (g/g extrato)
Modo 1 (contínuo)						
40 °C	90 bar	4,69	0,96 ± 0,05	20,49 ± 1,14	2,09 ± 0,12	44,57 ± 2,63
	120 bar	1,23	0,06 ± 0,004	4,77 ± 0,30	0,21 ± 0,009	17,21 ± 0,75
	150 bar	0,86	0,01 ± 0,0008	1,20 ± 0,10	0,03 ± 0,002	3,86 ± 0,19
	200 bar	0,72	0,01 ± 0,0003	0,83 ± 0,04	0,02 ± 0,0003	2,61 ± 0,05
Modo 2 (em lotes)						
40 °C	90 bar	4,69	0,96 ± 0,05	20,49 ± 1,14	2,09 ± 0,12	44,57 ± 2,63
40 °C	120 bar	1,25	0,08 ± 0,0005	6,23 ± 0,04	0,39 ± 0,005	31,17 ± 0,43
40 °C	150 bar	2,60	0,13 ± 0,009	4,91 ± 0,33	0,59 ± 0,007	22,79 ± 0,26
40 °C	200 bar	3,50	0,14 ± 0,003	4,00 ± 0,08	0,80 ± 0,02	22,96 ± 0,53

Valores expressos em termos da média ± desvio padrão.

A extração com fluido supercrítico produziu rendimentos expressivos e seletividade mais elevada (tabela 5.6), quando comparados aos obtidos por arraste a vapor. A quantidade de precoceno I e II representou 65,06% do extrato obtido à 40°C de temperatura e 90 bar de pressão. Na operação em lotes, uma parte dos solutos continua adsorvida na matriz vegetal. Esta desvantagem aparente, no entanto, pode ser muito útil quando a seletividade do processo tenha que ser levada em conta.

A quantidade relativa de precoceno II, por exemplo, é de 2,2 e 5,7 vezes superiores ao precoceno I obtido no processamento contínuo a 90 bar e no processamento em lotes a 200 bar de pressão, respectivamente tabela 5.6. Os resultados estão coerentes com comportamento da massa molecular e polaridade dos metabólitos investigados uma vez que, a uma temperatura constante, o aumento

da pressão aumenta o poder de solvatação e a densidade do fluido favorecendo assim a extração de compostos mais polares e mais pesados (PEREIRA; MEIRELES, 2010). Este poder de solvatação ajustável é uma das principais vantagens da extração de fluido supercrítico em relação aos métodos convencionais (PEREIRA; MEIRELES, 2010; ALMEIDA et al., 2013; BARROS et al., 2011; CARGNIN et al., 2010), tais como hidrodestilação e destilação por arraste a vapor. Além disso, outras vantagens são as baixas temperaturas empregadas o que evita a degradação dos metabólitos além de promover economia de tempo e energia (BARROS et al., 2011). Assim, a viabilidade econômica, a qualidade, rendimento e seletividade são fatores essenciais para a escolha do método de extração para ser usado com um propósito determinado.

5.3.2. Modelagem matemática

Os parâmetros ajustados permitem observar que a difusividade efetiva do soluto no interior da partícula sólida é muito pouco afetada pela variação de pressão, devido à difusão ocorrer no interior das partículas sólidas. O coeficiente de transferência de massa no fluido, quer para a destilação por arraste a vapor como pela extração com fluido supercrítico, diminuiu com o aumento da pressão, este comportamento foi observado em vários estudos prévios (GOTO; SATO, 1993; PEKER et al., 1992; VARGAS et al., 2006; ZIZOVIC et al., 2007). A quantidade de células abertas está associada ao parâmetro L e este se mostrou independente da pressão, o que é razoável, uma vez que esta quantidade é dependente da moagem realizada anteriormente à extração. Pequenas alterações observadas neste parâmetro podem ser atribuídas à imperfeição da homogeneidade do material utilizado para o processamento. As alterações na solubilidade podem ser atribuídas ao fato de que a diferentes pressões, a identidade do soluto é variável porque diferentes substâncias químicas são removidas da matriz vegetal.

Em geral, o ajuste matemático foi bastante eficiente para os dados experimentais obtidos, o que é confirmado pelo valor elevado do coeficiente de determinação (R^2) e a veracidade desta estimativa pode ser vista na figura 5.7 e figura 5.10 para a destilação por arraste a vapor e para a extração com fluido supercrítico, respectivamente.

Tabela 5.7. Parâmetros do modelo matemático ajustados a partir dos dados experimentais para a extração com CO₂ supercrítico de *A. conyzoides*.

	θ_f	G	$D_e \left(\frac{m^2}{s} \right)$	$y_{sat} \left(\frac{g}{g_{solvent}} \right)$	$k_f \left(\frac{m}{s} \right)$	X_μ	R^2
90 bar	0,0021	0,7800	$1,90 \times 10^{-14}$	0,0026	$4,07 \times 10^{-7}$	0,0485	0,9940
120 bar	0,0638	0,6543	$6,40 \times 10^{-14}$	0,0012	$1,23 \times 10^{-8}$	0,0126	0,9924
180 bar	0,0842	0,8477	$2,10 \times 10^{-14}$	0,0015	$7,76 \times 10^{-9}$	0,0262	0,9974
200 bar	0,3084	0,8201	$2,20 \times 10^{-14}$	0,0028	$2,04 \times 10^{-9}$	0,0351	0,9921

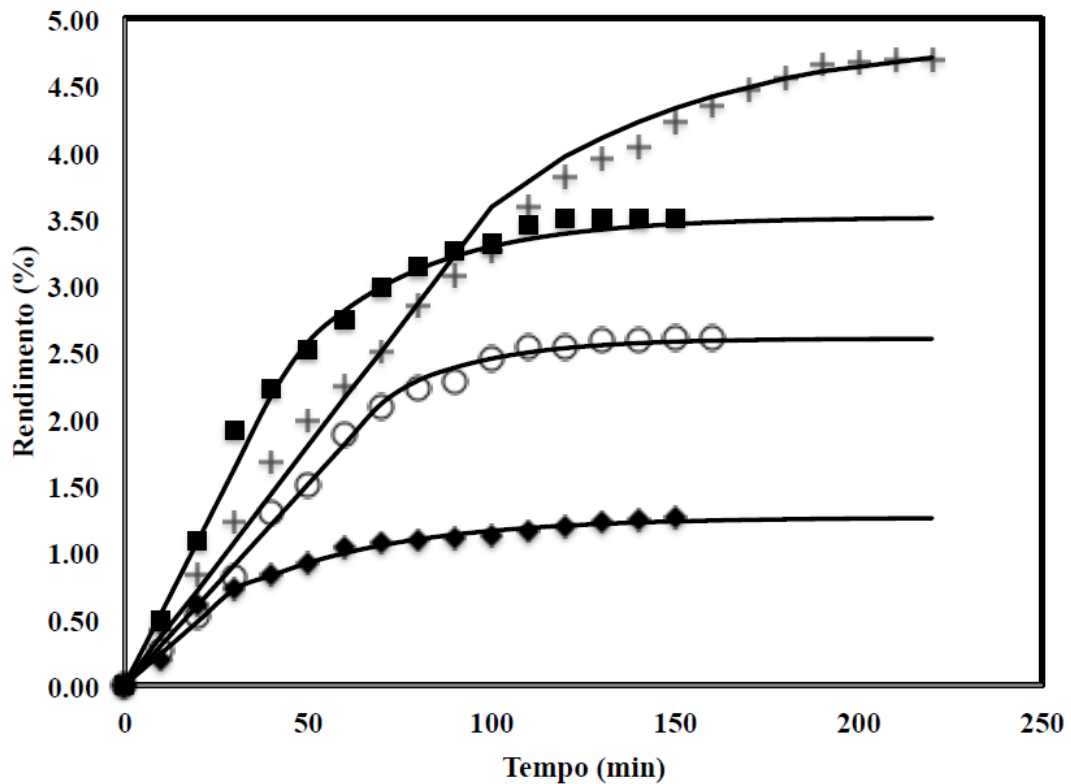


Figura 5.10. Curvas do rendimento de extrato obtido por extração supercrítica de *Ageratum conyzoides* para pressões de + P=90 bar, ◆ P=120 bar; ○ P=150 bar e ■ P=200 bar). Linhas contínuas representam os dados do modelo matemático ajustado com os parâmetros.

6. CONCLUSÃO

A extração com fluido supercrítico produziu rendimentos expressivos e seletividade mais elevada, sugerindo aplicabilidade na extração dos precocenos I e II a partir de *Ageratum conyzoides*. No que diz respeito aos resultados obtidos, a extração com dióxido de carbono supercrítico (90 bar) produziu 42 vezes mais cromenos, quando comparada com o processo de destilação por arraste a vapor a 2 bar, considerando uma mesma quantidade de planta.

A cinética de extração considerando o modelo de fluxo pistonado no extrator foi descrita adequadamente pelo modelo matemático tanto para representar os dados experimentais da extração supercrítica como para a extração por arraste a vapor. As curvas de extração foram bem ajustadas ao se empregar os valores de parâmetros determinados com a técnica de minimização do quadrado da diferença entre os valores experimentais e teóricos. Estes parâmetros podem apoiar o trabalho futuro de mudança de escala de acordo com a discussão promovida por Prado, Veggi e Meireles (2014). No que diz respeito à extração por destilação a vapor, observou-se que o rendimento em termos de cromenos para diferentes condições de pressão estudadas apresentam comportamento oposto ao da seletividade.

REFERÊNCIAS

AALBERSBERG, W.G.L.; SINGH, Y. Essential oil of Fijian *Ageratum conyzoides* L. **Flavour and Fragrance Journal**, Chichester, PO, v. 6, n. 117, 1991.

ADAMS, R. P. **Identification of essential oil components by gas chromatography / mass spectrometry**. 4. ed. Carol Stream, Ill.: Allured, 2007.

ALBUQUERQUE, M.B. de et al. Allelopathy, an alternative tool to improve cropping systems: a review. **Agronomy for Sustainable Development**, v. 31, n. 379, 2011.

ALMEIDA, R. N. et al. Supercritical extraction of *Hypericum caprifoliatum* using carbon dioxide and ethanol + water as co-solvent. **Chemical Engineering and Processing: Process Intensification**, v. 70, n. 95, 2013.

BANDONI, A. L. **Los recursos vegetales aromáticos en Latinoamérica: su aprovechamiento industrial para la producción de aromas y sabores**. Argentina: Ed. Universidad Nacional de La Plata, 2000.

BARROS, F.M.C. et al. Supercritical extraction of phloroglucinol and benzophenone derivatives from *Hypericum carinatum*: quantification and mathematical modeling. **Journal of Separation Science**, v. 34, n. 3107, 2011.

BARROSO, M.S.T. **Estudo sobre processos de obtenção de extratos de *Achyrocline satureioides* (lam) DC. e sua potencialidade na perfumaria**. Porto Alegre. 2011. 66 fls. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em

Engenharia e Tecnologia de Materiais, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2011.

BARTLE, K. D. et al. A model for dynamic extraction using a supercritical fluid. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 3, p. 143-149, 1990.

BARTON, P.; HUGHES, R.E.; HUSSEIN, M.M. Supercritical carbon dioxide of peppermint and spearmint. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 5, p. 157, 1992.

BENYOUSSEF, E.H. et al. Modélisation du transfert de matière lors de l' extraction de l' huile essentielle des fruits de coriandre. **Chemical Engineering Journal**, v. 85, p. 1-5, 2002.

BORSATO, A. V. Rendimento e composição química do óleo essencial da camomila [*Chamomilla recutita* (L.) Rauschert] submetida à secagem à 70° C. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 28, n. 4, p. 635-644, out./dez. 2007.

BORSATO, A. V. et al. Rendimento e composição química do óleo essencial da camomila [*Chamomilla recutita* (L.) Rauschert] extraído por arraste de vapor d'água, em escala comercial. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 29, n. 1, p. 129-136, jan./mar. 2008.

BOWERS, W.S. et al. Discovery of insect anti-juvenile hormone in plants. **Science**, v. 193, p. 542-547, 1976.

BRUNETON, J. **Elementos de Fitoquímica y de Farmacognosia**. Zaragoza: Editorial Acribia, 1991.

BRUNNER, G. Mass transfer from solid material in gas extraction. **Berichte der Bunsengesellschaft für physikalische Chemie**, v. 88, p. 887-891, 1984.

BURKILL, H.N. **The useful Plants of West Tropical Africa**. 2. ed. Kew: Royal Botanic Gardens, 1985. p. 456-596.

CALLE, J. et al. Insecticidal activity of the petroleum ether extract of *Ageratum conyzoides* L. **Revista Colombiana de Química**, v. 19, n. 1, p. 91-96, 1990.

CARGNIN, S.T. et al. Supercritical fluid extraction and high performance liquid chromatographic determination of benzopyrans and phloroglucinol derivative in *Hypericum polyanthemum*. **Journal of Chromatography B**, v. 878, n. 83, 2010.

CASSEL, E.; SERAFINI, L. Produção de óleos essenciais: uma alternativa para a agroindustrial nacional. In: SERAFINI, L. A.; BARROS, N. M.; AZEVEDO, J. L. (Coord.). **Biotecnologia na agricultura e na agroindústria**. Guaíba: Agropecuária, 2001. p. 333-377.

CASSEL, E.; BEDINOT, C.; VARGAS, R. M. V. **Equipamento de extração supercrítica e processo de obtenção de extratos**. BR, PROV020110081175, 2011.

CASSEL, E.; VARGAS, R. M. F. Experiments and modeling of the *Cymbopogon winterianus* essential oil extraction by steam distillation. **Journal of the Mexican Chemistry Society**, Ciudad de Mexico, v. 50, n. 3, p. 126-129, 2006.

CASSEL, E.; VARGAS, R. M. F.; BRUN, G. W. Processos de extração supercrítica aplicados a produtos naturais. In: CASSEL, E.; ROCHA, L. M. (Org.). **Fundamentos de tecnologia de productos fitoterapéuticos**. Porto Alegre: EDIPUCRS, 2008.

CASSEL, E.; VARGAS, R. M. F.; BRUN, G. W. Supercritical extraction of essential oil from *Ilex paraguariensis* leaves. **Natural Product Communications**, Westerville, OH, v. 3, n. 3, p. 373-378, 2008.

CASSEL, E. et al. Supercritical fluid extraction of alkaloids from *Ilex paraguariensis* St. Hil. **Journal of Food Engineering**, St Louis, MO, v. 100, n. 4, p. 656-661, out. 2010.

CASSEL, E.; VARGAS, R. M. F.; BEDINOT, C. Unidad piloto de extracción supercrítica automatizada. In: **Aplicaciones industriales de los taninos vegetales: productos y procesos**. Porto Alegre: EDIPUCRS, 2007. p. 95-102.

CASSEL, E. et al. Steam distillation modeling for essential oil extraction process. **Industrial Crops and Products**, Amsterdam, v. 29, n. 1, p. 171-176, jan. 2009.

CASTRO, H.G. et al. Teor e composição do óleo essencial de cinco acessos de mentrasto. **Química Nova**, São Paulo, v. 27, n. 1, p. 55-57, 2004.

CERPA, M. G.; MATO, R. B.; COCERO, M. J. Modeling steam distillation of essential oils: application to lavandin super oil. **AIChE Journal**, Chichester, PO, v. 54, n. 4, p. 909-917, abr. 2008.

COLLINS, C.H.; BRAGA, G.L.; BONATO, P.S. **Fundamentos de Cromatografia**. Campinas, SP: Editora da UNICAMP, 2006.

ESCOBAR, B. T.. **Avaliação psicofarmacológica de Ageratum Conyzoides L. Asteraceae**. Criciúma. 2007. 74 fls. Dissertação (Mestrado) – Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Universidade do Extremo Sul Catarinense, Criciúma, 2007.

FERREIRA, S. R. S.; MEIRELES, M. A. A. Modeling the supercritical fluid extraction of black pepper (*Piper nigrum* L.) essential oil. **Journal of Food Engineering**, St Louis, MO, v. 54, n. 4, p. 263-269, out. 2002.

FOUST, A. S. et al. **Principles of Unit Operations**. 2. ed. John Wiley & Sons: New York, 1980.

GASPAR, F. et al. Modelling the Extraction of Essential Oils with Compressed Carbon Dioxide. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 25, p. 247-260, 2003.

GOTO, M.; SATO, M. Extraction of peppermint oil by supercritical carbondioxide. **Journal of Chemical Engineering of Japan**, v. 26, n. 401, 1993.

GROSSO, C. et al. Mathematical modelling of supercritical CO₂ extraction of volatile oils from aromatic plants. **Chemical Engineering Science**, St Louis, MO, v. 65, n. 11, p. 3579-3590, jun. 2010.

GUENTHER, E. **The essential oils**. Florida: Krieger Publishing Company, 1976. v. 1, 2 e 3.

HAREL, D. et al. Natural product derived antiprotozoal agents: synthesis, biological evaluation, and structure-activity relationships of novel chromene and chromane derivatives. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 56, n. 7442, 2013.

HARRIS, D. C. **Análise Química Quantitativa**. 5. ed. Rio de Janeiro: LTC – Livros Técnicos e Científicos S.A., 2001.

HONARVAR, B. et al. Mathematical modeling of supercritical fluid extraction of oil from canola and sesame seeds. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v. 30, n. 1, p. 159-166, 2013.

JARDOSH, H.H.; PATEL, M.P. Microwave-assisted CAN-catalyzed solvent-free synthesis of *N*-allyl quinolone-based pyrano[4,3-*b*]chromene and benzopyrano[3,2-*c*]chromene derivatives and their antimicrobial activity. **Medicinal Chemistry Research**, v. 22, n. 905, 2013.

KANDIAH, M.; SPIRO, M. Extraction of ginger rhizome: kinetic studies with supercritical carbon dioxide. **International Journal Food Science Technology**, v. 25, p. 328, 1990.

KONG, C. et al. Allelochemicals and their transformations in the *Ageratum conyzoides* intercropped citrus orchard soils. **Plant and Soil**, v. 264, n. 149.10, p. 11, 2004.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. 2. ed. São Paulo: Instituto Plantarum, 2008.

LUCAS, A. **Estudo comparativo de extratos voláteis de eucaliptos geneticamente modificados e não geneticamente modificados**. Porto Alegre. 2011. 76 fls. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Tecnologia de Materiais) – Programa de Pós-Graduação em engenharia e Tecnologia e Materiais, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2011.

MLADENOCIC, M.. et al. *In vitro* antioxidant activity of selected 4-hydroxy-chromene-2-one derivatives - SAR, QSAR and DFT studies. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 12, n. 2822, 2011.

OKUNADE, A.L. *Ageratum conyzoides* L. (Asteraceae). **Fitoterapia**, v. 73, n. 1, p. 1-16, 2002.

PEKER, H. et al. Caffeine extraction rate from coffee beans with supercritical carbon dioxide. **AIChE Journal**, v. 38, n. 761, 1992.

PEREIRA, C.; MEIRELES, M.A.A. Supercritical fluid extraction of bioactive compounds: fundamentals, applications and economic perspectives. **Food and Bioprocess Technology**, v. 3, n. 340, 2010.

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

POVH, N. P. et al. Extraction of essential oil and oleoresin from chamomile (*Chamomilla recutita* [L.] Rauschert) by steam distillation and extraction with organic solvents: a process design approach. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 4, n. 1, p. 1-8, 2001.

PRADO, J.M.; VEGGI, P.C.; MEIRELES, M.A.A. Supercritical fluid extraction of lemon verbena (*Aloysia triphylla*): Process kinetics and scale-up, extract chemical composition and antioxidant activity, and economic evaluation. **Journal of Separation Science**, v. 49, n. 569, 2014.

REIS-VASCO, E.M.C. et al. Mathematical modelling and simulation of pennyroyal essential oil supercritical extraction. **Chemical Engineering Science**, v. 55, n. 5, p. 2917-2922, ago. 2000.

REVERCHON, E. Mathematical modeling of supercritical extraction of sage oil. **AIChE Journal**, Chichester, PO, v. 42, n. 6, p. 1765-1771, jun. 1996.

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

REVERCHON, E.; DONSI, G.; OSSÉO, L. S. Modeling of supercritical fluid extraction from herbaceous matrices. **Industrial and Engineering Chemistry Research**, Washington, DC, v. 32, n. 11, p. 2721-2726, 1993.

SCHEFFER, J. J. C. The isolation of essential oils-factors influencing the oil composition. **Acta Horticulturae**, v. 344, p. 2-8, 1993.

SERAFINI, L. A.; BARROS, N. M.; AZEVEDO, J. L. **Biotecnologia na agricultura e na agroindústria**. Guaíba: Agropecuária, 2001.

SERAFINI, L. A.; BARROS, N.M.; AZEVEDO, J. L. **Biotecnologia: avanços na agricultura e na agroindústria**. Caxias do Sul, RS: EDUCS, 2002.

SOVOVÁ, H. Rate of vegetable oil extraction with supercritical CO₂—I modelling of extraction curves. **Chemical Engineering Science**, St Louis, MO, v. 49, n. 3, p. 409-414, 1994.

SOVOVÁ, H.; ALEKSOVSKI, S. A. Mathematical model for hydrodistillation of essential oils. **Flavour and Fragrance Journal**, Chichester, PO, v. 21, n. 6, p. 881-889, 2006.

SOVOVÁ, H. Steps of supercritical fluid extraction of natural products and their characteristic times. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 66, p. 73-79, 2012.

STEFFENS, A.H. **Estudo da composição química dos óleos essenciais obtidos por destilação por arraste a vapor em escala laboratorial e industrial.** Porto Alegre. 2010. 68 fls. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em engenharia e Tecnologia e Materiais, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2010.

STEINBECK, C. et al. Identification of two chromenes from *Calea serrata* by semiautomatic structure elucidation. **Journal of Natural Products**, v. 60, p. 627-628, 1997.

STOLZ, E.D. et al. Uliginosin B presents antinociceptive effect mediated by dopaminergic and opioid systems in mice. **Progress in Neuro-psychopharmacology & Biological Psychiatry**, v. 39, n. 80, 2012.

TAYLOR, L. T. **Supercritical fluid extraction.** New York: John Wiley & Sons, 1996.

VARGAS, R.M.F. et al. Supercritical extraction of carqueja essential oil: experiments and modeling. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, São Paulo, v. 23, n. 3, p. 375-382, jul./set., 2006.

VIEIRA, S.S. et al. Composição química e atividade fungitóxica do óleo essencial de *Ageratum conyzoides* L. (Mentrasto). **Magistra**, Salvador, v. 24, n. 1, p. 55-62, 2012.

WOLFFENBUTTEL, A. N. **Base da química dos óleos essenciais e aromaterapia: abordagem técnica e científica.** São Paulo: Roca, 2010.

ZIZOVIC, I. et al. Supercritical carbon dioxide extraction of sesquiterpenes from valerian root. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 43, n. 249, 2007.