

UNICAMP

**Universidade Estadual de Campinas
Faculdade de Engenharia Química
Área de Concentração: Engenharia de Processos**

Extração e Recuperação dos Princípios Ativos do Café Utilizando Fluidos Supercríticos

Alvaro Bandeira Antunes de Azevedo

Mestre em Engenharia Química

Orientador: Prof. Dr. Theo Guenter Kieckbusch

Co-Orientador: Prof. Dr. Paulo Mazzafera

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

Tese de Doutorado apresentada à Faculdade de Engenharia Química da Universidade Estadual de Campinas como parte dos requisitos para a obtenção de título de Doutor em Engenharia Química.

Campinas-São Paulo

Março de 2005

**UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL
SEÇÃO DE...**

UNIDADE	FC
Nº CHAMADA	UNICAMP
	AZ 25 e
V	EX
TOMBO BC/	63400
PROC.	16 P.00086.05
C	<input type="checkbox"/>
D	<input checked="" type="checkbox"/>
PREÇO	11,00
DATA	12/05/05
Nº CPD	51610 249293

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

Az25e Azevedo, Alvaro Bandeira Antunes de
Extração e recuperação dos princípios ativos do café
utilizando fluidos supercríticos / Alvaro Bandeira
Antunes de Azevedo.--Campinas, SP: [s.n.], 2005.

Orientadores: Theo Guenter Kieckbusch, Paulo
Mazzafera e Sílvio Alexandre Beisl Vieira de Melo.
Tese (Doutorado) - Universidade Estadual de
Campinas, Faculdade de Engenharia Química.

1. Extração com fluido supercrítico. 2. Adsorção. 3.
Óleo de café. 4. Cafeína. 5. Café. I. Kieckbusch, Theo
Guenter. II. Mazzafera, Paulo. III. Melo, Sílvio
Alexandre Beisl Vieira de. IV. Universidade Estadual de
Campinas. Faculdade de Engenharia Química. V. Título.

Título em Inglês: Supercritical fluid extraction and separation of coffee active principles

Palavras-chave em Inglês: Supercritical fluid extraction, Adsorption, Coffee oil,
Caffeine e Coffee

Área de concentração: Engenharia de Processos

Titulação: Doutor em Engenharia Química

Banca examinadora: Pedro Alcântara Pessoa Filho, Fernando Luiz Pellegrini Pessoa,
Paulo de Tarso Viera e Rosa e Fernando Antônio Cabral

Data da defesa: 11/03/2005

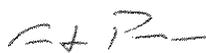
Tese de Doutorado defendida por Alvaro Bandeira Antunes de Azevedo e aprovada em 11 de março de 2005 pela banca examinadora constituída pelos doutores:



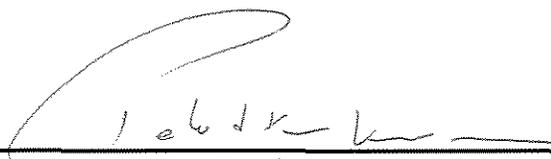
Prof. Dr. Theo Guenter Kiechbusch
DTF/FEQ/UNICAMP-Orientador



Prof. Dr. Pedro Alcântara Pessoa Filho
Poli-USP (titular)



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



Dr. Paulo de Tarso Vieira e Rosa
Prodoc/Capes/Fea (titular)



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

56507533

Este exemplar corresponde à versão final da Tese de Doutorado em Engenharia Química, defendida pelo Msc Eng. Alvaro Bandeira Antunes de Azevedo e aprovada pela banca examinadora em Março de 2005.



Prof. Dr. Theo Guenter Kieckbusch

Orientador

Dedicatória:

**Este trabalho é dedicado à memória do
Prof. Dr. Rahoma Sadeg Mohamed.**

Agradecimentos:

A Capes e a Fapesp pelo auxílio financeiro.

Aos Professores Theo Guenter Kieckbusch, Paulo Mazzafera e Sílvio Alexandre B. Vieira de Melo, pela orientação e ensinamentos que muito contribuíram para a qualidade deste trabalho.

Aos amigos da oficina mecânica da FEQ/Unicamp, pela amizade e presteza.

Aos colegas do laboratório: Uiran, Lílian e Ronaldo, pelos anos de agradável convívio.

Ao colega Alexandre Tashima pela amizade e colaboração na modelagem matemática.

A Érica pelos anos de amizade e companheirismo.

Aos amigos de todas as horas: Djou, Bugalu, Leo, Sadan, Urso e Baco.

À minha família, pelo amor, carinho e dedicação. Sempre incondicionais e constantes, que muito contribuíram para o meu equilíbrio e, sempre me serviram de referência.

Aos amigos recentes pelo apoio e pelas boas horas de conversa e risadas.

E a todos aqueles que de forma direta ou indireta contribuíram para a realização deste trabalho.

Resumo:

Princípios ativos obtidos diretamente de produtos naturais são largamente utilizados pelas indústrias como matéria prima na formulação de alimentos, medicamentos e cosméticos. A recuperação e purificação destes compostos, por processos convencionais, é laboriosa e em muitos casos inviável. A versátil tecnologia que utiliza CO₂ supercrítico como solvente apresenta-se como uma alternativa a estes processos. Neste trabalho, visou-se à aplicação desta tecnologia, explorando o uso de co-solventes (metanol, etanol e isopropanol) e de colunas de adsorção (empacotadas com sílica-gel e resina aniônica) para a extração e separação de princípios ativos do café (óleo, cafeína e ácidos clorogênicos) a partir dos grãos verdes. Este trabalho contemplou ainda o projeto e fabricação, com tecnologia própria, de uma unidade experimental de extração modular multipropósito para a realização e desenvolvimento de processos a pressões de até 60 MPa. O processo proposto neste trabalho baseou-se em intercalar etapas de extração com etapas de separação utilizando colunas de adsorção e modificações na polaridade do solvente por adição de co-solventes. Os resultados obtidos mostraram bons rendimentos de extração e de separação dos componentes. O óleo de café foi extraído com rendimentos da ordem de 90%, a cafeína com rendimentos da ordem de 100% e os ácidos clorogênicos com rendimentos da ordem de 82%, em comparação com os métodos convencionais de extração. Análises cromatográficas do óleo de café refinado mostraram que um significativo grau de refino foi alcançado e que a cafeína e os ácidos clorogênicos foram concentrados e recuperados através de etapas de adsorção e dessorção. O protótipo da unidade de extração foi construído e apresentou bons resultados nos testes de pressão e vazamento.

Palavras chaves: Fluido supercrítico, Co-solventes, Extração, Adsorção, Co-solvente, Café, Óleo, Ácido-clorogênico, Cafeína.

Abstract:

Active principles obtained from natural products are widely used as raw materials for a large number of cosmetics, pharmaceutical and food products. The recovery of these compounds by conventional processes is laborious and in many cases may cause irreversible damages. The versatile supercritical solvents technology rises as an alternative to these processes. The aim of this work is the application of supercritical solvents technology, using co-solvents (methanol, ethanol and isopropanol) and adsorption columns (packed with silica-gel or anion-exchange resins) for the extraction and recovery of oil, caffeine and chlorogenic acids from green coffee beans. This work also includes the project and building, with own technology, of a modular multipurpose extraction apparatus for the design and accomplishment of processes until 60 MPa. The proposed process is based on the sequential steps of extraction and separation using adsorption columns and changes in solvent polarity. The obtained results show high extraction yields and separation factors of the compounds. The green coffee oil extraction yields is almost 90%, caffeine almost 100%, and chlorogenic acids almost 82%. Chromatographic analysis of the refined oil show that the desired refine level was achieved and that caffeine and chlorogenic acids can be concentrated and recovered by adsorption / desorption steps. The prototype of the new extraction unit was also build and preliminary tests show good results for pressure resistance and gas leakage.

Keywords: Supercritical fluids, Extraction, Co-solvents, Adsorption, Oil, Coffee, Caffeine, Chlorogenic acids.

Nomenclatura:

[A]	Concentração molar do soluto na fase vapor
[B]	Concentração molar do solvente
[AB _k]	Concentração molar do complexo de solvatação
K	Constante de equilíbrio
k	Parâmetro de associação
ΔH_{sov}	Entalpia de solvatação
ΔH_{vap}	Entalpia de vaporização
q _s	Constante
q _v	Constante
R	Constante universal dos gases
T	Temperatura
C	Concentração do soluto no solvente
MA	Massa molecular do soluto
MB	Massa molecular do solvente
l _i	Valor das interseções

a Parâmetro da Equação de Chrastil

b Parâmetro da Equação de Chrastil

D Densidade do Solvente

ϕ_i - coeficientes de fugacidade de cada espécie

$P_i^{sub}(T)$ - pressão de sublimação do sólido puro à temperatura T ,

P - pressão de equilíbrio

v_i^s - volume molar do sólido puro

R - constante universal dos gases

ϕ_i^{SC} - coeficiente de fugacidade do soluto na fase leve

a- parâmetro atrativo da equação de Peng-Robinson

b- parâmetro repulsivo da equação de Peng-Robinson

δ_{ij} - parâmetro de interação da regra de mistura

α_{ij} – parâmetro de interação binário do termo atrativo

β_{ij} – parâmetro de interação binário do termo atrativo

η_{ij} – parâmetro de interação binário do termo repulsivo.

Sumário:

CAPÍTULO 1- CAPÍTULO 1: Introdução e relevância da pesquisa.	01
CAPÍTULO 2: Revisão da literatura	09
2.1- Produto natural: café	09
2.2- Ácidos clorogênicos	10
2.2.1- Propriedades terapêuticas	12
2.2.2- Produção dos ácidos clorogênicos	13
2.3- Cafeína	14
2.3.1 - Efeitos fisiológicos e aplicações	15
2.3.2- Produção	16
2.4 – Lipídios	17
2.4.1- Aplicações e efeitos funcionais e fisiológicos.	19
2.4.2- Recuperação	19
2.5- Fluidos supercríticos	20
2.5.1 Sistemas: fluidos supercríticos – soluto	23
2.5.2 Comportamento retrógrado como estratégia de separação	35
2.5.3-Co-solventes: efeitos cinéticos e termodinâmicos	40
2.6- Princípios de adsorção	45
2.6.1 Materiais adsorventes	49
2.7 Acoplamento de outras operações unitárias ao processo de extração	52
2.8 Extração supercrítica de princípios ativos de produtos naturais	59
CAPÍTULO 3 : Objetivos do trabalho de pesquisa	65
3.1 Objetivo geral	65
3.2 Objetivos específicos	65

CAPÍTULO 4: Materiais e métodos	67
4.1- Matéria prima	67
4.2 Equipamentos de extração supercrítica	68
4.3 Determinação da solubilidade dos compostos de interesse em CO ₂ puro	71
4.3.1 Solubilidade de cafeína	71
4.3.2 Ensaios de solubilidade do óleo bruto de café verde	72
4.4 Extração dos princípios ativos do café utilizando CO ₂ puro e adicionado de co-solventes	72
4.5 Ensaios de refino do óleo de café utilizando colunas de adsorção	73
4.6 Ensaios de extração sequencial por mudança de polaridade do solvente	74
4.7 Separação utilizando resinas de troca iônica	75
4.8 Métodos analíticos	76
4.8.1 Determinação da concentração de cafeína por espectrofotometria	76
4.8.2 Análise do teor total de fenóis	76
4.8.3 Determinação dos isômeros do ácido clorogênico por cromatografia líquida de alta performance	77
4.8.4 Determinação de cafeína por cromatografia líquida de alta performance	77
4.8.5 Análise da composição do óleo de café por CLAE	78
4.8.6 Análise de açúcares solúveis totais por espectrofotometria	78
CAPÍTULO 5. Resultados e discussões	79
5.1 Validação do equipamento e metodologia experimental (solubilidade de cafeína)	79
5.2- Comportamento de extração e de solubilidade do óleo bruto de café verde	81
5.3-Fracionamento e refino do óleo bruto de café verde	95

5.4- Extração de cafeína, ácidos clorogênicos e óleo de café	112
5.4.1 Extração do óleo de café	112
5.4.2 Extração de cafeína	119
5.4.3 Extração dos ácidos clorogênicos	124
5.5- Extração Sequenciada – mudança de polaridade do solvente	126
5.5.1 Primeira etapa do processo de extração	128
5.5.2 Segunda etapa do processo de extração	134
5.5.2.1 Adição de metanol	135
5.5.2.2 Adição de etanol	135
5.5.2.3 Adição de Isopropanol	136
5.5.3 Efeito das Variáveis de Processo	136
5.5.4 Efeito da polaridade do solvente	138
5.5.4.1. Efeito do co-solvente na seletividade	142
5.6 Projeto e construção do protótipo de um sistema modular de extração supercrítica	145
5.6.1 Introdução	145
5.6.2 Descrição do Sistema	147
5.6.3 Funcionamento do sistema	154
CAPÍTULO 6. Principais conclusões e recomendações	157
6.1 Conclusões	157
6.2 Recomendações para trabalhos futuros	159
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	161
APÊNDICE	187

A.1 Modelagem termodinâmica	187
A.1.1 Correlação de solubilidade do óleo de café	187
A.2 Correlação da solubilidade da cafeína	192
A3. Correlação de solubilidade do óleo de café e da cafeína	195
A3.1 Correlação de solubilidade do óleo de café.	195
A.4 Correlação dos dados de solubilidade da cafeína.	198

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 2.1 Ácido 5-cafeoilquínico	11
Figura 2.2 Fórmula estrutural da cafeína.	12
Figura 2.3 Solubilidade da Cafeína no CO ₂ (Saldaña et al., 1999)	21
Figura 2.4 Composição local versus pressão para uma concentração bulk constante de 0,051 (fração molar) a 44, 62 e 122 °C (Yonker e Smith, 1988)	25
Figura 2.5 Composição local versus pressão a temperatura constante e concentrações bulk de 0,051, 0,106 e 0,132 (fração molar) (fonte: Yonker e Smith, 1988).	26
Figura 2.6a Acompanhamento dos parâmetros π e β em função da densidade reduzida para diferentes misturas supercríticas de CO ₂ /metanol	28
Figura 2.6b Acompanhamento dos parâmetros π e β em função da densidade reduzida para diferentes misturas supercríticas CO ₂ / <i>n</i> -alcanóis a uma composição constante. (fonte: Bulgarevich et al. 2002).	29
Figura 2.7 Efeito de co-solvente em função da pressão a 333.1 K e com concentração de 5,25 % em mol de co-solvente. (Ting et al., 1993b).	34
Figura 2.8 Regimes de crossover em um sistema quaternário (Chimowitz e Pennisi, 1986).	39
Figura 2.9 Solubilidade da monocrotalina e da matéria lipídica da <i>Crotalaria spectabilis</i> com 90% de CO ₂ e 10% de etanol. (Schaefer et al., 1988)	39
Figura 2.10 Solubilidade do revasterol em função da fração molar de etanol a diferentes pressões.	44
Figura 2.11 Modelos de isotermas de adsorção (Romanielo, 1999)	47
Figura 4.1 Equipamento de extração supercrítica.	69
Figura 5.1 Dados de solubilidade de cafeína em CO ₂ supercrítico.	80
Figura 5.2a Curvas de extração do óleo de café utilizando CO ₂ como solvente supercrítico a 50°C	83

Figura 5.2b Curvas de extração do óleo de café utilizando CO ₂ como solvente supercrítico a 60°C	83
Figura 5.2c Curvas de extração do óleo de café utilizando CO ₂ como solvente supercrítico a 70°C	84
Figura 5.3 Solubilidade do óleo de café em função da densidade do CO ₂	85
Figura 5.4 Solubilidade do óleo de café em função da pressão	86
Figura 5.5a Curvas de extração de cafeína utilizando CO ₂ supercrítico como solvente a 50°C	88
Figura 5.5b Curvas de extração de cafeína utilizando CO ₂ supercrítico como solvente a 60°C	88
Figura 5.5c Curvas de extração de cafeína utilizando CO ₂ supercrítico como solvente a 70°C	89
Figura 5.6 Concentração de equilíbrio da cafeína em CO ₂ supercrítico em função da pressão	91
Figura 5.7 Cromatograma do óleo bruto de café verde obtido por HPLC	94
Figura 5.8 Retenção (adsorção/dessorção) do óleo de café verde solubilizado em CO ₂ supercrítico em uma coluna empacotada com sílica-gel a 50 °C	98
Figura 5.9 Retenção (adsorção/dessorção) do óleo de café verde solubilizado em CO ₂ supercrítico em uma coluna empacotada com sílica-gel a 70 °C	98
Figura 5.10a Retenção (adsorção/dessorção) do óleo de café verde solubilizado em CO ₂ supercrítico a 28,3 MPa usando uma coluna empacotada com sílica-gel	101
Figura 5.10b. Retenção (adsorção/dessorção) do óleo de café verde solubilizado em CO ₂ supercrítico a 31,7 MPa usado uma coluna empacotada com sílica-gel.	102

Figura 5.10c Retenção (adsorção/dessorção) do óleo de café verde solubilizado em CO ₂ supercrítico a 35,2 MPa usando uma coluna empacotada com sílica-gel	103
Figura 5.11 Fotografia do Óleo de Café Obtido por Diferentes Processos.	106
Figura 5.12a Cromatograma obtido por HPLC do óleo de café bruto.	107
Figura 5.12b Cromatograma Obtido por HPLC do óleo de café fracionado com CO ₂ supercrítico.	107
Figura 5.12c Cromatograma obtido por HPLC do óleo de café verde refinado através de extração supercrítica acoplada a adsorção	108
Figura 5.12d Cromatograma obtido por HPLC da fração dessorvida da coluna	108
Figura 5.13a Curvas de retenção (adsorção/dessorção) a 50 °C da cafeína presente no óleo de café	109
Figura 5.13b Curvas de retenção (adsorção/dessorção) a 70 °C da cafeína presente no óleo de café.	110
Figura 5.14a Curvas de extração do óleo de café utilizando CO ₂ supercrítico	113
Figura 5.14b Curvas de extração do óleo de café utilizando a mistura CO ₂ / Etanol 5% (m/m) como solvente supercrítico.	113
Figura 5.14c Curvas de extração do óleo de café utilizando a mistura CO ₂ / Isopropanol 5% (m/m) como solvente supercrítico	114
Figura 5.15a Razão de extração do óleo de café verde em função da pressão utilizando CO ₂ como solvente supercrítico	116
Figura 5.15b Razão de extração do óleo de café verde em função da pressão utilizando a mistura CO ₂ /etanol (5% m/m) como solvente supercrítico	117
Figura 5.15c Razão de extração do óleo de café verde em função da pressão utilizando a mistura CO ₂ /isopropanol (5% m/m) como solvente supercrítico	118
Figura 5.16a Curvas de extração da cafeína dos grãos de café utilizando CO ₂ como solvente supercrítico	119

Figura 5.16b Curvas de extração da cafeína dos grãos de café utilizando a mistura CO ₂ /etanol (5% m/m) como solvente supercrítico	120
Figura 5.16c Curvas de extração da cafeína dos grãos de café utilizando a mistura CO ₂ /isopropanol (5% m/m) como solvente supercrítico	120
Figura 5.17a Razão de extração de cafeína dos grãos de café verde, utilizando CO ₂ como solvente supercrítico, em função da pressão	123
Figura 5.17b Razão de extração de cafeína dos grãos de café verde, utilizando a mistura CO ₂ /etanol (5% m/m) como solvente supercrítico, em função da pressão	123
Figura 5.17c: Razão de extração de cafeína dos grãos de café verde, utilizando a mistura CO ₂ /isopropanol (5% m/m) como solvente supercrítico, em função da pressão	124
Figura 5.18 Curvas de extração dos ácidos clorogênicos dos grãos de café utilizando CO ₂ /isopropanol 5% (m/m) como solvente supercrítico	126
Figura 5.19a Curvas de extração do óleo e da cafeína do processo de extração seqüenciada utilizando metanol como co-solvente	129
Figura 5.19b Curvas de extração dos ácidos clorogênicos do processo de extração seqüenciada utilizando metanol como co-solvente.	130
Figura 5. 20a Curvas de extração do óleo e da cafeína do processo de extração seqüenciada utilizando etanol como co-solvente.	131
Figura 5.20b Curvas de extração dos ácidos clorogênicos do processo de extração seqüenciada utilizando etanol como co-solvente	131
Figura 5. 21a: Curvas de extração do óleo e da cafeína do processo de extração seqüenciada utilizando isopropanol como co-solvente	132
Figura 5. 21b: Curvas de extração dos ácidos clorogênicos do processo de extração seqüenciada utilizando isopropanol como co-solvente	132
Figura 5.22a. Curvas de extração sequenciada da cafeína obtidas a 35,2 MPa para os diferentes co-solventes	139

Figura 5.22b. Curvas de extração sequenciada dos ácidos clorogênicos obtidas a 35,2 MPa para os diferentes co-solventes.	139
Figura 5.23a. Curvas de extração sequenciada da cafeína obtidas a 31,7 MPa para os diferentes co-solventes.	140
Figura 5.23b. Curvas de extração sequenciada dos ácidos clorogênicos obtidas a 31,7 MPa para os diferentes co-solventes.	140
Figura 5.24a Curvas de extração dos açúcares solúveis totais presentes nos extratos, tomando como padrão a sacarose, para diferentes co-solventes a 35,2 MPa.	143
Figura 5.24b Curvas de extração dos açúcares solúveis totais presentes nos extratos, tomando como padrão a sacarose, para diferentes co-solventes a 31,7 MPa.	143
Figura 5.25a Curvas de extração dos fenóis totais presentes nos extratos para os diferentes co-solventes, tomando como padrão fenol a 35,2 MPa.	144
Figura 5.25b Curvas de extração dos fenóis totais presentes nos extratos para os diferentes co-solventes, tomando como padrão fenol a 31,7 MPa	144
Figura 5.6.1 Equipamento completo	148
Figura 5.6.2 Módulo de alimentação.	149
Figura 5.6 3 Diagrama de Processo do Módulo de Alimentação	149
Figura 5.6.4 Módulo de extração	150
Figura 5.6.5- Diagrama de Processo do Módulo de Extração	151
Figura 5.6.6 – Módulo de separação	152
Figura 5.6.7- Diagrama de processo do módulo de separação	152
Figura 5.6.8 – Módulo de medição e coleta	153
Figura 5.6.9- Diagrama de processo do módulo de medição e coleta	154
Figura A.1 Ajuste da solubilidade do óleo de café verde em CO ₂ supercrítico à equação de Chrastil	197

Figura A2 Correlação das solubilidades para o sistema binário cafeína- CO₂ supercrítico utilizando a regra de mistura de van der Waals de

dois parâmetros. 199

Figura A3 Correlação das solubilidades para o sistema binário cafeína-CO₂ supercrítico utilizando a regra de mistura de Mohamed e Holder (1987) 200

Figura A4 Correlação das solubilidades para o sistema binário cafeína- CO₂ supercrítico utilizando a regra de mistura de Mohamed e Holder (1987) e a regra de mistura de van der Waals de 2 parâmetros para o termo repulsivo. 202

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 2.1 Composição dos grãos verdes de café (% base seca) (Clarke e Macrae, 1985)	10
Tabela 2.2 Principais lipídios presentes nos grãos de café (% peso) (Nikolova-Damyonova et al, 1999)	18
Tabela 2.3 Setores interessados na extração com fluidos supercríticos (Brunetti et al., 1985)	22
Tabela 5.1 Massa de cafeína alimentada e recuperada nos ensaios de extração do óleo bruto de café verde	87
Tabela 5.2 Solubilidade de cafeína em CO ₂ supercrítico	92
Tabela 5.3 Composição de triglicerídios (TAG) do óleo de café	94
Tabela 5.4 Composição média das frações de óleo de café considerando apenas os sete principais triglicerídios	95
Tabela 5.5 Balanço de massa dos ensaios de extração com sorção	112
Tabela A.1 Erros médios para as simulações de solubilidade de cafeína considerando o equilíbrio sólido fluido supercrítico (S-FSC) para as regras de misturas de van der Waals (1) , Mohamed e Holder (1987) (2) e Mohamed e Holder de três parâmetros (3)	202

CAPÍTULO 1: Introdução e relevância da pesquisa.

A indústria farmacêutica brasileira detém um mercado interno que movimentava em 1999 cerca de 9 bilhões de dólares, representando o décimo maior mercado do mundo. Deste montante, os medicamentos fitofármacos, produzidos a partir dos princípios ativos das plantas extraídos e purificados, foram responsáveis por 30% do total movimentado (Petrovick et al., 1999).

Somados os princípios ativos e os extratos de plantas, as exportações brasileiras geraram cerca de US\$22 milhões de dólares de receita para o país no ano de 1999 (Petrovick et al., 1999). Estas matérias primas foram utilizadas pelas indústrias internacionais para o desenvolvimento de medicamentos e cosméticos.

Entre os principais compostos utilizados como princípios ativos em medicamentos e cosméticos estão os alcalóides, antraquinonas, bálsamos e resinas, flavonóides, glicosídeos cardiotônicos, mucilagens e gomas, óleos essenciais, saponinas e taninos. Essa enorme quantidade de substâncias associadas à grande biodiversidade brasileira, que representa aproximadamente 20% das espécies do planeta, constitui um enorme mercado, potencialmente gerador de postos de trabalho, desenvolvimento das regiões produtoras e receitas para o país, além da descoberta de medicamentos para a cura das mais diversas e graves enfermidades.

Atentas a estas potencialidades, grandes empresas multinacionais e nacionais como a Merck, Glaxo-Wellcome e Natura estão promovendo pesquisas nesta área (Cordell, 2000). A Natura, com o apoio do FINEP formou um fundo de R\$ 60 milhões de reais para a pesquisa na área de princípios ativos utilizados em novos produtos cosméticos. Estes exemplos mostram a importância e potencialidades dos princípios ativos obtidos de produtos naturais como matéria prima para a formulação de cosméticos e fármacos, muitos destes apresentando elevados preços de mercado.

Os processos de desenvolvimento de um produto farmacêutico, cosmético ou alimentício apresentam entre as suas etapas constituintes a extração,

Capítulo I: Introdução.

concentração e purificação do princípio ativo que será utilizado. Uma vez que os princípios ativos estão geralmente presentes em pequenas concentrações nos produtos naturais, os processos de extração e purificação devem buscar alto rendimento com alta seletividade.

As técnicas atualmente aplicadas pelas indústrias são laboriosas e demoradas, fazem uso de substâncias tóxicas e de manipulação perigosa, utilizam severas condições de processo que favorecem a degradação dos produtos naturais, oferecem grandes riscos de ocorrência de acidentes danosos ao meio ambiente e ao operador do processo, além da geração de resíduos químicos indesejáveis. Como exemplo destas técnicas pode-se citar o processo de extração e purificação de alcalóides que utilizam amônia e clorofórmio. Outra técnica muito empregada nestas indústrias é o processo de extração por arraste a vapor (Wingrove e Caret, 1992, Mazan *et al.*, 2003).

Entre as alternativas emergentes, destaca-se a tecnologia de extração e purificação com fluidos supercríticos. Esta é uma tecnologia limpa, de alta seletividade, que gera produtos de qualidade superior, permite fácil separação do soluto e do solvente apenas por redução na pressão e/ou aumento da temperatura, não produz resíduos químicos e adota condições brandas de processo. Por isso é uma tecnologia recomendada para a extração de princípios ativos de produtos naturais, pois estes compostos em muitos casos são facilmente hidrolizáveis e termolábeis (McHugh e Krukonis, 1994). Apesar do alto custo de implantação desta tecnologia, que diminui com o aumento da escala do processo, os princípios ativos dos produtos naturais apresentam altos valores agregados que muitas vezes compensam o investimento inicial (Perrut, 2000).

Nos sistemas de extração supercrítica, utiliza-se como solvente uma substância a uma temperatura acima da sua temperatura crítica e a uma pressão acima da sua pressão crítica, caracterizando assim o que conhecemos como fluido supercrítico. Na região próxima ao ponto crítico, devido às altas compressibilidades e altos coeficientes de expansão dos fluidos, grandes variações na densidade são obtidas com pequenas mudanças na pressão e temperatura, respectivamente. Deste modo, os fluidos supercríticos têm uma grande vantagem sobre os solventes líquidos, que apresentam variações na

densidade apenas pela adição de um outro solvente, ou por alterações significativas na temperatura. Na região supercrítica, as difusividades das substâncias são intermediárias às dos gases e dos líquidos, a viscosidade das substâncias encontra-se próxima à da fase gasosa, possibilitando uma penetração mais rápida do solvente na matriz sólida e que pode resultar em processos mais eficientes de transferência de massa reduzindo substancialmente o tempo de extração necessário.

Dos processos estudados em escala laboratorial, pode-se citar a extração de óleos vegetais, o fracionamento de polímeros, a extração de agentes cromoterápicos e de princípios ativos de produtos naturais, a separação de isômeros, o tratamento de correntes residuais, a realização de reações em meio supercrítico, a precipitação de materiais pelo efeito antisolvente (GAS), a recuperação de pesticidas do solo, a catálise de reações, recuperação de metais pesados, a síntese de materiais em meio supercrítico, a impregnação de materiais com fluidos supercríticos, entre outros (McHugh e Krukoni, 1994; Hauntal, 2001).

No que diz respeito à utilização industrial da tecnologia de extração com fluidos supercríticos, pode-se citar algumas plantas comerciais em operação no mundo: descafeínização do café (Empresa: Jacobs Suchard), extração de pigmentos da pimenta vermelha (Empresa: Natural Care Byproducts), e a obtenção de fibras ópticas (Empresa: AT&T). Por outro lado, os processos empregados nessas indústrias constituem patentes (propriedade intelectual de empresas) ou segredo industrial, onde a maior parte das informações é mantida em sigilo.

A substância mais empregada como solvente nos processos de extração supercrítica de produtos naturais é o CO₂, por possuir uma pressão crítica moderada e uma baixa temperatura crítica, o que é muito importante quando se deseja concentrar substâncias termolábeis, como é o caso da maioria dos princípios ativos presentes nos produtos naturais. Entretanto, em alguns casos, a produtividade do processo é baixa devido à resistência a transferência de massa do composto de interesse da matriz vegetal para o CO₂ supercrítico, e dessa forma onerando o processo. Esta limitação pode ser contornada com a

Capítulo I: Introdução.

modificação das condições termodinâmicas de pressão e temperatura, e com utilização de co-solventes.

O aumento na pressão à temperatura constante resulta no aumento da densidade do solvente e conseqüentemente no aumento da solubilidade de uma certa substância no solvente supercrítico.

Já o efeito da temperatura está relacionado com o fenômeno da condensação retrógrada. Este é um fenômeno muito comum em sistemas contendo fluidos supercríticos e se caracteriza pela redução da solubilidade com o aumento da temperatura dentro de uma determinada faixa de pressão. A pressões próximas a pressão crítica, pequenos incrementos de temperatura resultam em grandes reduções na densidade do solvente e conseqüentemente do poder de solubilização. Ao mesmo tempo, incrementos da temperatura resultam em aumentos da pressão de vapor do soluto e, conseqüentemente, da volatilidade do composto, o que favorece o processo de solvatação. Estes são dois efeitos contrários e que exercem maior influência sobre a solubilidade do soluto em faixas de pressão distintas. Na proximidade do ponto crítico o efeito predominante é o da redução da densidade do solvente e a solubilidade diminui. Entretanto, à medida que a pressão é elevada, a variação da densidade do solvente com o aumento da temperatura é menos significativo e o efeito que passa a controlar o processo é o aumento da pressão de vapor do soluto, resultando em aumento da solubilidade com o aumento da temperatura. O valor de pressão onde estes efeitos se equivalem e se compensam é denominado pressão de cruzamento.

O uso de co-solventes (substâncias adicionadas em pequenas concentrações ao solvente supercrítico) pode resultar em grandes variações na solubilidade do soluto no fluido supercrítico, devido à modificação das interações intermoleculares entre os componentes no sistema em questão. Dependendo dos compostos presentes no sistema, o efeito do co-solvente pode ser atribuído a interações químicas, como pontes de hidrogênio e formação de complexos por transferência de carga, ou a forças de interação física, tais como as forças de atração eletrostática (dipolo-dipolo), indutiva (dipolo-dipolo induzido) e dispersiva (dipolo induzido - dipolo induzido), além do resultante aumento de densidade com a adição de co-solvente (Ekart et al., 1993; Lang e Wai, 2001). Os co-solventes

poderão influenciar também o fator de separação entre dois compostos, como pode ser verificado no trabalho de Brunner (1983). Este autor verificou, ainda, que altas solubilidades são incompatíveis com altas seletividades.

No âmbito da tecnologia de extração com fluidos supercríticos, a separação de uma mistura pode ser obtida por: 1) extração seletiva; 2) separação seletiva, ou 3) combinação das duas técnicas. Vale ressaltar que o custo de processamento e a produtividade do processo devem ser analisados antes de definir a rota tecnológica.

A extração seletiva depende da diferença no comportamento de solubilidade dos componentes da mistura no solvente em função das condições termodinâmicas. Os compostos que apresentarem maior afinidade físico-química com o solvente apresentarão maiores solubilidades. Podem-se extrair e separar gradualmente os diversos componentes da mistura até a remoção total de todos os compostos de interesse. Este processo pode ser realizado utilizando um solvente puro ou com a adição de co-solvente.

A separação seletiva é indicada quando a extração não pode ser seletiva e é realizada de forma a maximizar a quantidade extraída. Neste caso, a separação é realizada subseqüentemente em separadores dispostos em sistema de cascata, operando a diferentes condições de temperatura e pressão. Entre as diferentes combinações que podem ser impostas aos separadores, é particularmente interessante o comportamento da solubilidade, com a temperatura a pressão constante, onde o aumento de temperatura causa uma redução na solubilidade (comportamento retrógrado) (Chimowitz e Pennisi, 1986; Johnston et al., 1987; Teja et al. 1988; Chimowitz et al. 1988). Para que ocorra a precipitação seletiva dos componentes da mistura, é necessário que as condições de pressão e temperatura onde ocorrem os comportamentos retrógrados sejam suficientemente distintas (Afrane e Chimowitz, 1996). Bons resultados de separação utilizando esta técnica foram obtidos por Johnston et al. (1987) e Teja et al. (1988). Estes últimos autores conseguiram concentrar a monocrotalina, um importante princípio ativo utilizado no combate ao câncer, do extrato de *Monocrotalaria spectrabilis*.

Capítulo I: Introdução.

A separação seletiva dos componentes em uma mistura pode ainda ser obtida via o acoplamento de outras operações unitárias de transferência de massa ao processo de extração supercrítica. Nos trabalhos realizados pelo grupo de pesquisa em que se insere essa tese (Neves, 1996; Socantaype, 1996 e Mohamed et al. 1998, 2000), relatou-se a redução drástica do teor de colesterol no óleo de manteiga utilizando-se uma coluna de adsorção empacotada com alumina acoplada à unidade de extração supercrítica. A adsorção, associada à extração com fluidos supercríticos, foi também utilizada na separação de isômeros (Corzo et al., 2000), regeneração de leitos gastos e remoção de contaminantes de solos (Afrane e Chimowitz, 1995).

O sucesso da utilização dos processos de separação envolvendo a adsorção de compostos em leito fixo ou móvel requer um conhecimento adequado do comportamento termodinâmico do processo de adsorção (Ritter e Yang, 1987). Brunauer (1945) classificou as isotermas de equilíbrio dos processos de adsorção em cinco classes descritas por modelos diferenciados. Modelos termodinâmicos baseados na teoria das soluções ideais (Myers e Prausnitz, 1965), teoria do reticulado ("lattice models") (Lee e Chiand, 1992), e isotermas de adsorção de Langmuir (McQuarrie, 1973) são adequados para a modelagem do processo de adsorção a baixa pressão. Entretanto, o processo da adsorção de compostos sobre sólidos em meio supercrítico ainda conta com poucos estudos (Corzo et al, 2000; Afrane e Chimowitz 1996, 1995; Teja et al, 1988). A especificidade envolvida em cada sistema e a escassez de dados experimentais necessários à validação dos modelos propostos para a descrição deste processo é outro fator limitante ao desenvolvimento desta área.

A combinação das técnicas de extração seletiva e separação seletiva pode ser utilizada nos casos em que uma extração seletiva seqüencial não pode ser obtida para todos os compostos de interesse. Neste caso, o processo é conduzido de forma a recuperar seletivamente os compostos que são solúveis no solvente, variando ou não as condições de processo. Ao final desta etapa, procura-se extrair os compostos insolúveis no solvente, visando maximizar o rendimento de extração, através de mudanças na polaridade do solvente. Nesta

etapa uma perda de seletividade é esperada e uma seqüência de processos de separação pode ser utilizada.

Diante do exposto, observa-se a potencialidade dos processos envolvendo a tecnologia baseada no uso dos fluidos supercríticos. Entretanto, a complexidade das interações químicas e físicas entre os solventes e os solutos e a falta de uma compreensão adequada da cinética e termodinâmica dos processos de extração e adsorção em meio supercrítico, devido em parte à escassez de dados experimentais, são fatores limitantes ao desenvolvimento desta tecnologia, particularmente no que diz respeito aos sistemas envolvendo a recuperação dos princípios ativos de produtos naturais. Muitas informações sobre a utilização de co-solventes, a exploração do comportamento retrógrado e o acoplamento de outras operações unitárias à extração e recuperação de princípios ativos de produtos naturais ainda se fazem necessárias.

É para essa direção que apontam a vanguarda científica e os interesses de grande parte dos pesquisadores e empresas e é nesse contexto que esta tese de doutorado se insere, tendo por objetivo a exploração da aplicação da tecnologia de extração supercrítica, em suas possibilidades, para a recuperação de princípios ativos de produtos naturais brasileiros tomando como exemplos específicos a separação de cafeína, ácidos clorogênicos e o óleo dos grãos de café.

O café foi escolhido para realizar as atividades de pesquisa propostas nesta tese por ser depois da soja, o maior produto agrícola brasileiro de exportação, sendo o Brasil o seu maior produtor mundial. Os processos convencionais utilizados para a obtenção e recuperação dos princípios ativos do café apresentam riscos à saúde e ao meio ambiente, conforme citado anteriormente. Apesar do potencial terapêutico dos ácidos clorogênicos, a sua exploração comercial pelas indústrias de cosméticos e de fármacos ainda é muito limitada. Da ampla pesquisa bibliográfica realizada neste trabalho encontrou-se somente a citação da comercialização do isômero ácido 5-cafeioquínico comercializado pela companhia SIGMA. Verificou-se, porém, apenas a existência de patentes para a produção dos ácidos clorogênicos a partir de grãos de café

Capítulo I: Introdução.

com solventes orgânicos (FahyL e Nkiliza, 1996) e por meio de recuperação através de resinas poliméricas (HASEGAWA CO LTD. 1992,1997).

Portanto esta tese de doutorado apresenta uma contribuição original e inédita ao desenvolvimento científico de processos eficientes para a extração e recuperação de princípios ativos do café. Esses processos são baseados no uso de co-solventes, no acoplamento de operações unitárias ou exploração conjunta destas estratégias de extração e separação. Os conhecimentos gerados neste trabalho de pesquisa poderão ainda ser utilizados para o entendimento de fenômenos comuns aos processos de extração e separação de outros produtos naturais usando fluidos supercríticos.

Com base nos resultados obtidos durante o desenvolvimento deste trabalho de tese de doutorado através da inserção ou retirada de outras operações unitárias além da extração, visou-se também o desenvolvimento de uma unidade experimental multipropósito, com tecnologia nacional, para a realização e desenvolvimento de processos à pressões de até 600 bar.

No capítulo 2 deste texto é apresentada a revisão bibliográfica com os principais trabalhos da literatura científica que compõem o estado da arte do tema dessa tese de doutorado, e são apresentadas evidências experimentais e fundamentos teóricos constituíram a base para o avanço do conhecimento sobre extração e separação de princípios ativos de produtos naturais com fluidos supercríticos aqui alcançado.

No capítulo 3 deste texto os objetivos (geral e específicos) do trabalho. Os objetivos específicos representam os estudos individuais que foram realizados para se atingir o objetivo geral.

No capítulo 4 são descritos os materiais, métodos e equipamentos utilizados na realização desta tese.

No capítulo 5 são apresentados e discutidos os principais resultados obtidos nessa tese.

No capítulo 6 são apresentadas as principais conclusões do trabalho e sugestões para trabalhos futuros dentro da mesma linha de pesquisa.

CAPÍTULO 2: Revisão da literatura

2.1- Produto natural: café

O café é sem dúvida a bebida mais consumida em todo o mundo, com uma estimativa mundial de 400 bilhões de copos da bebida por ano. Isso representa aproximadamente um mercado de cerca de 103 milhões de sacas de 60 kg (ABIC, 2001). O preço do café é função direta da sua qualidade, que depende da composição química dos seus grãos (ABIC, 2001). Boa parte das pesquisas realizadas sobre o café visa determinar os fatores que influenciam a composição química dos seus grãos, e, conseqüentemente, a qualidade da bebida, e os efeitos dos seus componentes químicos sobre o organismo humano (Clifford, 1985, 1986; Clifford e Martinez, 1991; Menezes, 1990; 1994; Rogers e Derroncourt, 1998; Mazzafera, 1999; Nehlig e Boyet, 2000).

Na Tabela 2.1 é apresentada a composição química média das duas espécies de café mais cultivadas no mundo. Nesta tabela estão destacados em negrito os grupos de compostos identificados como os principais responsáveis pela qualidade da bebida, os que apresentam importantes efeitos terapêuticos utilizados como princípios ativos em medicamentos e aplicações industriais como ingredientes de alimentos, e os que podem ser responsáveis por efeitos nocivos à saúde.

Entre os princípios ativos presentes nos grãos de café, sem dúvida o mais conhecido e discutido é a cafeína. Recentemente Silvarolla et al. (2004) encontraram no banco de Germoplasma do café, mantido pelo IAC (Instituto Agrônomo de Campinas), um exemplar de café arábica que naturalmente não apresenta cafeína nos seus grãos.

Tabela 2.1 Composição dos grãos verdes de café (% base seca) (Clarke e Macrae, 1985)

Componentes	Arábica	Robusta
Minerais	3,0-4,2	4,0-4,5
Cafeína	0,9-1,2	1,6-2,4
Trigonelina	1,0-1,2	0,6-0,75
Lipídios	12-18	9,0-13,0
Total de Ácidos Clorogênicos	5,5-8,0	7,0-10,0
Ácidos Alifáticos	1,5-2,0	1,5-2,0
Oligossacarídios	6,0-8,0	5,0-7,0
Total de Polissacarídios	50,0-55,0	37,0-47,0
Aminoácidos	2,0	2,0
Proteínas	11,0-13,0	11,0-13,0

2.2- Ácidos clorogênicos

Ohiokpehai et al.(1982) estudaram o efeito dos ácidos clorogênicos no sabor do café. Estes autores realizaram testes sensoriais utilizando provadores voluntários e mostraram que a adição de di-isômeros do ácido dicafeoilquínico ao café conferia à bebida sabores metálico e adstringente (gosto de metal e sensação de secura na boca, respectivamente). São essas características da bebida que fazem dos cafés brasileiros uma bebida “dura” e preterida na composição dos “blends” realizados para obtenção de bebidas finas, pois cafés de qualidade superior possuem menores teores de ácidos clorogênicos (Clifford,1985) e maiores teores de açúcares totais (Chagas, 1994 *apud* Mazzafera, 1999).

Os ácidos clorogênicos(CGA) constituem os principais compostos fenólicos do café. São ésteres do ácido quínico com resíduos derivados do ácido cinâmico. O primeiro relato da descrição dessas substâncias é atribuído a Robiquet e Brouton (Clifford, 1985). Os ácidos clorogênicos podem ser subdivididos em grupos de isômeros, normalmente três por cada grupo, baseados no número e na identidade de seus componentes.

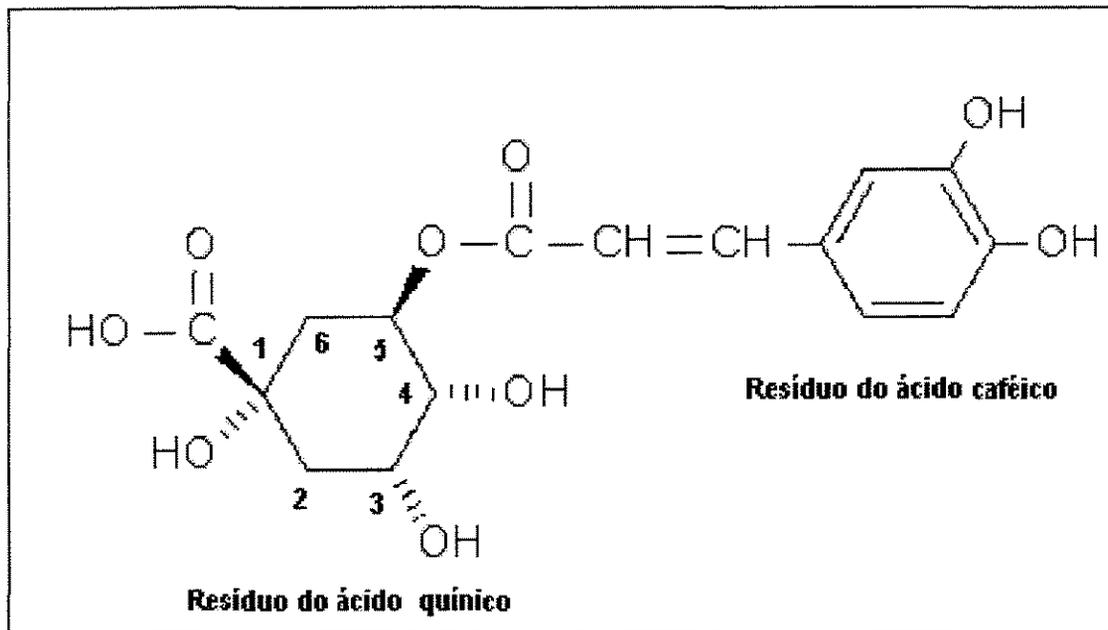


Figura 2.1 Ácido 5-cafeoilquínico

Assim, têm-se os ácidos cafeoilquínicos (ACQ), os dicafeoilquínicos (ADCQ), os ácidos feruoilquínicos (AFQ) e os ácidos p-cumaroilquínicos, além de vários cafeoilferuoilquínico. Os resíduos de ácido cinâmico esterificam um ou mais grupos hidroxila do ácido quínico, dando origem aos diferentes isômeros e di-isômeros de ácido clorogênico. A ocorrência de tri-isômeros é improvável pelo impedimento espacial. Nos grãos de café cru não existem ésteres do ácido quínico esterificados na posição 1 (Figura 2.1), embora esses compostos existam na natureza. Os ácidos clorogênicos, em geral, e os ADCQ, que são os menos polares, são solúveis nos alcoóis menores ou misturas álcool-água, sendo insolúveis em benzeno, clorofórmio e ligroína. Os ácidos clorogênicos são sólidos à temperatura ambiente, possuindo pontos de fusão na faixa de 210 a 290°C (Clifford, 1985). De acordo com Detan (1985), os ácidos clorogênicos ocorrem na superfície do grão associado com a graxa cuticular e também no citoplasma, ao lado da parede celular do endosperma no parênquima. Na parede celular, os ácidos clorogênicos podem se associar com a cafeína num complexo na razão molar de 1:1 ou 2:1 (Horman e Viani, 1972). Os ácidos clorogênicos podem ocorrer em formas polimerizadas ou complexadas, possivelmente com proteína.

Em todas as espécies de café cru, os monoisômeros 5 (ácido caféico adicionado no carbono 5 do ácido quínico) são dominantes (constituem 70-85% dos ACQ e 80-85% dos AFQ). Em relação aos di-isômeros no café arábica, o isômero 3,5-ADCQ ocorre em maior quantidade, seguido pelo 4,5 ADCQ e depois pelo 3,4. No café robusta, o isômero 4,5 é dominante.

2.2.1- Propriedades terapêuticas

Recentemente foram descobertas propriedades terapêuticas associadas aos ácidos clorogênicos. A determinação da atividade antioxidante (medida da concentração do antioxidante para 50% de inibição da oxidação) dos diversos compostos presentes no chá verde por Vinson e Dabbagh. (1998) mostram que os ácidos clorogênicos são melhores antioxidantes que a vitamina E e C. Podem ser utilizados na conservação de óleos e alimentos, prevenindo a oxidação que torna os alimentos rançosos.

As propriedades antioxidantes dos ácidos clorogênicos na prevenção de doenças cardíacas por redução do colesterol LDL no sangue foi relatada por Friedman (1997), citando o trabalho de Lazarov e Weman (1996), onde o consumo de pele de batata, que é rica em ácidos clorogênicos, diminuiu o teor de colesterol no sangue de ratos. Friedman (1997) publicou um trabalho de revisão da literatura sobre as propriedades terapêuticas associadas aos ácidos clorogênicos. Neste trabalho, o autor constata que os CGA também apresentam propriedades antimutagênicas e antiglicêmicas. Acredita-se (Friedman, 1997) que estas propriedades se devem à habilidade dos polifenóis em bloquear eletrólitos que potencialmente danificam a cadeia do DNA, radicais livres, metais tóxicos e inibir enzimas que levam ao desenvolvimento de pré-carcinomas a carcinomas. Entretanto, a mais promissora e mais relevante utilização dos ácidos clorogênicos talvez esteja no tratamento de dependentes químicos, devido às características antagonistas a opióides que apresentam, como apontaram Lima et al. (2000). Estes autores, citando os trabalhos de Trugo (1984), Santos et al. (1990), Santos et al (1991) e Lima (1990), relatam o potencial papel do café na prevenção da

depressão, na redução da vontade de ingerir álcool, fumar e utilizar drogas (maconha, cocaína, heroína). Lima et al. (2000) acompanharam jovens estudantes brasileiros (11 a 20 anos) de 16 diferentes cidades do país, no período compreendido entre 1990 e 2000, através da aplicação de um questionário em períodos com intervalos de 2 a 3 anos, com a ajuda de médicos e professores. Os autores verificaram que os estudantes que ingeriam café durante o decorrer do dia apresentaram menores tendências ao consumo de álcool e depressão. Este efeito benéfico do café é em parte atribuído aos ácidos clorogênicos, devido a sua maneira de atuar no cérebro.

Os ácidos clorogênicos e as lactonas dos ácidos clorogênicos competem pelos receptores opióides do cérebro, bloqueando-os e, dessa forma, diminuindo o desejo e necessidade do indivíduo consumir drogas. Essa forma de atuar no organismo é a mesma apresentada pelos medicamentos nalexone e naltrexone. Esses medicamentos foram inicialmente utilizados no tratamento de dependentes de heroína, morfina e cocaína, que no tratamento com estes medicamentos não sentem desejo de consumir a droga. O sucesso desses medicamentos pode ser avaliado através da grande quantidade de clínicas especializadas em recuperação de dependentes químicos que os utilizam no tratamento dos pacientes (endereços eletrônicos de referência: www.westerndetox.com, www.adf.org.au/drughit/facts, entre outros). O naltrexone recebeu recentemente a aprovação do FDA (Food and Drug Administration), órgão que regulamenta medicamentos e alimentos nos Estados Unidos, para ser utilizado no tratamento do alcoolismo devido aos excelentes resultados apresentados

2.2.2- Produção dos ácidos clorogênicos

Os ácidos clorogênicos são convencionalmente isolados de fontes naturais por extração com solventes químicos. Na extração, utilizam-se solventes como metanol, etanol, água e isopropanol. A solução isopropanol/água (70/30%) mostrou-se ser o solvente mais satisfatório, entretanto com a água, corre-se o risco de degradação do produto pela ação da enzima polifenoloxidase (PPO) ou

migração do grupo acila (Clifford, 1985). Esses processos não são seletivos, necessitando etapas posteriores de separação, e são realizados em escala de bancada. Uma revisão da literatura mostrou uma única referência de um processo de extração de CGA envolvendo a utilização de fluidos supercríticos, patente DE43654-A1, que previu a extração de CGA juntamente com a cafeína quando utiliza-se CO₂ supercrítico. O processo concentra-se na extração de cafeína e a redução do teor de ácidos clorogênicos é de importância secundária no processo, não ficando clara a recuperação dos ácidos clorogênicos da mistura contendo principalmente cafeína. O trabalho de Saldaña (1997) mostra que, durante a extração da cafeína com CO₂ supercrítico saturado com água, alguma quantidade dos ácidos clorogênicos presentes é extraída.

2.3- Cafeína

A cafeína (C₈H₁₀O₂N₄), conhecida também como guaranina, trimetildioxipurina é derivada da xantina (1,3,7 trimetilxantina) ou metilteobromina é um alcalóide purina (Schreck, 1975), encontrado em diversos vegetais, que quando purificado apresenta-se como um pó branco cristalino de sabor muito amargo (Figura 2.2).

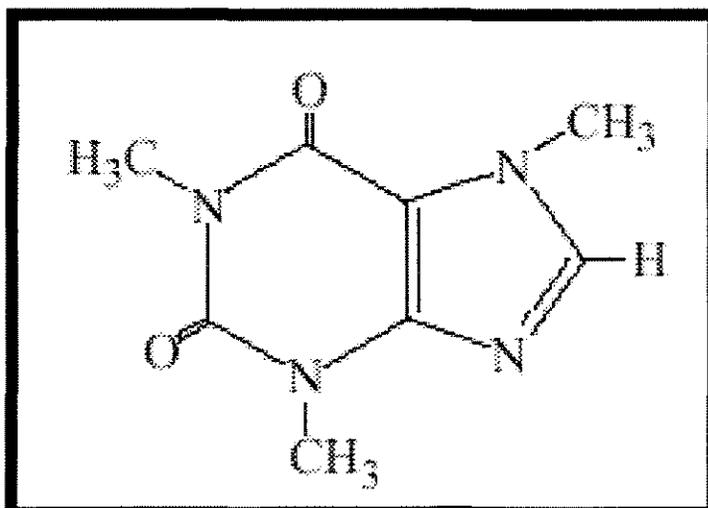


Figura 2.2 Fórmula estrutural da cafeína.

Além deste alcalóide purina, no café, são encontradas outras bases nitrogenadas como a trigonelina e a serotonina.

2.3.1 - Efeitos fisiológicos e aplicações.

A cafeína é sem dúvida um dos alcalóides mais estudados com respeito aos seus efeitos fisiológicos no ser humano que na maioria das vezes estão associados ao consumo de café. Classicamente, os alcalóides purínicos são estimulantes psicomotores e entre estes destaca-se a cafeína como um dos mais importantes e atuantes. Embora apresente baixa atividade fisiológica, atua principalmente no sistema nervoso central e na secreção da bile no intestino.

Os mecanismos de operação da cafeína no corpo humano são similares às anfetaminas e à cocaína, mas seus efeitos são mais fracos do que estas drogas, embora aja nos mesmos receptores do sistema nervoso central (SNC) (Nehlig e Boyet, 2000). A ligação da adenosina, um neurotransmissor natural, aos seus receptores no cérebro, diminui a atividade neural, dilata os vasos sanguíneos, etc. A cafeína se liga aos receptores da adenosina e impede a ação da mesma sobre o SNC, estimulando a atividade neural e causando a constrição dos vasos sanguíneos.

Na medicina, a cafeína é utilizada como um estimulante cardíaco e diurético, sendo ainda considerada uma droga que causa dependência física e psicológica. A quantidade de cafeína necessária para provocar a dependência química em humanos varia dentro de uma larga faixa (129–2548 mg por dia), conforme reportam Strain et al. (1994). Muitos medicamentos contra a dor de cabeça, tal como a Aspirina Forte, contém cafeína, que tem a função de contrair os vasos sanguíneos e aliviar a dor. Com o aumento da atividade neural devido à ingestão desse alcalóide, a glândula pituitária libera grandes quantidades de adrenalina, causando uma série de efeitos no corpo humano, como a taquicardia, aumento da pressão arterial, abertura dos tubos respiratórios (por isso muitos medicamentos contra a asma contêm cafeína), aumento do metabolismo e contração dos músculos, entre outros. Um outro modo de ação da cafeína é o

Capítulo II: Revisão da literatura

bloqueio da enzima fosfodiesterase, responsável pela quebra do mensageiro cAMP, permitindo então que os sinais excitatórios da adrenalina persistam por muito mais tempo. A cafeína também aumenta a concentração de dopamina no sangue (assim como fazem as anfetaminas e a cocaína), por diminuir a recaptção desta no SNC. A dopamina também é um neurotransmissor (relacionado com o prazer) e suspeita-se que seja justamente este aumento dos níveis de dopamina que leva, a longo prazo, ao vício da cafeína. O mais importante efeito provocado pela cafeína é a sua ação sobre o sono, sendo a recepção de adenosina pelo corpo humano de extrema importância para o chamado sono profundo.

O tempo de meia-vida da cafeína no organismo é de 6 horas. A parada abrupta do consumo de cafeína causa depressão e, algumas vezes, terríveis dores de cabeça causadas pela excessiva dilatação dos vasos sanguíneos no cérebro. Estes efeitos negativos forçam o consumo de cafeína, ocorrendo a dependência (Strain et al, 1994). Estudos médicos indicam ainda que o consumo exagerado de cafeína durante a gravidez pode ser prejudicial para o desenvolvimento do feto humano. A quantidade necessária para que este fato ocorra não está determinada, entretanto estudos com ratos verificaram que as aplicações de doses elevadas, que para humanos equivaleria à ingestão de 70 copos de café, resultaram em má formação do feto. A cafeína é também relacionada à síndrome da morte súbita em recém-nascidos, sendo recomendada a moderação ou suspensão do consumo deste alcalóide durante a gravidez e amamentação (Esser e Davis, 2001).

2.3.2- Produção

Com a remoção da cafeína de produtos, podem-se obter produtos descafeinados, convenientes para o uso de consumidores intolerantes à cafeína e ao mesmo tempo fornecer portante alcalóide para a indústria farmacêutica.

As técnicas convencionais usadas na indústria para a obtenção dos alcalóides envolvem, principalmente, a extração com solventes químicos

imiscíveis na água, em meio alcalino, ou alternativamente com solventes solúveis em água (álcoois) (Saldanã, 1997).

Para a purificação de alcalóides dos extratos obtidos varias técnicas (destilação, cristalização e outros) tem sido utilizadas (McKillop, 1970). Estes métodos apresentam, contudo, as desvantagens da formação de resíduos indesejáveis (provenientes dos solventes químicos usados na extração e/ou de alterações no produto final pela degradação térmica devido às altas temperaturas alcançadas durante as etapas de extração e purificação).

Um excelente solvente para a cafeína é sem dúvida a água. Porém, a grande desvantagem deste solvente é a sua baixa seletividade, resultando na extração de outros componentes das matrizes vegetais juntamente com a cafeína, trazendo a necessidade de inclusão de outras etapas demoradas e dispendiosas no processo de purificação do alcalóide (Wingrove e Caret, 1992).

A extração supercrítica desses alcalóides, utilizando dióxido de carbono, apresenta-se como uma dessas alternativas para a indústria de produtos alimentícios ou farmacêuticos, já existindo plantas industriais de remoção da cafeína dos grãos de café em operação. No entanto, estes processos, constituem patentes que escondem a maior parte das informações. Novas patentes contendo modificações nos processos atuais continuam aparecendo na literatura indicando a continuidade das possibilidades reais de oportunidades para o desenvolvimento de novos processos mais eficientes e mais seletivos para os vários constituintes do café. O presente trabalho de doutorado segue na direção do desenvolvimento de uma rota tecnológica 100% nacional para a remoção da cafeína do café.

2.4 – Lípidios

Os lipídios dos grãos de café estão presentes no óleo de café, constituinte do endosperma do grão, e também nas ceras localizadas nas camadas exteriores dos grãos. A Tabela 2.2 apresenta a composição lipídica do café.

Tabela 2.2 Principais lipídios presentes nos grãos de café (% peso) (Nikolova-Damyonova et al, 1999)

Compostos	(1)	(2)
Esteres de Sterois	1,2	1,4
Triglicerídios	75,5	75,5
Esteres de Terpenos	15,1	18,5
Sterois Livres	1,5	-
Acidos Graxos Livres	1,2	-
Mono e Diglicerídios	5,5	-
Lipídios Polares	0,6	-
Não identificados	1,0	4,2

(1)- Nikolova-Damyonova et al, (1999), (2)-Kaufman and Hansagar (1962)

O óleo de café é constituído praticamente por triglicerídios e ésteres de terpenos. Os ácidos graxos que constituem o óleo de café apresentam cadeias carbônicas que variam de 14 a 22 átomos, sendo que os ácidos linoléico (37,1%), palmítico, (38,3%) esteárico (9,6%) e oléico (7,5%) representam juntos 92% do total dos ácidos graxos presentes nos grãos de café. Entretanto, os terpenos cafestol e caweol presentes no óleo de café, são substâncias que apresentam efeitos adversos sobre o metabolismo humano. Estes compostos estimulam a produção de colesterol e como conseqüência há um aumento de concentração no sangue (Terpstra et al., 2000). A estes compostos também têm sido atribuídas propriedades de quimioproteção contra toxinas de ação carcinogênica e propriedades de proteção contra os raios do sol, sendo portanto utilizado na formulação de filtros solares (US patente nº 4793990)

2.4.1- Aplicações e efeitos funcionais e fisiológicos.

Utilizados como aromatizante de bebidas, alimentos, confeitos e recentemente na indústria de cosméticos, os triglicerídios do óleo de café desempenham importantes papéis para os organismos vivos, atuando como fontes fornecedoras de energia e ácidos graxos essenciais, como transportadores de vitaminas e hormônios lipossolúveis e como fonte disponibilizadora de átomos de carbono para as atividades de biosíntese.

Entretanto, o óleo de café possui altos percentuais dos diterpenos cafestol e kawool (Gross et al., 1997). Estes diterpenos apresentam comprovadas propriedades hipercolesterolêmicas. A ingestão total de 200 mg (quantidade presente em 5 copos de café) de cafestol e kawool por dia durante 4 semanas provoca um aumento na concentração do colesterol no sangue de 1,5 mmol/litro. Este estudo foi realizado em seres humanos voluntários. Esses diterpenos apresentam ainda propriedades anticancerígenas. Conforme relataram Gross et al. (1997), citando os trabalhos de Miller et al. (1988; 1993) e Wattenberg (1983), estes diterpenos inibiram o aparecimento de tumores bucais e nas glândulas mamárias de ratos, provocados por inibição do aparecimento do 7,12-dimethylbenz[a]antraceno.

2.4.2- Recuperação

O óleo de café é extraído comumente utilizando-se o éter de petróleo como solvente, segundo a metodologia oficial da AOAC (American oil chemistry society). Neste processo, os grãos de café são moídos, partículas de 589 µm são alimentadas a um aparelho de extração Soxhlet, e a extração é realizada durante 16 horas à temperaturas na faixa de 35-50°C (Folstar, 1985), necessitando de posteriores etapas de refino. Os processos industriais de produção de óleos de café se resumem à utilização de prensas. Este tipo de processo apresenta baixos rendimentos e uma grande parte do óleo permanece na borra. Nestes processos, os triglicerídios são extraídos conjuntamente com compostos indesejáveis, como

as ceras, e princípios ativos como a cafeína, terpenos e esteróis, sendo por isso necessárias etapas posteriores de refino (Azevedo et al., 2004). Como processo alternativo aos convencionais, pode-se citar a extração com fluidos supercríticos. A tecnologia de extração com fluidos supercríticos tem-se mostrado muito eficiente na extração de óleos vegetais, como mostram inúmeros trabalhos (Friedrich 1982, Reverchon e Osséo, 1994, Li e Hartland, 1996, Azevedo et al. 2003, entre outros).

2.5- Fluidos supercríticos

Uma substância encontra-se no estado supercrítico quando está a uma temperatura acima da sua temperatura crítica ($T/T_c > 1$) e a uma pressão acima da sua pressão crítica ($P/P_c > 1$). Nessas condições, a substância adquire um comportamento intermediário entre gases e líquidos. A densidade (que confere ao fluido a capacidade de solubilizar outras substâncias) assume valores que podem ser comparados a densidades características de líquidos (a altas pressões). Sua pequena viscosidade, que é similar a dos gases, e a difusividade intermediária entre gases e líquidos permitem-lhe penetrar nos pequenos espaços e poros dos materiais sólidos dos quais se quer extrair o soluto (McHough e Krukoniš; 1994). Estas propriedades aumentam a taxa de transferência de massa do soluto comparada à extração com solvente líquido no mesmo período de tempo. No ponto crítico, a compressibilidade isotérmica da substância tende ao infinito e, na proximidade do ponto crítico, pequenas mudanças na pressão causam grandes variações no volume molar e na densidade.

Na Figura 2.3 estão representados os resultados do trabalho de Saldaña et al. (1999), que determinou as solubilidades da cafeína pura em CO_2 -SC nas temperaturas de 313, 323 e 343 K e pressões variando entre 9,5 a 23,5 MPa. Os valores de solubilidade estão entre 0,348 e $4,637 \times 10^{-4}$ (fração molar na mistura cafeína- CO_2). Os elevados valores de solubilidade da cafeína em comparação aos valores esperados do comportamento de soluções ideais (faixa dos valores calculados para o caso ideal) são um resultado típico do comportamento de solubilidade de sólidos em gases comprimidos e constituem a base, neste caso,

do processo comercial de descafeinação dos grãos de café com CO₂ supercrítico, apresentado posteriormente. Observam-se também aumentos significativos da solubilidade com o aumento da pressão, a uma temperatura constante, para todas as condições experimentais, e também a diminuição da solubilidade com o aumento da temperatura, a uma pressão constante, para pressões abaixo de 19 MPa (região de comportamento retrógrado). A baixas pressões, a densidade do fluido é mais sensível a mudanças na temperatura que a altas pressões. Aumento na temperatura a pressão constante aumenta a pressão de vapor do soluto e diminui a densidade do fluido supercrítico. As regiões de maior influência de cada um dos efeitos é limitada pela pressão de cruzamento das isotermas.

O interesse nos fluidos supercríticos cresceu muito nos últimos anos, bem como as suas aplicações, gerando uma gama maior de produtos para usos alimentícios, cosméticos e fármacos. Um resumo destas aplicações é apresentado na Tabela 2.3.

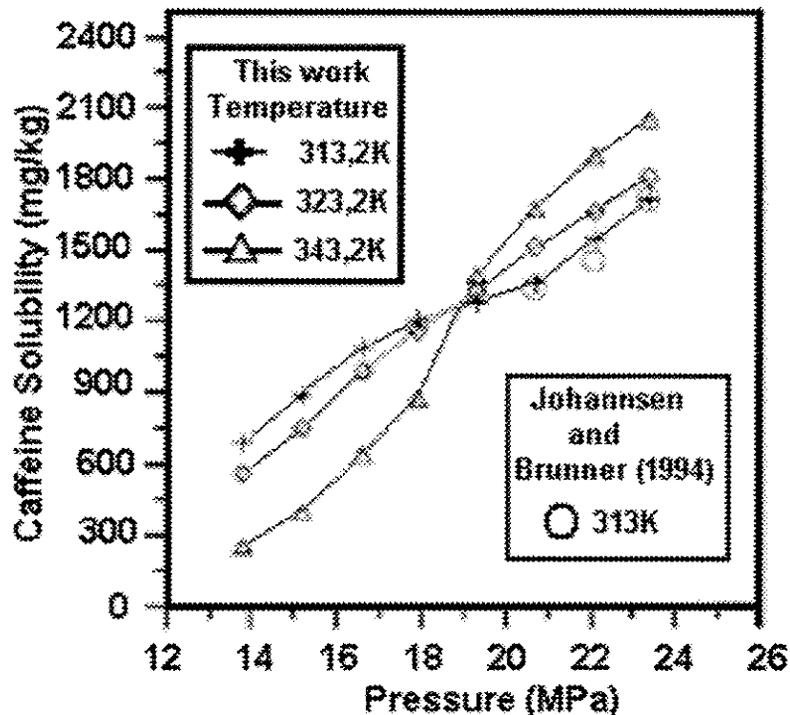


Figura 2.3 Solubilidade da Cafeína no CO₂ (Saldaña et al., 1999)

O CO₂ é uma substância não tóxica, não inflamável e de baixo custo, apresentando-se como uma alternativa atrativa para a utilização como solvente na extração de componentes de alimentos e produtos farmacêuticos. A baixa temperatura crítica do CO₂ permite que ele seja usado no estado supercrítico, sem causar danos às propriedades funcionais de proteínas e outros constituintes de alimentos, como pode acontecer durante a destilação com vapor.

**Tabela 2.3 Setores interessados na extração com fluidos supercríticos
(Brunetti et al., 1985)**

INDÚSTRIA FARMACÊUTICA	INDÚSTRIA DE ALIMENTOS
Extração de Princípios Ativos Vegetais	Extração de Graxa Vegetal do Óleo
Extração de Produtos de Cultura	Extração de Aromas de Essências e Extrato de Espécies
Purificação de Compostos	Extração de Antioxidantes Naturais
INDÚSTRIA DE COSMÉTICOS E PERFUMARIA	Corantes Naturais.
Óleo Essencial de Flores	Eliminação de Resíduos
Graxa Refinada	Extração de Fosfatídeos
Substância Ativa de Produto Natural	Preparação de Alimentos Dietéticos (eliminação da gordura)
INDÚSTRIA DE BEBIDAS	
Produção e Concentração de Aromas e Essências	Extrato de Lúpulo e Café Descafeinado

Uma outra vantagem importante do uso de solventes supercríticos como o CO₂ é a facilidade de separação do material extraído do solvente, em comparação aos processos de extração convencionais com líquidos, nos quais sempre se faz

necessária uma outra etapa de separação, tal como a destilação. Na extração supercrítica, a separação é realizada por uma simples manipulação de temperatura ou pressão, o que leva à precipitação do soluto extraído, deixando o solvente livre para ser reciclado. O uso de CO₂ supercrítico na extração de alimentos não apresenta risco de permanência de resíduos perigosos à saúde nos produtos extraídos, o que pode acontecer no caso de solventes químicos.

2.5.1 Sistemas: fluidos supercríticos – soluto

O CO₂ supercrítico é muitas vezes referido como um solvente apolar devido à baixa afinidade que apresenta com moléculas polares. Entretanto, este solvente apresenta um momento quadripolo, o qual lhe confere alguma afinidade por compostos polares. Esta pequena afinidade por compostos polares limita a aplicação do CO₂ supercrítico nos processos em que compostos polares são as substâncias de interesse. Para resolver esta limitação, geralmente se utiliza um co-solvente polar a fim de aumentar a polaridade do solvente supercrítico (formando uma mistura supercrítica que é função da temperatura, pressão e composição do co-solvente) e solubilizar o composto de interesse (McHugh e Krukonis, 1994). Dessa forma, é importante investigar como os sistemas se comportam no nível molecular.

Nos sistemas contendo um fluido supercrítico, por exemplo, as moléculas de solvente não estão uniformemente distribuídas no sistema, mas na forma de agregados (ou clusters) ao redor da molécula do soluto em um equilíbrio térmico e dinâmico com as moléculas livres dentro de uma determinada faixa de tamanho (Morita e Kajimoto, 1990). O tamanho do cluster depende da polaridade e da densidade do solvente (Morita e Kajimoto, 1990; Kajimoto et al. 1988). O tamanho do cluster não é linearmente dependente da densidade “*bulk*” do solvente. Isto pode ser atribuído ao fato de que à medida que a densidade aumenta, a força de atração mútua entre as moléculas do solvente localizadas a uma certa distância do núcleo do cluster supera o potencial necessário para transferir a molécula para o cluster. À medida que a densidade aumenta, a redução da distância entre as

Capítulo II: Revisão da literatura

moléculas eleva o valor destas forças e resultam portanto, na saturação do potencial de transferência. Estas observações podem ser relacionadas com a igualdade das fugacidades no estado de equilíbrio (Morita e Kajimoto, 1990; Bai et al. 1997).

Uma abordagem sobre o efeito da composição local em torno da molécula do soluto foi realizada por Yonker e Smith (1988). Estes autores estudaram a região cibotática (região da solução onde a ordenação das moléculas do solvente é modificada pela presença da molécula do soluto) através do comportamento solvatocrômico, utilizando 2-nitroanisol como molécula de prova, inserida em um sistema formado pela mistura supercrítica CO₂/isopropanol. Os ensaios experimentais foram realizados a temperaturas de 45 a 122 °C e pressões na faixa de 100 a 400 bar. Nesta técnica, é medida a mudança na posição e, em alguns casos, na intensidade da absorção eletrônica ou emissão de uma banda acompanhando a mudança de polaridade da solução. Na abordagem destes autores, é determinado um parâmetro empírico, que representa a capacidade de solvatação do solvente e que engloba o efeito das interações não específicas (dependentes da densidade) e das interações específicas (pontes de hidrogênio). Segundo os autores, este parâmetro reflete diretamente a composição local e pode ser relacionada com o número de moléculas do co-solvente e solvente na região cibotática. A diferença entre os valores deste parâmetro nos sistemas que a molécula de prova foi inserida e os valores obtidos nos sistemas binários (solvente/co-solvente) determina a composição local do co-solvente em torno da molécula de prova. Valores positivos indicam que a composição local é maior que a composição bulk, o mesmo para o inverso e que para valores iguais a zero a composição local é igual a bulk. Estes autores verificaram que a formação de pontes de hidrogênio entre a molécula de 2-propanol e a molécula de 2-nitroanisol contribuem para o aumento da composição local. Entretanto, à medida que a pressão e a temperatura aumentam o aumento líquido da composição local devido à adição do co-solvente diminui (Figura 2.4), fazendo com que esta se aproxime do valor da composição bulk do sistema.

Este fato pode ser interpretado como uma diminuição do efeito de co-solvente. Estes autores verificaram ainda que o aumento da concentração de co-

solvente aumenta a concentração local em toda a faixa de temperatura e pressão estudada (Figura 2.5).

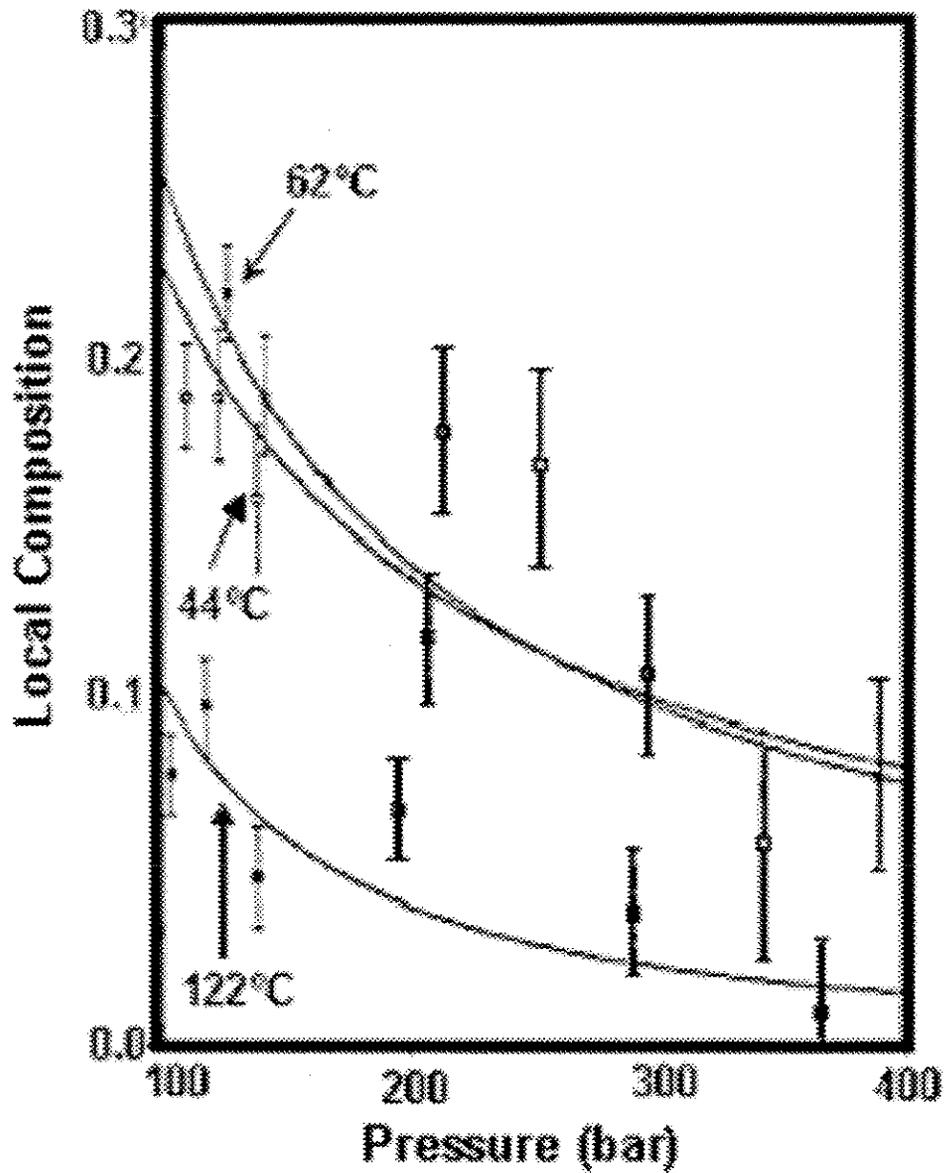


Figura 2.4 Composição local versus pressão para uma concentração bulk constante de 0,051 (fração molar) a 44, 62 e 122 °C (Yonker e Smith, 1988)

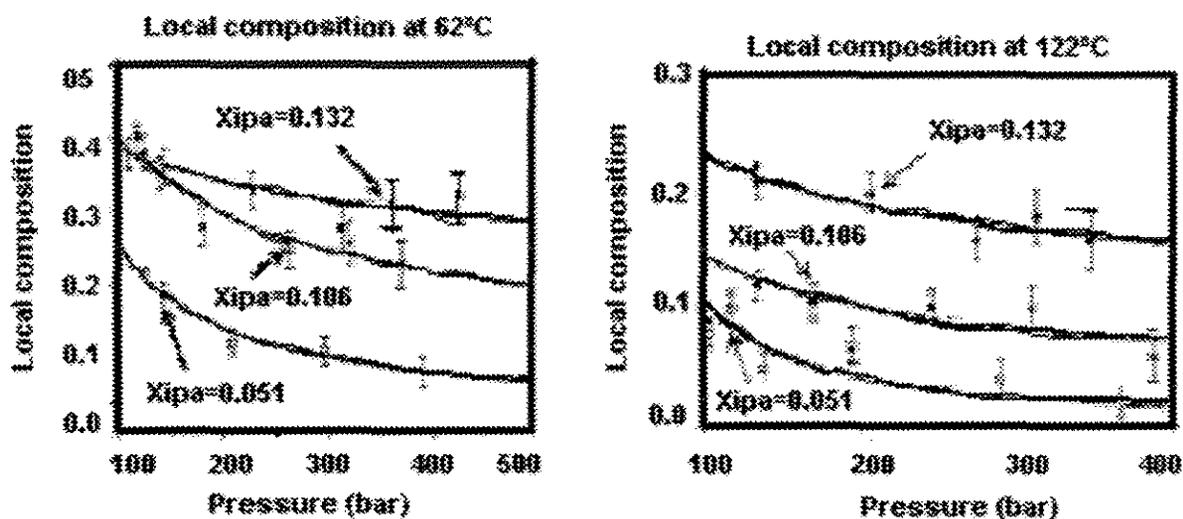


Figura 2.5 Composição local versus pressão a temperatura constante e concentrações bulk de 0,051, 0,106 e 0,132 (fração molar) (fonte: Yonker e Smith, 1988).

Uma abordagem mais explícita foi realizada por Bulgarevich et al. (2002), que estudaram os papéis das interações físicas e das pontes de hidrogênio separadamente no processo de solvatação de compostos orgânicos em CO_2 puro e misturas com n-alcanóis. Neste trabalho, os autores utilizaram a espectroscopia de absorção de UV/vis para medir a dipolaridade / polarizabilidade, associadas com as forças de interação intermoleculares de características físicas (eletrostáticas, indução e dispersão) e os parâmetros que indicam a tendência do sistema para a formação de pontes de hidrogênio atuando como aceptores de elétrons. Os estudos foram realizados a 45°C como função da pressão (8,6 a 23 MPa) e diferentes concentrações (0,00 a 0,05 em fração molar) de álcoois (metanol, etanol, n- propanol, n- pentanol e n-hexanol). Nestes estudos, foram utilizados como compostos de prova a 4-nitroanisole (4-NA) e o 4 nitrofenol (4NF). Os autores utilizaram correlações baseadas na teoria da energia livre linear multi-paramétrica, que segundo os mesmos têm sido utilizada com sucesso na descrição das energias livres, entalpias de solução, formação de pontes de hidrogênio e formação de complexos ácido/base de Lewis. As principais

conclusões dos autores são baseadas na determinação dos parâmetros π e β , que correspondem às contribuições das forças de interação físicas e pontes de hidrogênio no espectro de absorção por espectroscopia, respectivamente. Nas Figuras 2.6 a e b são apresentados estes parâmetros em função da densidade reduzida dos solventes para o sistema CO₂/metanol a diferentes concentrações e para diferentes álcoois, respectivamente.

Na figura 2.6a, os autores apontam para o fato das contribuições das forças de interação físicas estarem no mesmo nível das encontradas para solventes reconhecidamente apolares, como hexano e perfluoro-n-hexano. Vale notar que, com o aumento da pressão e conseqüentemente da densidade, a diminuição dos espaços entre as moléculas faz a contribuição das forças de interação física aumentem, uma vez que estas são forças de curto alcance (McQuarie, 1973). Em relação à contribuição das pontes de hidrogênio, pode-se verificar que o CO₂ apresenta apenas uma leve basicidade e que esta basicidade aumenta com o aumento da concentração do co-solvente. Entretanto, à medida que a concentração aumenta, a distância entre as curvas diminui e, conseqüentemente, diminui o efeito de co-solvente. Este comportamento, segundo os autores, pode ser atribuído a efeitos de saturação e de auto-associação entre as moléculas de metanol. A Figura 2.6b, mostra ainda que o efeito das forças de interação física é insensível ao aumento da cadeia do álcool. Por outro lado, a contribuição do parâmetro que representa as interações por pontes de hidrogênio aumenta com o aumento da cadeia. Este comportamento observado pode ser atribuído a um aumento da capacidade de doar elétrons e à maior estabilidade de carga pela maior cadeia, e dessa forma, aumentando a basicidade do álcool.

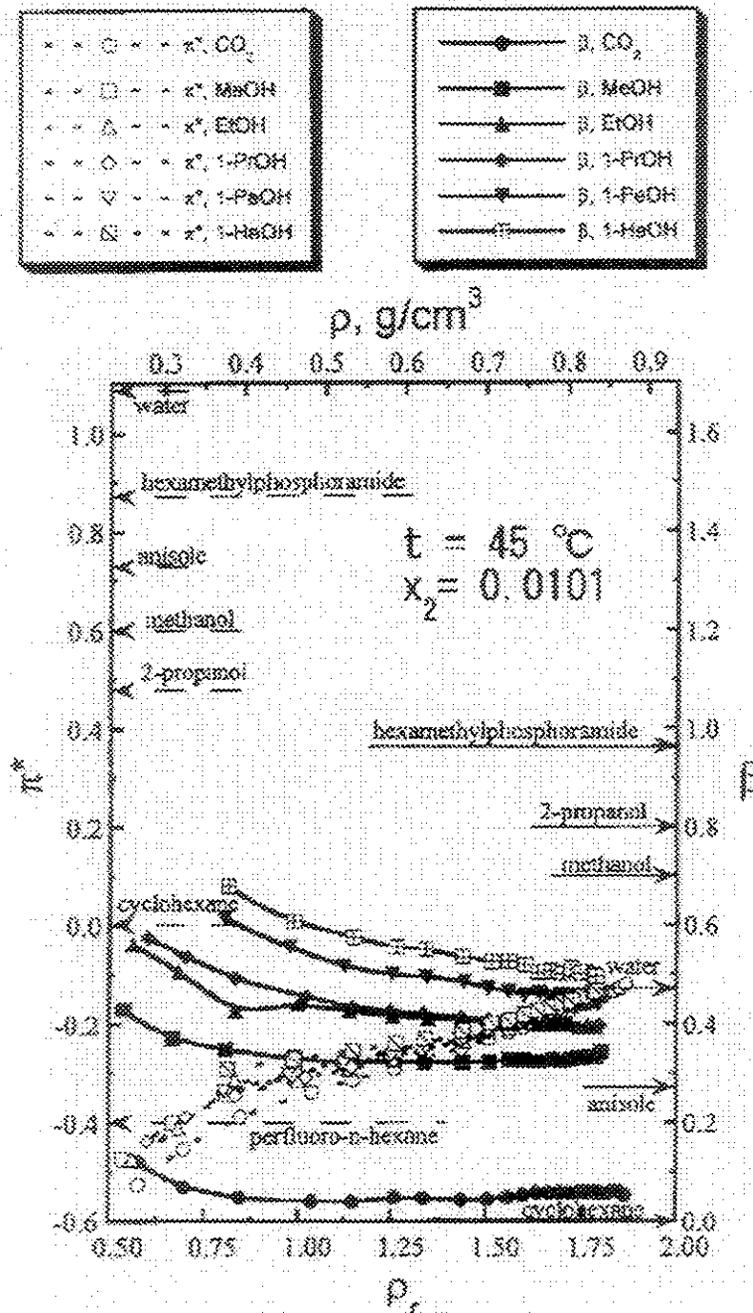


Figura 2.6a Acompanhamento dos parâmetros π e β em função da densidade reduzida para diferentes misturas supercríticas de CO_2 /metanol

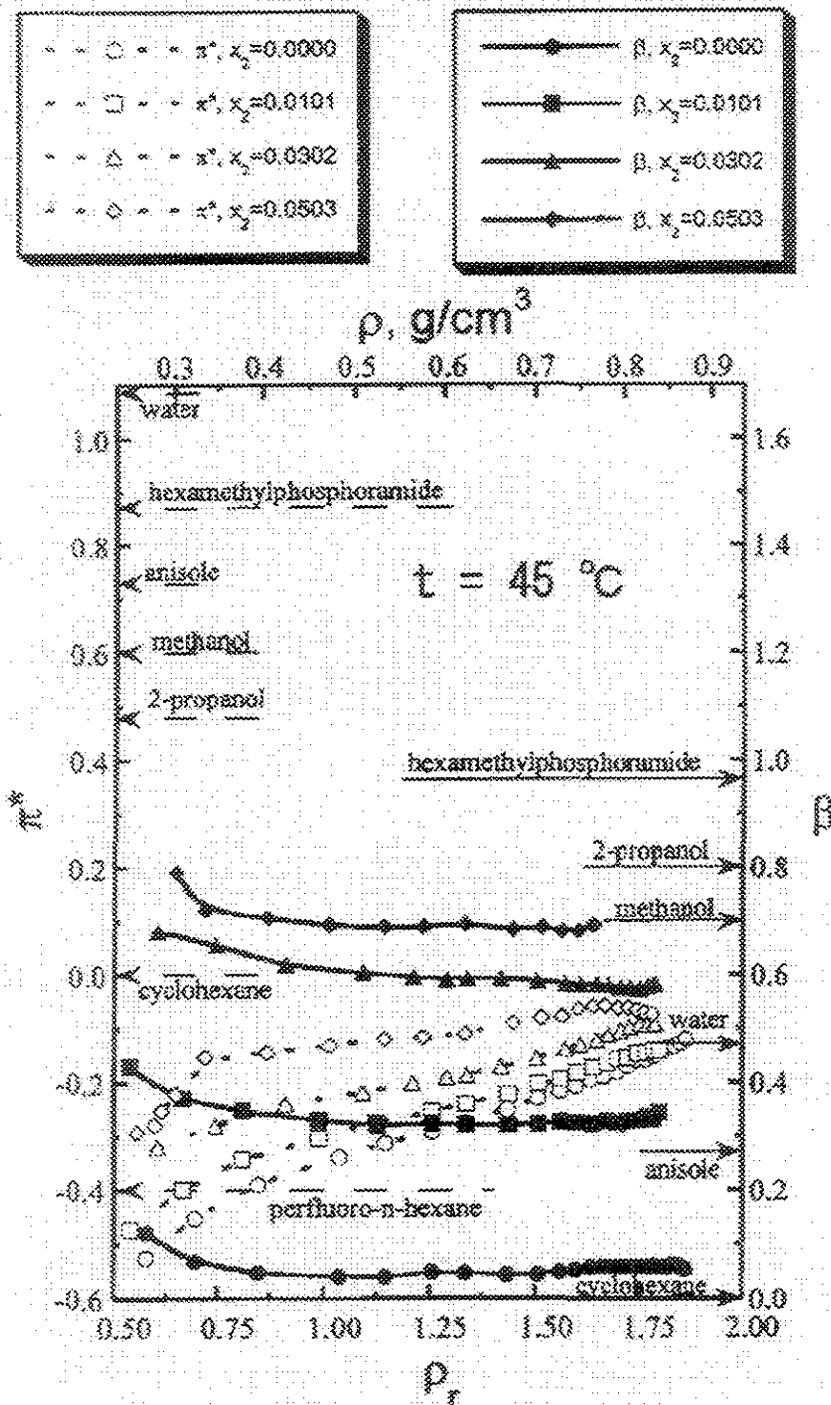


Figura 2.6b Acompanhamento dos parâmetros π e β em função da densidade reduzida para diferentes misturas supercríticas $\text{CO}_2/\text{n-alcânios}$ a uma composição constante. (fonte: Bulgarevich et al. 2002).

Analisando os dados apresentados na Figura 2.6b e considerando que a densidade das misturas supercríticas utilizadas nos ensaios não sejam muito

Capítulo II: Revisão da literatura

diferentes da densidade do CO₂ puro nas mesmas condições de processo, pode-se observar que para as densidades reduzidas usualmente empregadas nos processos de extração utilizando fluidos supercríticos ($1,5 \leq \rho_r \leq 2,5$) os parâmetros correspondentes à formação de pontes de hidrogênio apresentados para os álcoois metanol, etanol e propanol tendem a um mesmo valor com o aumento da densidade.

Um outro aspecto importante no estudo das interações entre o soluto e o solvente é a auto-associação dos solutos. Bell et al. (2003) estudaram as interações ácido/base de Lewis e o efeito da auto-associação em sistemas formados por CO₂ ou etano supercríticos e ácidos carboxílicos (fórmico, propiônico, e trifluoracético) na faixa de temperatura de 25 a 50°C e pressões na faixa de 48 a 138 bar. Estes autores utilizaram espectroscopia de infravermelho (FTIR) associada à teoria “*modified lattice-fluid hydrogen bonding*” (MLFHB) para determinar o efeito do tamanho da cadeia carbônica na auto-associação dos ácidos carboxílicos (os ácidos carboxílicos podem formar dímeros, trímeros e oligômeros).

Na faixa de concentração de ácidos carboxílicos estudada e, com base em dados da literatura, os autores consideraram que os ácidos estudados formam apenas dímeros. Os autores relataram que em soluções diluídas de compostos onde uma das moléculas apresenta um sítio doador de prótons e a outra um sítio acceptor de prótons em cada, as constantes de auto-associação são função da temperatura, pressão e densidade do solvente. A constante de auto-associação foi definida como a razão entre a concentração do dímero no sistema e da concentração do monômero elevada ao quadrado. Os resultados mostraram que a constante de auto-associação diminui com o aumento da temperatura a pressão constante e também diminui com o aumento da pressão a temperatura constante. Este é um resultado importante, pois como a auto-associação diminui, o soluto encontra-se mais disponível para ser solvatado pelo solvente. Estes autores mostraram ainda que o aumento da polaridade do solvente (apesar do CO₂ não apresentar um momento de dipolo, mas um momento de quadripolo, e dessa forma considerado um solvente mais polar que o etano) diminui a constante de auto-associação dos ácidos carboxílicos. Os autores ainda associam a maior

capacidade do CO₂ em solvatar os ácidos em relação ao etano devido às características de ácido/base de Lewis (o CO₂ pode atuar como uma base fraca de Lewis e interagir com o hidrogênio protonado).

À medida que a densidade aumenta, a distância entre as moléculas diminui e, estas interações se tornam mais fortes. No caso do etano, como este tipo de interação não tem como acontecer, o efeito da densidade do solvente não é significativo na constante de auto-associação dos ácidos carboxílicos. Os dados mostraram que o aumento do tamanho da cadeia (de ácido fórmico a ácido propiônico) resultou em constantes de auto-associação uma ordem de magnitude maiores para o ácido propiônico e, também que impedimentos estéricos não foram observados. Este resultado mostra que quanto maior a constante de associação do soluto, maior terá que ser o poder de solvatação do solvente para solvatá-lo.

A capacidade do CO₂ em atuar como uma base de Lewis foi estudada por Raveendran e Wallen (2002). Estes autores utilizaram cálculos *ab initio* para investigar o papel das ligações de hidrogênio do tipo (C - H ... O) na estabilidade dos complexos de solvatação de espécies contendo grupos carbonilas contendo átomos de hidrogênio diretamente ligados ao carbono da carbonila ou ao carbono α e as interações ácido - base de Lewis entre o CO₂ e os grupos carboxilas. Nos cálculos foram utilizadas como moléculas de prova acetaldeído, formaldeído, metil acetato e ácido acético. Segundo os autores, este tipo de ligação, apesar de mais fraca que uma ponte de hidrogênio do tipo (O - H ...O) tem um papel importante na formação dos clusteres de solvatação, como é o caso do cluster de solvatação do dimetil-éter em metanol. Este tipo de ligação induziu a formação de estruturas tetrâmeras cíclicas no lugar das estruturas em cadeia esperadas. Estes autores alertaram para o fato de que, no estudo da solubilização de um determinado composto em CO₂ supercrítico, deve-se levar sempre em consideração a força relativa das interações entre o CO₂ e os grupamentos da molécula aos quais tem afinidade, das interações entre duas moléculas de CO₂ e das interações entre duas moléculas de soluto.

Uma outra característica importante dos sistemas envolvendo CO₂ supercrítico como solvente, apontada pelos autores nos resultados deste trabalho, é a distribuição de cargas na molécula do CO₂. A molécula do CO₂ apresenta um

Capítulo II: Revisão da literatura

átomo de carbono parcialmente carregado positivamente e dois átomos de oxigênio nas extremidades parcialmente carregados negativamente, de maneira que o carbono pode atuar como um ácido de Lewis e os oxigênios como aceptores de prótons (bases de Lewis). Entretanto, se comparada com as mesmas características da molécula de água, que pode agir como ácido ou base de Lewis, esta característica nas moléculas do CO₂ são muito menos efetivas. Os autores estimaram que a força da interação ácido-base entre a molécula de CO₂ e o grupo carbonila é praticamente a metade da força observada entre duas moléculas de água. Nos resultados, os autores mostraram que, dentre os compostos estudados, o CO₂ apresentou maior afinidade com o metil acetato e que, apesar dos cálculos comprovarem a existência das interações (C - H ... O) e apontarem para um papel cooperativo na solvatação das moléculas estudadas, ainda são necessários maiores estudos antes de uma conclusão definitiva.

As observações dos autores anteriormente citados, baseadas em estudos experimentais e teóricos, representam os comportamentos experimentais comumente observados para sistemas envolvendo compostos orgânicos, CO₂ supercrítico e co-solventes como pode ser observado a seguir.

O efeito do co-solvente foi estudado por Ting et al. (1993b) através da determinação dos parâmetros solvatocrômicos no naproxeno em sistemas contendo CO₂ e metanol, etanol, 1-propanol ou isopropanol (2-propanol) como co-solventes. Os autores associam o efeito do co-solvente com o aumento da densidade local em volta da molécula do soluto. Esta abordagem foi previamente reportada por Debenedetti et al. (1989) e Brennecke et al. (1990), os quais observaram a formação de um aglomerado de moléculas ao redor da molécula do soluto, e assim aumentando a densidade local. Este aumento de densidade local pode ser atribuído e correlacionado às contribuições das forças de interação intermoleculares não específicas e às contribuições específicas (ex. pontes de hidrogênio) entre as moléculas de soluto e as moléculas de co-solvente. Os autores reportaram que o efeito do co-solvente aumenta com o aumento da cadeia do álcool, sendo que o propanol é o co-solvente que maximiza este efeito. Os resultados mostram que o efeito do co-solvente, para as condições e substâncias

utilizadas, diminui com o aumento da pressão. A Figura 2.7 apresenta o efeito do co-solvente para as substâncias estudadas.

Analisando a Figura 2.7, verifica-se que o propanol apresenta maior efeito de co-solvente que o isopropanol. Segundo os autores, a razão para que o isopropanol tenha um efeito de co-solvente menor que o propanol é devido ao impedimento estérico para a formação do "cluster" de solvatação, pois o posicionamento da hidroxila no meio da cadeia dificulta a aproximação para a formação da ponte de hidrogênio com os oxigênios da molécula do soluto.

Outro efeito discutido é o maior distanciamento das condições críticas. Os autores reportam que a mistura CO₂-isopropanol possui temperatura crítica menor do que a mistura CO₂-propanol. Dessa forma, comparando os dados para as mesmas condições de processo e percentual de co-solvente utilizadas, a mistura utilizando isopropanol como co-solvente está mais distante do ponto crítico. Debenedeti et al (1989) reportam que o efeito da pressão na compressibilidade isotérmica diminui com o distanciamento do ponto crítico, tornando menor a diferença entre a densidade local e a densidade "bulk". Portanto, a densidade local é maior no sistema em que a mistura utiliza propanol como co-solvente.

Para sistemas envolvendo ácidos orgânicos, pode-se citar o trabalho de Murga et al. (2004), que estudaram a solubilidade dos ácidos siríngico e vanílico em CO₂ supercrítico, alcançando solubilidades (em fração molar) da ordem, de 10⁻⁷. Apesar de serem moléculas pequenas e de baixa massa molecular, os grupamentos fenol e carboxílico, presentes nas suas estruturas, conferem a estas moléculas uma grande polaridade e, conseqüentemente, uma pequena afinidade com o CO₂ supercrítico. Estes dados estão em concordância com os dados de González et al. (2001) que estudaram a solubilidade do fenol e do pirocatecol em CO₂ supercrítico. Estes autores verificaram que a adição de mais um grupamento hidroxila na posição orto do fenol resulta em uma diminuição de 20 vezes na solubilidade, nas mesmas condições de pressão e temperatura. Este fato se deve à maior polaridade da molécula do pirocatecol.

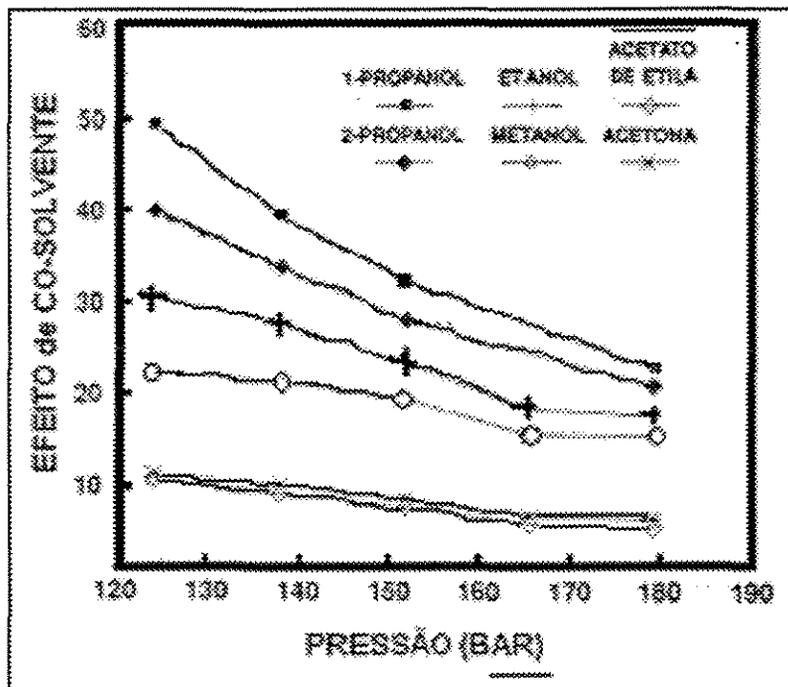


Figura 2.7 Efeito de co-solvente em função da pressão a 333.1 K e com concentração de 5,25 % em mol de co-solvente. (Ting et al.,1993b).

Para este mesmo tipo de sistema, Sovová (2001) estudou a solubilidade do ácido ferúlico em CO₂ supercrítico puro e adicionado de etanol como co-solvente. Esta autora observou que a adição de etanol ao CO₂ nas frações mássicas de 0,003 e 0,036 aumentou a solubilidade do ácido ferúlico, em comparação com a solubilidade em CO₂ puro, em 100 e 6500%, respectivamente. Dois aspectos principais podem ser analisados em relação à adição de etanol ao sistema: 1- o aumento da densidade do solvente devido à adição do etanol leva a um aumento da solubilidade; 2- a possibilidade de ocorrências de interações específicas (ex. pontes de hidrogênio) entre a molécula do etanol e do ácido ferúlico. Vale ainda ressaltar que o etanol se comporta como uma base de Lewis, enquanto que o ácido ferúlico é um ácido de Lewis. Dessa forma, a afinidade entre os compostos é um outro fator importante.

Jara-Morante et al. (2003) estudaram a solubilidade da imipramina-HCl (C₁₉H₂₄N₂.HCl) em CO₂ supercrítico. Este composto é um sal da imipramina bastante solúvel em água e insolúvel em éter, ao contrário da base livre (C₁₉H₂₄N₂) que é insolúvel em água e solúvel em éter. Os resultados mostraram que a

solubilidade da imipramina-HCl foi menor que a solubilidade de drogas com estruturas químicas semelhantes. Segundo os autores, estes resultados podem ser relacionados à polaridade induzida na molécula de imipramina devido à presença do HCl. Este é um resultado muito interessante, uma vez que muitos princípios ativos contidos em produtos naturais encontram-se na forma dos seus sais. Portanto, para tornar possível a extração utilizando dióxido de carbono supercrítico, é necessário trazer o composto de volta à sua forma de base ou ácido livre.

2.5.2 Comportamento retrógrado como estratégia de separação

Na região próxima do ponto crítico a solubilidade é extremamente dependente da temperatura e da pressão. Nesta região, $\rho_r \leq 1,3$, quaisquer incrementos de pressão ou temperatura geram enormes variações de solubilidade, pois a compressibilidade isotérmica e o volume molar parcial do soluto variam muito, e no ponto crítico tendem ao infinito (Dobbs et al, 1987, Debenedetti e Mohamed, 1988). Estas características do sistema levam a ocorrência do fenômeno chamado de comportamento retrógrado, muito comum em sistemas contendo fluidos supercríticos, e é definido como uma redução na solubilidade de um dado soluto em um solvente supercrítico por aumento de temperatura dentro de uma determinada faixa de pressão (Johnston et al, 1987).

A explicação clássica para a ocorrência deste fenômeno deve-se ao fato de que em níveis intermediários de pressão, o aumento de temperatura a pressão constante resulta em uma grande redução na densidade do solvente e como consequência uma diminuição do poder de solvatação. Ao mesmo tempo ocorre o aumento da pressão de vapor do soluto. Portanto, estes dois efeitos são concorrentes e a um determinado nível de pressão, chamado de pressão de cruzamento, se compensam e o efeito resultante é nulo. A pressão de cruzamento das isotermas de solubilidade representa a pressão limite na qual aumentos de temperatura irão reduzir a solubilidade do composto. A partir deste valor de pressão, aumentos da temperatura irão aumentar a solubilidade do soluto, pois a

Capítulo II: Revisão da literatura

redução da densidade já não é tão elevada, e o efeito da pressão de vapor passa a controlar o processo (Chimowitz e Pennisi, 1986; Jhonston et al., 1987; Foster et al., 1991). O valor da pressão de cruzamento depende do sistema no qual o soluto está presente. Azevedo et al. (2003) observaram esta variação da pressão de cruzamento com a composição do sistema no estudo da solubilidade da gordura de cupuaçu utilizando CO₂ e etano supercríticos, que a pressão de cruzamento para o sistema utilizando etano (T_c = 32,3°C, P_c = 4,816 MPa) supercrítico foi 26 MPa, enquanto que a pressão de cruzamento observada para os sistemas utilizando CO₂ (T_c = 31,1°C, P_c = 7,38 MPa) supercrítico foi 31,7 MPa. Kopcak e Mohamed (2004) estudaram a solubilidade de cafeína em dióxido de carbono supercrítico e co-solventes e verificaram que a adição de co-solventes em diferentes concentrações desloca a pressão de cruzamento superior devido ao deslocamento do ponto crítico do solvente supercrítico. O mesmo resultado foi observado por Schaeffer et al. (1988) no estudo da solubilidade de monocrotalina em CO₂ supercrítico adicionado de etanol como co-solvente em diferentes percentuais. Estes autores verificaram um aumento na pressão de cruzamento de aproximadamente 20 MPa, quando o percentual de etanol na mistura variou de 0 para 10% (m/m). O intervalo de pressões onde ocorre o comportamento retrógrado da solubilidade do soluto em um dado solvente pode ser ainda influenciado pela presença de um segundo soluto. Devido a efeitos sinérgicos, um soluto pode aumentar ou diminuir a solubilidade do outro e, dessa forma, interferir na pressão de cruzamento. Este efeito foi observado por Johnston et al (1987) através dos dados de solubilidade do 2,3 dimetilnaftaleno e 2,6 dimetilnaftaleno em CO₂ supercrítico, em sistemas binários e ternários.

O conhecimento das pressões de cruzamento para cada sistema solvente-soluto é importante para a adequada exploração deste fenômeno durante a concepção de processos de separação. Foster et al. (1991) ressaltaram que a localização precisa da pressão de cruzamento, necessária ao projeto de processos de separação envolvendo fluidos supercríticos, é difícil devido aos poucos dados experimentais geralmente disponíveis na vizinhança do ponto de cruzamento e aos erros experimentais (geralmente em torno de 5%) associados aos dados de solubilidade. Com base em sistemas para os quais muitos dados de

solubilidade encontram-se disponíveis, estes autores evidenciam a existência de uma única pressão superior de cruzamento na faixa de temperatura reduzida de 1 a 1,15. Nos sistemas em que o CO₂ supercrítico é utilizado como solvente, esta faixa de temperatura se estende desde o ponto crítico até a temperatura de 77°C, que corresponde à faixa de temperatura geralmente utilizada nos processos de extração de princípios ativos de produtos naturais. Neste trabalho, os autores compilaram dados de solubilidade de mais de 200 compostos e observaram que, em sistemas nos quais a temperatura de operação encontra-se acima da temperatura de fusão do sólido, uma única pressão de cruzamento não será verificada. Exemplo de sistemas com este comportamento são: Hexadecanol-CO₂, octacosano-CO₂, etc., nos quais o comportamento das isotermas é similar ao de uma mudança de fase. Os autores também destacam que o comportamento das isotermas de solubilidade pode ser influenciado pelo abaixamento da temperatura de fusão.

Este mesmo efeito foi observado por Nilsson e Hudson (1993), que estudaram a solubilidade de triglicerídeos puros (Tripalmitina, PPP e Trioleína, OOO) em sistemas binários e misturas de triglicerídeos (PPP, OOO, PPO e POO) em CO₂ supercrítico, nas temperaturas de 40 e 60°C e na faixa de pressão de 172 a 310 bar. Estes autores verificaram que há um abaixamento da temperatura de fusão da PPP para 57°C na pressão de 172 bar (temperatura normal de fusão = 65,5°C).

Em trabalhos mais recentes Raeissi e Peters (2001) mostraram que a ocorrência de pais de uma pressão de cruzamento para o sistema limoneno/etano supercrítico. Em trabalho subsequente Raeissi e Peters (2002) o comportamento denominado pelos autores de "*double retrograde vaporization*" O fenômeno é causado pelo comportamento signóide da curva de orvalho na vizinhança do ponto crítico do componente mais volátil (Deiters, 2003).

Chimowitz et al. (1988) realizaram cálculos utilizando uma variação do modelo de equação de estado baseada na teoria da perturbação da esfera rígida com a finalidade de prever as pressões de cruzamento de sistemas multicomponentes. Os resultados mostraram que, a partir de um determinado nível de pressão, a entalpia residual parcial molar do sólido no sistema se iguala à

entalpia de sublimação do sólido. Esta é a condição limite para a ocorrência do comportamento retrógrado e quaisquer incrementos de temperatura a pressões superiores a este valor limite resulta em um aumento de solubilidade.

A exploração do comportamento retrógrado para o projeto de processos de separação foi praticada por Chimowitz e Pennisi (1986) na separação do ácido benzoico e do 1,10 decanodiol. Os resultados mostraram uma eficiência de 50% para o processo conduzido a 132 bar e entre as temperaturas de 301 e 318 K. Estes autores ainda reportaram a concepção de um processo para separar uma mistura ternária explorando as diferentes pressões de cruzamento de solutos A, B e C em um determinado solvente. Na Figura 2.8, ilustra-se a concepção do processo. O processo é inicialmente conduzido na pressão P_2 e na temperatura T_H . O solvente é alimentado ao vaso contendo a mistura dos três componentes. Na primeira etapa de separação, a fase fluida é resfriada até a temperatura T_L , precipitando uma mistura de A e B neste estágio. A corrente que sai deste estágio tem a pressão reduzida até a pressão P_1 e, aquecido até a temperatura T_H , precipitando uma mistura de B e C em um segundo estágio. As misturas binárias formadas são separadas subseqüentemente explorando a mesma estratégia.

Melhores resultados foram obtidos por Jonhston et al (1987) na separação dos isômeros 2,3 dimetilnaftaleno e 2,6 dimetilnaftaleno. Estes autores reportaram uma eficiência de processo de 79%. Este fato deve-se principalmente aos dados mais precisos de solubilidade destes compostos no sistema ternário e conseqüentemente das pressões de cruzamento. Bons resultados aplicando esta técnica de separação foram obtidos por Teja et al. (1988). A Figura 2.9 mostra a diferença do comportamento da solubilidade, em relação a temperatura, da monocrotalina extraída da *Crotolaria spectrabilis*, em relação a dos lipídios. Em ensaios experimentais de extração realizados pelos autores, após a etapa de extração realizada a 328 K e 14,77 MPa, o extrato (constituído pela monocrotalina + solvente + lipídios) foi alimentado a um segundo extrator mantido a 308 K e 14,77 MPa. Foi observado um aumento da concentração de monocrotalina de 79%, dessa forma mostrando o potencial dos processos que utilizam o comportamento retrógrado como estratégia de separação.

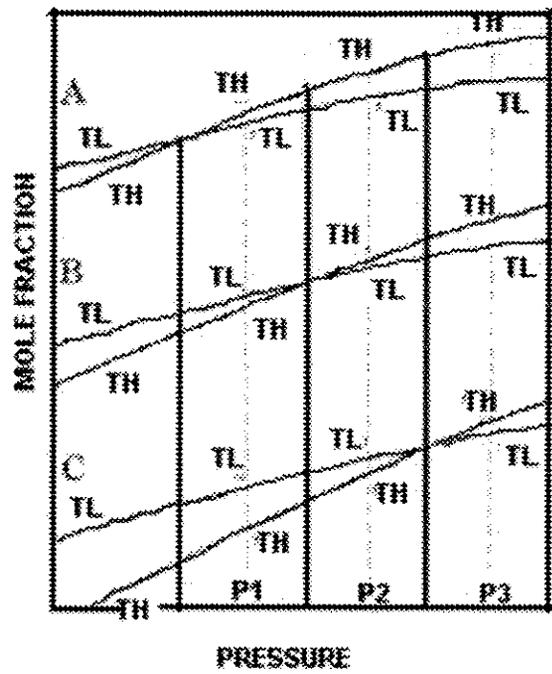


Figura 2.8 Regimes de crossover em um sistema quaternário (Chimowitz e Pennisi, 1986).

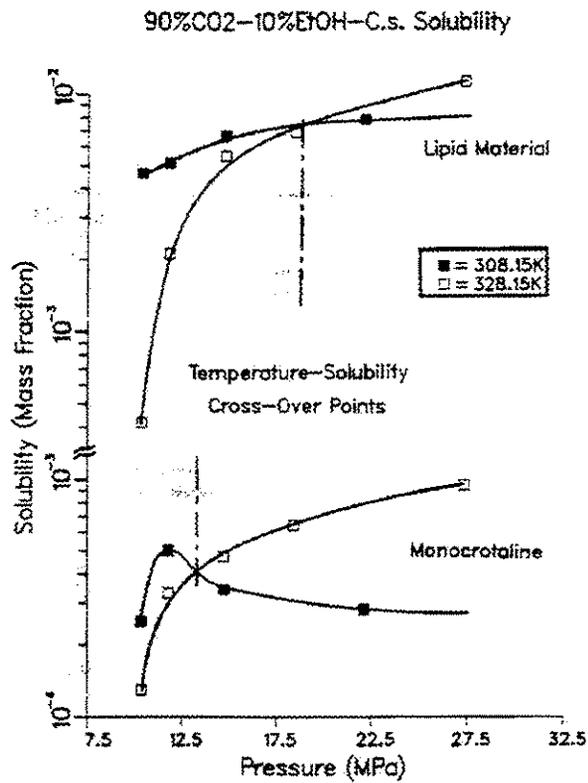


Figura 2.9: Solubilidade da monocrotalina e da matéria lipídica da *Crotolaria spectrabilis* com 90% de CO₂ e 10% de etanol. (Schaefer et al., 1988)

O processo é concebido de maneira que alterando as condições de pressão e temperatura nos estágios de separação seja possível precipitar isoladamente cada um dos solutos em diferentes separadores. Dessa forma é possível empregar um solvente que não apresente alta seletividade pelos solutos de interesse, já que é possível promover a separação e recuperação dos solutos apenas variando-se as condições de processo (P e/ou T) posteriormente à extração.

2.5.3-Co-solventes: efeitos cinéticos e termodinâmicos

Como apresentado anteriormente, a versatilidade dos processos envolvendo fluidos supercríticos é muito grande, podendo-se ainda utilizar co-solventes para aumentar a solubilidade de um determinado soluto ou a seletividade do solvente por um determinado componente, através da manipulação das interações entre soluto e solvente ou das associações químicas entre eles (Brunner, 1983). Abaroudi et al. (1999) recomendam a utilização de co-solventes, nos processos que utilizam CO₂ supercrítico como solvente, quando a solubilidade do composto de interesse a 150 bar não for significativa ou a polaridade do solvente não for adequada, devido às necessidades de baixos custos energéticos e produtividade do processo.

Conforme apresentado na Seção 2.5.1, a adição de um co-solvente ao sistema proporciona um aumento de solubilidade em função de um aumento das forças de interação do fluido com o soluto (químicas ou físicas), e/ou através do aumento da densidade e, conseqüentemente, o aumento do poder de solvatação. O fator predominante depende das naturezas químicas dos componentes, bem como das condições experimentais de temperatura, pressão e concentrações.

Brunner (1994) aponta que a escolha de um co-solvente deve ser realizada atentando para 3 principais efeitos no processo: 1- O ganho de solubilidade deve ser significativo, de maneira que a inserção de um novo composto no sistema seja justificada, 2 – A dependência da solubilidade com a

pressão e com a temperatura deve ser aumentada, 3- O fator de separação na presença do co-solvente deve ser aumentado. Nem sempre é possível um ganho significativo na solubilidade sem perda de seletividade. Portanto, deve-se levar em consideração o custo das etapas de separação adicionais que devem ser introduzidas no processo.

A inserção de um co-solvente no processo também altera os parâmetros cinéticos. Abaroudi et al. (1999) estudaram o efeito do co-solvente nos coeficientes de transporte do sistema β -naftol-tolueno-CO₂. Inicialmente o β -naftol foi impregnado em pelets cilíndricos de aço sinterizado e foram medidos a difusividade intra-partícula, coeficiente de transferência de massa externo e a dispersão axial no leito, utilizando o modelo cinético de encolhimento do núcleo. Neste modelo, assume-se que o solvente não penetra no sólido, o soluto está uniformemente distribuído na matriz sólida e que a matriz sólida não tem interação com o soluto. Esta última característica do modelo é uma limitação à sua utilização em processos de extração de compostos de produtos naturais, onde os solutos encontram-se complexados com outros compostos presentes nas matrizes. Neste modelo assume-se ainda que o solvente deixa o poro, no qual encontra-se o soluto, saturado e na superfície externa forma-se a interface na qual o soluto deverá se difundir. Estes autores estudaram o efeito da temperatura, pressão, percentual de co-solvente e vazão. Os resultados mostraram que o aumento de temperatura aumentou o valor da solubilidade do β -naftol, assim como a quantidade de massa extraída.

Entretanto, o aumento do coeficiente de difusão efetiva, devido ao aumento de temperatura nos sistemas contendo o co-solvente, em relação aos sistemas binários (CO₂- β -naftol) foi cerca de uma ordem de grandeza inferior. Este resultado pode ser atribuído aos diferentes tamanhos dos complexos de solvatação nos dois casos. No caso da pressão, inicialmente foi verificado um aumento nas taxas de extração. Entretanto, o aumento da pressão resulta em menores coeficientes externos de transferência de massa e difusividade efetiva. Os dados mostram ainda que a adição de co-solvente faz com que o aumento do rendimento do processo, devido ao aumento da pressão, seja insignificante. Os autores mostram que a variação dos parâmetros hidrodinâmicos do processo

Capítulo II: Revisão da literatura

(avaliados através dos números de Reynolds, Schmidt e Peclet) com as variações na pressão e temperatura foi insignificante.

Em relação ao efeito do co-solvente, os dados mostram que o coeficiente de transferência de massa aumenta com o aumento na concentração do solvente. A difusividade efetiva aumenta uma ordem de grandeza com a adição de tolueno, mas o efeito já não é significativo com o aumento da concentração de 6 para 10%. Os autores verificaram ainda que, variando a vazão na faixa de 1 a 4 L/min, os números de Schmidt e Peclet permanecem praticamente constantes, indicando que a difusividade e solubilidade intra-partícula não são afetadas pela vazão. Os dados mostram ainda que a massa total extraída ao final do processo foi menor nos sistemas em que o tolueno foi utilizado como co-solvente. Entretanto, os números de Reynolds e Grashof variam significativamente. Isso sugere que estes processos são controlados pela transferência de massa externa.

Em trabalhos mais recentes, Mantell et al. (2003, 2004) determinaram o coeficiente de difusão de malvidina 3,5 diglicosídeo pelo método cromatográfico de pulso de soluto em uma coluna capilar, utilizando como fluido de arraste misturas de metanol e CO₂ (concentrações 5, 10 e 20%, v/v) a diferentes temperaturas (40, 50 e 60°C) e pressões (100 a 400 bar). Estes autores observaram que o coeficiente de difusão diminui com o aumento da pressão e da temperatura. Estes resultados podem ser atribuídos às variações de densidade e viscosidade na região próxima ao ponto crítico das misturas supercríticas. Em relação ao efeito do co-solvente, aumentando-se a concentração de co-solvente observa-se que o coeficiente de difusão diminui quando a concentração de co-solvente aumenta. A redução no coeficiente de difusão deve-se ao aumento do cluster de solvatação.

Devido a maior disponibilidade de moléculas do co-solvente e também à maior proximidade do ponto crítico da mistura, a quantidade de moléculas localizadas ao redor da molécula do soluto aumenta. Os autores estimaram que, aumentando a concentração de 5 para 10%, o volume de espécies associadas duplica, e aumentando de 5 para 20%, triplica. A avaliação da capacidade das equações semi-empíricas disponíveis na literatura para a determinação dos parâmetros de transferência de massa mostrou que neste sistema, onde as moléculas de metanol podem se associar, o ajuste não foi bom. Apenas as

equações de Wilkie-Chang, Hayduck-Minhas, Daymond e Scheibel apresentaram desvios absolutos aceitáveis. Estas equações possuem parâmetros que levam em conta a auto-associação do metanol.

Zhong et al. (1997) estudaram o efeito da adição de etanol como co-solvente, na solubilidade de ácido esteárico em $\text{CO}_2\text{-SC}$. Os resultados indicaram um aumento de solubilidade do ácido esteárico com o aumento da percentagem de etanol em uma mesma pressão. Segundo os autores, este resultado ocorre devido à formação de pontes de hidrogênio entre a hidroxila do etanol e o oxigênio do ácido carboxílico, juntamente com o aumento da densidade do fluido supercrítico com a adição do co-solvente, melhorando o poder de solvatação do FSC.

Berna et al. (2001a) estudaram a variação da solubilidade de resveratrol em mistura de CO_2 e etanol. Este estudo foi motivado pela baixa solubilidade deste soluto em $\text{CO}_2\text{-SC}$. Os autores estudaram misturas com 5; 7,5; 10; 12,5 e 15% de etanol (fração molar). Os resultados apontam que as misturas contendo 7,5 % de etanol apresentavam o maior incremento da solubilidade (vide Figura 2.10). O decréscimo da solubilidade com o aumento da concentração de co-solvente pode ser associado a alguns fatores: 1- Maiores concentrações de co-solvente podem levar a um maior grau auto-associação das moléculas de co-solvente e dessa forma uma menor interação entre o soluto e os oligômeros, 2- Saturação das interações com a molécula do resveratrol.

Resultados distintos foram obtidos por Berna et al (2001b) no estudo da solubilidade de catequiina em misturas de CO_2 e etanol a diferentes concentrações (5 a 30%), pressões (80 a 130 bar) e temperatura de 313 K. Estes autores verificaram que para este sistema a solubilidade da catequiina aumentou exponencialmente com o aumento da concentração de co-solvente em todos os casos. Ting et al. (1993a) observaram resultados similares para o sistema naproxen- CO_2 -acetona. Estes autores relacionaram o comportamento de solubilidade do naproxen com o maior volume livre nos sistemas contendo fluidos supercríticos, quando comparado com soluções líquidas, pois vem favorecer as interações soluto-co-solvente e, conseqüentemente, a formação do cluster de solvatação devido ao aumento da densidade local em torno da molécula do soluto.

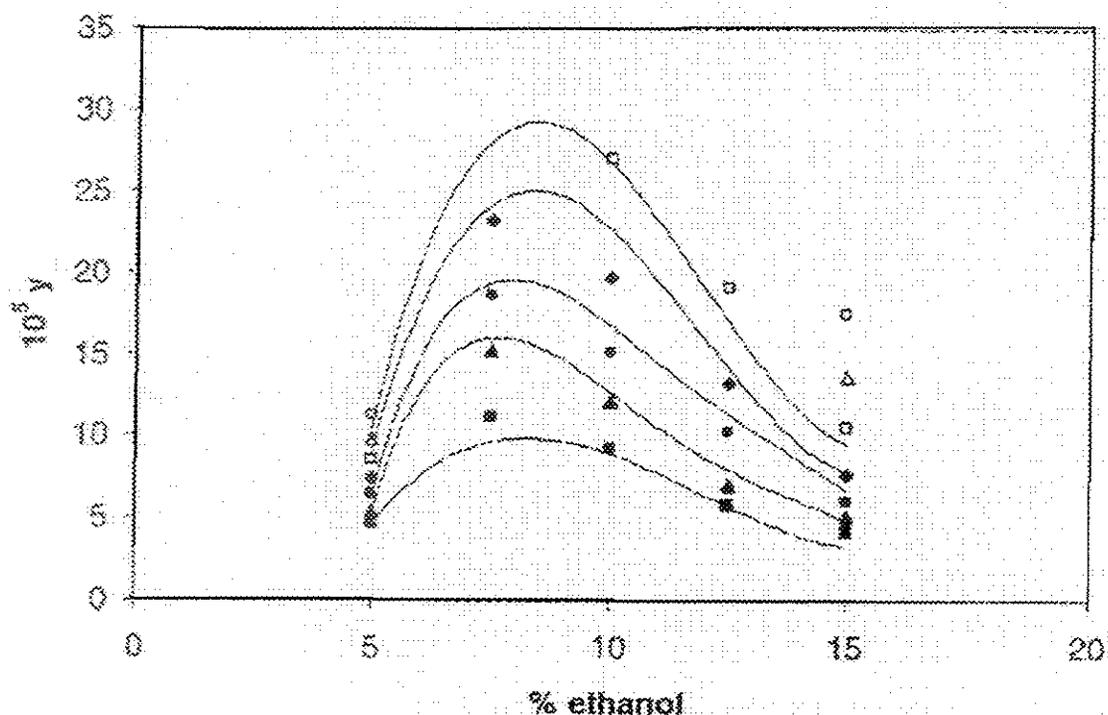


Fig. 3. Solubility γ of resveratrol (3) versus ethanol (2) fraction at: (■) 80 bar, (▲) 90 bar, (●) 100 bar; (◆) 110 bar; (□) 120 bar, (△) 130 bar and (○) 140 bar. Modelling by PR EOS [17] shown by the line.

Figura 2.10 Solubilidade do revasterol em função da fração molar de etanol a diferentes pressões.

A escolha do co-solvente e a maneira como este vai atuar no sistema pode ser relacionada com as características ácido/base de Lewis da molécula do co-solvente e do soluto. Walsh et al. (1987) utilizaram as tabelas de parâmetros solvatocrômicos de Kamlet et al. (1983) para explicar o efeito de co-solvente do metanol no sistema etano acridina. Com base nestes dados, o autor mostra que o metanol pode atuar tanto com um ácido forte de Lewis, quanto como uma base forte de Lewis, enquanto que a acridina é uma base forte de Lewis. Estas hipóteses foram confirmadas utilizando dados de espectroscopia de absorção de

infravermelho. Neste trabalho, os autores ainda mostram que durante a escolha do co-solvente deve-se levar também em consideração as interações entre o solvente e o co-solvente. Um exemplo é o efeito de co-solvente da acetona no sistema CO₂-acridina, que é insignificante. Este fato deve-se a competição entre a acridina e o CO₂ pelas moléculas de acetona, já que ambos podem atuar como bases de Lewis.

2.6- Princípios de adsorção

A adsorção é caracterizada pelo aumento de concentração de um ou mais componentes, inicialmente presentes em uma corrente líquida, gasosa ou de vapor, na superfície de um sólido, denominado adsorvente. Este fenômeno pode ser distinguido como adsorção física, no qual apenas forças intermoleculares estão envolvidas, e adsorção química, onde ocorre a formação de ligações químicas entre a molécula do adsorvato e do adsorvente (Ruthven, 1984).

A distinção entre estes dois fenômenos pode ser realizada de acordo com a especificidade de calores de adsorção e reversibilidade do processo (Ruthven, 1984; Rouquerol et al., 1999). A adsorção física não é seletiva e é resultado do campo elétrico gerado (o desequilíbrio das cargas nas moléculas dos adsorventes gera um campo) pelos compostos presentes na superfície do adsorvente, que efetivamente atraem ou repelem um determinado composto (Furian, 1990). Por ser um fenômeno que envolve apenas o balanço entre as forças de atração e repulsão entre moléculas, a adsorção física pode ocorrer em mono ou multicamadas, sendo a força com que as moléculas são adsorvidas nas camadas adjacentes menor à medida que se afastam da primeira camada. Por outro lado, a adsorção química é um fenômeno específico, no qual ocorre a formação de ligações químicas e transferência de elétrons entre a superfície do adsorvente e o adsorvato. A formação das ligações químicas entre as espécies limita a ocorrência da adsorção química em apenas uma única camada.

Uma maneira de identificar o tipo de adsorção presente em um dado sistema é a descrição da forma da isoterma e conseqüentemente a natureza do

processo de adsorção. Brunauer et al. (1945) dividiu as isotermas de adsorção em cinco tipos, de acordo com o tipo de interação e distribuição de tamanho de poros do adsorvente. Uma mudança na classificação das Isotermas foi sugerida em 1985 pela IUPAC através da inserção de mais um tipo. Na Figura 2.11, a seguir, apresentam-se as isotermas representadas pelo volume adsorvido em função da razão entre a pressão de vapor do adsorvato e pressão do sistema, P/P_0 .

As isotermas do tipo I têm como característica a adsorção numa única camada, que é o comportamento esperado da adsorção química, mas também observado na adsorção física para sistemas onde o material adsorvente apresenta sistema uniforme de poros na faixa dos microporos. Esse tipo representa os sistemas que podem ser descritos através das isotermas de Langmuir e são características dos adsorventes microporosos. Nestes sistemas, a quantidade adsorvida tende a um valor limite quando $P/P_0 \rightarrow 1$, sendo, portanto controlada pelo volume dos poros no lugar da área superficial interna. As isotermas do tipo II descrevem os sistemas onde ocorre a adsorção física em sólidos não porosos ou com estrutura dominante de macroporos, nos quais não há restrição à quantidade de camadas (podem ocorrer em mono ou multicamadas). Para estes tipos de sistemas pode ocorrer a condensação capilar.

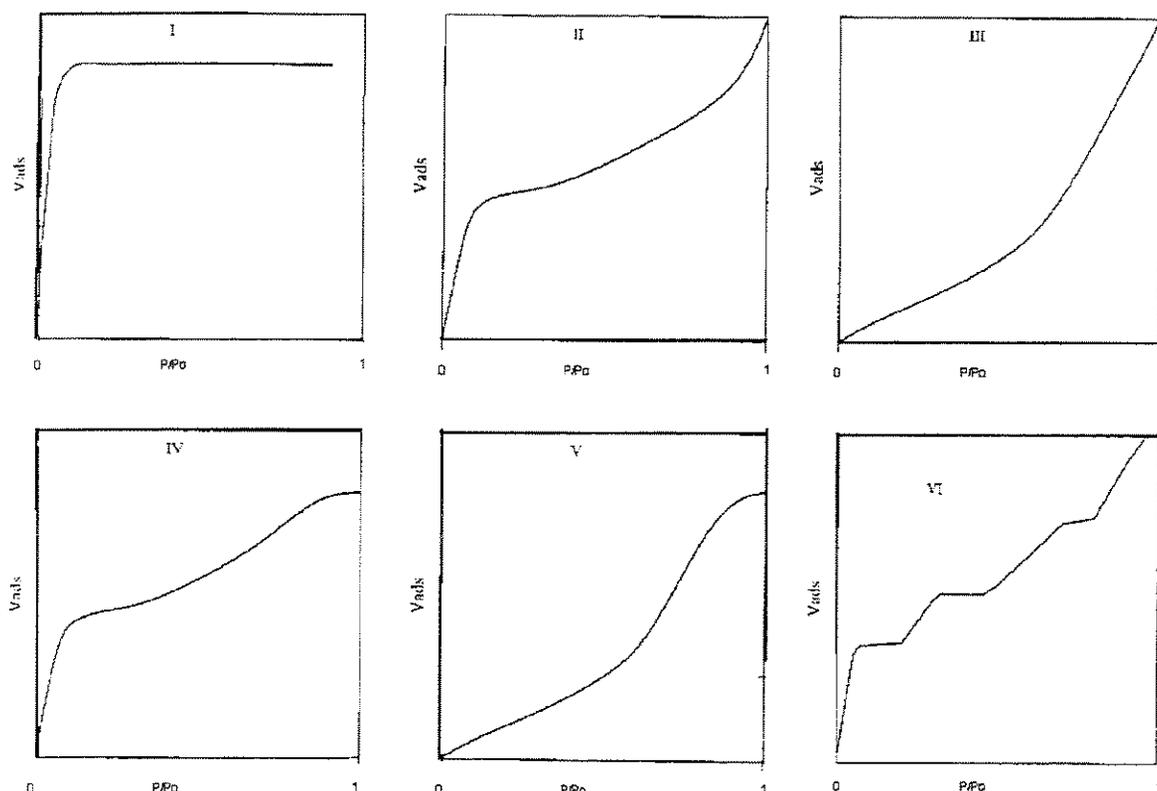


Figura 2.11 Modelos de isotermas de adsorção (Romanielo, 1999)

As do tipo III são semelhantes as do tipo II, entretanto não se verifica a existência do ponto de inflexão. Este tipo de isoterma é relativamente incomum. Entretanto, relata-se a existência de sistemas, nos quais as isotermas apresentam uma inclinação gradual.

As isotermas do tipo IV representam os sistemas nos quais o adsorvente apresenta uma estrutura de mesoporos em quantidade considerável. Nestes sistemas, ocorre além da etapa de condensação capilar, uma etapa de saturação devido ao enchimento dos poros. Para estes sistemas as interações intermoleculares são fortes e freqüentemente se observa histerese. A histerese resulta de diferenças entre os mecanismos de condensação e evaporação. Embora os efeitos dos possíveis fatores que causam a histerese ainda não sejam conhecidos, as formas resultantes são normalmente identificadas com a geometria dos poros, como citado por (Sing, 1985, Gregg, 1982).

Capítulo II: Revisão da literatura

As do tipo V não são comuns e são caracterizam-se por interações intermoleculares mais fortes entre as moléculas do adsorvato em comparação com as interações adsorvato-adsorvente. Para estes sistemas também é observado o fenômeno de histerese. Nos sistemas do tipo VI as forças de interação entre o adsorvato e o adsorvente são muito fortes e os poucos sistemas foram observados a temperaturas próximas à temperatura de fusão dos gases constituintes do adsorvato (Ruthven, 1984; Balbuena e Gubins, 1993; Rouquerol et al., 1999; Donohue e Aranovich, 1999).

Sing et al. (1985), em publicação da comissão de colóides e química de superfície da IUPAC, descrevem a metodologia recomendada para a determinação das isotermas de adsorção. Estes autores definem dois grupos de metodologias: 1- as que dependem do volume de gás removido da fase gasosa (métodos volumétricos) e as metodologias que medem o ganho de massa do adsorvente (métodos gravimétricos) mas na prática os métodos determinam a quantidade de gás adsorvido. Essas metodologias serão resumidamente apresentadas no texto a seguir.

No método volumétrico estático, uma quantidade de gás é alimentada a um recipiente fechado, mantido a temperatura constante, no qual se encontra o adsorvente. A pressão do sistema cai até o valor da pressão de equilíbrio. A quantidade de gás adsorvido é determinada pela diferença entre a quantidade de gás admitido ao sistema e a quantidade de gás necessária para ocupar o espaço ao redor do adsorvente. A isoterma de adsorção é construída através de alimentações sucessivas de gás com a ajuda das relações que descrevem o comportamento dos gases. Os métodos gravimétricos são geralmente realizados utilizando microbalanças a vácuo, nas quais a quantidade de gás adsorvida é medida diretamente através da mudança de peso do adsorvente. Estes dois métodos descritos são denominados estáticos. Os métodos dinâmicos permitem a determinação das isotermas de adsorção em condições de quasi-equilíbrio. Nestes métodos, que podem englobar técnicas volumétricas e gravimétricas, o adsorvato é admitido (ou removido) vagarosamente a taxas constantes, e monitorando a quantidade adsorvida através da diminuição (ou aumento) da

pressão. Em contrapartida aos métodos experimentais descritos, técnicas preditivas das isotermas de adsorção estão sendo desenvolvidas.

2.6.1 Materiais adsorventes

Apesar da capacidade de certos materiais para adsorver reversivelmente vapores e gases ser conhecida desde o século XVIII, a exploração desta na purificação de materiais e separação de misturas em escala industrial é relativamente recente (Ruthven, 1984). A escolha do adsorvente para a realização de uma dada separação deve levar em consideração os seguintes fatores: capacidade, seletividade, regenerabilidade, compatibilidade, custo, resistência mecânica e dimensão. Entretanto, não se deve esperar que um dado adsorvente apresente níveis ótimos para todos estes fatores (Schvartzman, 1999). A escolha do adsorvente pode ser realizada com base nos fatores de separação. Ruthven (1984) associa a escolha do adsorvente para um dado processo de separação com a determinação dos tempos de retenção dos solutos através de métodos cromatográficos.

Os adsorventes utilizados em processos industriais possuem elevada área superficial por unidade de massa (100 a 1000 m²/g), que é função da distribuição de poros dentro da partícula do sólido. A classificação comumente aceita dos diâmetros de poros em uma partícula trata os poros dentro de faixas: microporos (até 2 nm), mesoporos de (de 2 a 50 nm) e macroporos (maiores 50nm). Entretanto, a distribuição dos tamanhos de poros varia muito entre adsorventes que não possuem uma estrutura cristalina ordenada, como é o caso da sílica gel, alumina ativada, carvão ativo, etc. O oposto ocorre em determinados adsorventes denominado de zeólitas (ou peneiras moleculares). As características destes materiais são sucintamente apresentadas no texto a seguir:

Zeólitas

Pode-se definir zeólitas como alumino-silicatos hidratados contendo cátions de metais alcalinos e alcalinos terrosos, em particular Na, K, Mg e Ca. São formadas por uma rede tri-dimensional de tetraedros de AlO_4 e SiO_4 , onde os elementos metálicos encontram-se no centro do tetraedro e os átomos de oxigênio fazem pontes ligando um tetraedro ao outro.

A zeólita possui uma grande superfície interna devido aos seus canais e poros, o que faz dela uma boa “peneira molecular”, ou seja, uma boa seletora de materiais. Geralmente é utilizada como adsorvente em separações específicas em soluções eletrolíticas. Possuem uma distribuição de energia de adsorção definida, seu volume total interno da cavidade não é totalmente preenchido e a adsorção ocorre sempre no sentido de minimizar as repulsões e maximizar as forças adsorvidas com a rede.

Sílica-Gel

A sílica-gel é uma forma de sílica parcialmente hidratada composta por átomos de silício intercalados com átomos de oxigênio, formando estruturas tetraédricas distribuídas aleatoriamente em uma rede geométrica tridimensional. Sua estrutura apresenta grupos siloxanos no interior e grupos silanóis nas extremidades. Estes são os responsáveis pelas modificações químicas que a superfície da sílica pode sofrer; no caso deste estudo, um revestimento com C18. São ácidos fracos de Brønsted com pKa em torno de 9. É altamente porosa com elevada área superficial. Apresenta grande estabilidade mecânica, física e química. A adsorção ocorre em multicamadas (principalmente com adsorvatos polares, como a água). A remoção das moléculas adsorvidas é geralmente realizada por aquecimento, o que faz da sílica gel um material muito utilizado nos processos de adsorção.

Argilas

Argilas são materiais naturais, terrosos, de granulação fina, que adquirem plasticidade quando umedecidas. São constituídas pelos minerais argilosos, além de quartzo, gibsita, matéria orgânica e impurezas. Possuem grande área superficial e partículas finas, conseqüentes de suas características coloidais e seus aspectos estruturais inerentes. Devido a sua característica de grande área superficial, é muito utilizada em processos de adsorção, principalmente porque tem estrutura tetraédrica, na qual os grupos tetraédricos estão ligados entre si formando “folhas” hexagonais contínuas, que formam camadas, o que facilita a adsorção.

Resinas de Troca Iônica

Resinas orgânicas de troca iônica formam uma classe muito importante de trocadores de íons, tendo sido utilizadas na separação de vários tipos de compostos orgânicos, podendo-se citar: ácidos orgânicos, ésteres, álcoois, entre outros. Sua estrutura, denominada matriz, consiste em uma rede macromolecular, tridimensional e irregular de cadeias hidrocarbônicas. Por ter uma estrutura reticular, as resinas trocadoras de íons são insolúveis em praticamente todos os solventes, o que a coloca dentro de um grupo seletivo de materiais adsorventes. Observa-se que a matriz é elástica e pode se expandir. Por isso, tais resinas podem intumescer em contato com determinados solventes. No caso da adsorção, estas resinas são escolhidas mediante a flexibilidade de suas cadeias, seu grau de reticulação e sua solubilidade no solvente no qual deseja-se utilizar.

Carvão Ativo.

Rouquerol et al. (1999) relatam a não existência de uma definição precisa para o carvão ativo. Entretanto, é de consenso que é um material carbonáceo de considerável área superficial; aqueles utilizados em aplicações industriais apresentam área superficial média de 2000 m²/g. A estrutura do carvão ativo é essencialmente formada por microcristais de grafite mantidos juntos de maneira randômica. Este adsorvente apresenta características apolares,

entretanto algum grau de polaridade pode ocorrer devido à oxidação da superfície. Conseqüentemente, o carvão ativo tende a ser hidrofóbico e organofílico (Ruthven, 1984). Estas propriedades conferem ao carvão ativo um grande campo de aplicação em processos nos quais a seletividade do adsorvente não é um fator importante, com, por exemplo, o tratamento de águas industriais, descoloração de açúcar, entre outros.

2.7 Acoplamento de outras operações unitárias ao processo de extração

Quando a extração seletiva dos solutos de interesse não é possível, pode-se ainda acoplar ao sistema outras operações unitárias como, por exemplo, adsorção, separação por membranas, entre outras, a fim de promover a separação desejada. (Kelley e Chimowitz, 1990; Afrane e Chimowitz, 1995; Afrane e Chimowitz, 1996; Neves, 1996; Mohamed et al, 2000; Corzo et al., 2000). Neste processo, a separação se dá devido às diferenças de interação dos solutos de interesse com o adsorvente e o solvente supercrítico, muito se assemelhando a técnica de cromatografia. No texto a seguir serão abordados trabalhos publicados na literatura envolvendo separações de misturas solubilizadas em um solvente supercrítico através do uso de colunas de adsorção em meio supercrítico.

Uchida et al. (1997) e Iwai et al. (1994) estudaram a separação dos isômeros 2,6 dimetilnaftaleno e 2,7 dimetilnaftaleno solubilizados em CO₂ supercrítico através de uma coluna de adsorção empacotada com uma zeólita do tipo Na-Y. Foram abordadas as faixas de temperatura e pressão de 308 a 318 K e de 12 a 19,8 MPa, respectivamente. Os dados de coeficiente de separação mostram que a eficiência da coluna na purificação dos componentes aumenta com a elevação da pressão e diminuição da temperatura. Por outro lado, verifica-se que para uma mesma temperatura, o aumento na pressão resulta em concentrações mais altas dos solutos na corrente efluente da coluna de adsorção, para um tempo mais curto, indicando que nessas condições de processo a capacidade de adsorção da coluna diminui. Isto pode ser reflexo das maiores solubilidades dos solutos no fluido supercrítico e ainda efeito da competição entre

o solvente e os solutos pelos sítios de interação do adsorvente. O efeito da temperatura é relatado pelos autores como consequência da menor energia de interação entre as moléculas do soluto com o adsorvente, ou ainda, como sugerido pelos autores, um efeito de competição entre os solutos.

Afrane e Chimowitz (1995) estudaram a adsorção de benzeno, tolueno, o-xileno e naftaleno em uma coluna de ODS2 utilizando como fluido de arraste misturas de CO₂ e etano. Estes autores realizaram a análise da termodinâmica do processo de adsorção, utilizando inicialmente para a descrição do potencial químico dos solutos na fase sólida uma versão simplificada do modelo do retículo de Bragg-Williams. Como etapa posterior, as propriedades do soluto na fase estacionária foram determinadas de acordo com a lei de Henry. Para a determinação das propriedades do soluto na fase supercrítica foi utilizada uma equação para o potencial químico baseada em conceitos da mecânica estatística e utilizando a equação de Peng-Robinson para o cálculo do coeficiente de fugacidade. Este trabalho representou uma continuação do trabalho de Afrane e Chimowitz (1993) onde a metodologia de cálculo foi desenvolvida. A análise termodinâmica realizada pelos autores visou obter expressões para a determinação do coeficiente de capacidade da coluna para cada um dos compostos.

O coeficiente de capacidade é definido como a razão entre as concentrações dos solutos na fase estacionária e a concentração dos mesmos na fase fluida. Este parâmetro pode ser facilmente obtido experimentalmente através da determinação da razão entre a diferença de retenção do soluto e o tempo de retenção de um composto que não adsorve no material da coluna pelo tempo de retenção do composto que não adsorve. A definição deste parâmetro é a mesma apresentada por Uchida et al. (1997) e Iwai et al. (1994) para o coeficiente de separação. Afrane e Chimowitz (1993, 1995) determinaram o comportamento do fator de capacidade com a pressão e a temperatura. Estes autores observaram que, para uma mesma temperatura, este parâmetro aumenta com o aumento da temperatura, passando por um máximo e em seguida decrescendo. Este comportamento reflete o comportamento da adsorção na proximidade do ponto

Capítulo II: Revisão da literatura

crítico, podendo o processo ser endotérmico ou exotérmico. A diferentes pressões, o mesmo comportamento é observado. Entretanto, a altura do pico diminui.

A descrição termodinâmica do processo apresentada pelos autores mostrou um bom grau de sucesso na predição do comportamento de adsorção em meio supercrítico e próximo ao ponto crítico do solvente, uma vez que houve boa concordância entre os valores preditos pelo modelo e os dados experimentais. Este modelo apresenta como grande vantagem o pequeno número de parâmetros ajustáveis e, dessa forma, poucos dados experimentais para a regressão dos mesmos. A particularidade do comportamento dos sistemas adsorvente-solutos-solvente na região próxima ao ponto crítico (comportamento endotérmico - exotérmico) pode ser explorada no projeto de processo de separação por adsorção (Tapia-Corzo et al., 2000).

Reverchon (1997) estudou a dessorção seletiva de limoneno (terpeno) e linalol (terpeno-oxigenado) de uma coluna de sílica gel a temperaturas variando entre 40 e 60 °C e pressões entre 75 e 200 bar. Este autor realizou ensaios binários e ternários nos quais inicialmente impregnou os compostos puros em sílica gel, e nas composições de 50 e 80% de limoneno (ensaios ternários). O material impregnado foi empacotado em uma coluna de alta pressão e dessorvido em experimentos conduzidos a uma vazão de 0,8 kg/h de CO₂ supercrítico. Os resultados em sistemas binários mostraram que a taxa de dessorção aumenta com a pressão em ambos os casos, mas, devido às interações do linalol com os grupos silanois presentes na superfície da sílica serem mais fortes, a recuperação do linalol após 150 min foi de apenas 6%, enquanto que 99% do limoneno já havia sido recuperado.

Em relação à temperatura, os autores observaram que o aumento na temperatura resultou em menores taxas de dessorção. Entretanto, este comportamento foi detectado devido à faixa de pressão abordada no trabalho. Para valores de pressão mais elevados, onde a influência da temperatura na densidade do solvente já não é tão significativa, maiores temperaturas resultam em maiores taxas de dessorção devido às energias de interação do soluto com o adsorvente serem mais fracas. A vazão do solvente nos níveis estudados, não teve influência nos resultados. Observou-se ainda uma dessorção seletiva do

limoneno em relação ao linalol em todas as pressões e temperaturas estudadas. À medida que a pressão aumentou, a taxa de dessorção também aumentou, como esperado, mas houve uma perda significativa de seletividade.

Tapia-Corzo et al. (2000) estudaram o processo de adsorção, em uma coluna empacotada com ODS-2 de 10 μ m, de sistemas binários formados por benzeno, naftaleno e 2,6 DMN em CO₂ supercrítico a temperaturas de 308 e 323K e a um valor de pressão de 90bar (valor próximo à pressão crítica do CO₂). Estes autores observaram que o aumento na temperatura gerou aumento no tempo de ruptura para todos os solutos. Este comportamento foi associado à característica endotérmica do processo de adsorção na região próxima ao ponto crítico do solvente. Em estudos utilizando sistemas ternários, os autores verificaram que as grandes diferenças entre os tempos de ruptura dos solutos deixaram de existir. A coluna perdeu eficiência como processo de separação devido aos efeitos sinérgicos positivos apresentados pelos sistemas.

Subra et al. (1998) estudaram o processo de adsorção dos terpenos comumente presentes em óleo de cítricos, utilizando uma coluna de sílica silanizada, na qual os solutos eram colocados em contato com uma corrente de CO₂ puro em um misturador. Após a concentração da corrente efluente do misturador alcançar um valor de composição constante, essa solução foi alimentada a uma coluna de adsorção (15,5 cm x 1,8 cm di) e alíquotas foram tomadas em intervalos regulares de tempo, para a construção das curvas de breakthrough para cada um dos componentes presentes na mistura. Essas curvas foram construídas em função do volume reduzido (razão entre o volume de efluente e o volume de vazios da coluna) versus a concentração de cada soluto no efluente da coluna. Esta forma de representação permite comparar diferentes corridas experimentais devido às pequenas diferenças no volume de vazios da coluna em cada corrida. Os resultados mostraram que os terpenos foram separados em hidrocarbonetos e compostos oxigenados, sendo que os compostos oxigenados apresentaram maiores volumes de “*breakthrough*” devido às maiores polaridades e, conseqüentemente, maiores forças de interação com o material adsorvente que os hidrocarbonetos. Na descrição das interações moleculares envolvidas no sistema, os autores fazem a análise considerando todas as

Capítulo II: Revisão da literatura

possíveis interações entre pares envolvendo a fase fluida, o adsorvente e o adsorvato. Nesta análise, para um sistema adsorvente/ fluido, a retenção do soluto é descrita pela análise da constante de equilíbrio, que reflete a força relativa das interações entre o soluto com as fases estacionária e fluida. As interações entre o adsorvente e o adsorvato foram avaliadas através da determinação do parâmetro de energia e as interações entre os adsorvatos e a fase fluida, pela determinação da solubilidade.

Foi verificado que as curvas de ruptura dos solutos apresentaram um pico de concentração, que está associado à substituição das moléculas com menores interações com o adsorvente pelas moléculas que adsorvem com maior intensidade. No início do processo, todas as moléculas são adsorvidas. Quando as moléculas que interagem com menor intensidade começam a ser substituídas pelas moléculas que apresentam maior afinidade com o adsorvente, a concentração das moléculas que adsorvem fracamente aumenta na saída da coluna. O valor de concentração supera a concentração de alimentação, o que mostra a existência de competição entre os adsorvatos pelos sites do adsorvente.

Neste trabalho, os autores avaliaram ainda o efeito da concentração de alimentação, temperatura de processo e densidade do fluido supercrítico. Observaram que, à medida que a concentração da solução de alimentação aumentou, a coluna perdeu eficiência de separação, o que foi atribuído a efeitos sinérgicos entre os adsorvatos. Entretanto, a discussão do efeito da temperatura deve ser distinguida em dois casos: se a pressão é mantida constante ou se é elevada para manter a densidade constante. No caso em que a pressão foi mantida constante, aumentos de temperatura resultaram em maiores volumes de “*breakthrough*” no caso em que a pressão foi elevada, o efeito inverso foi verificado.

Domingo et al. (2001) estudaram o processo de adsorção do ácido benzóico e do ácido salicílico em alumina, sílica gel e amberlite utilizando CO₂ supercrítico como solvente. Neste trabalho, foram avaliados sistemas binários e ternários nos quais se procurou identificar os efeitos da pressão, temperatura e tempo de extração e natureza do material adsorvente na adsorção dos componentes. Foi observado que a temperatura e a natureza do solvente são as

variáveis de processo que exercem maior influência. É interessante a análise sobre a natureza do adsorvente. Solutos polares têm maior afinidade com adsorventes hidrofílicos em relação aos hidrofóbicos. Desse resultado, pode-se estimar a maior ou menor afinidade de um determinado soluto por um dado adsorvente, com base nas suas solubilidades em solventes polares e apolares.

Entretanto, a análise não é tão simples; a capacidade das moléculas de se auto-associarem influenciam na cinética de adsorção. Aquelas que formam dímeros passam a ter um tamanho molecular maior, e conseqüentemente um menor coeficiente de difusão. A polaridade das moléculas e, por conseguinte, a sua afinidade por adsorventes hidrofílicos, também é alterada, como foi observado pelos autores. Neste trabalho, os autores não deixam explícita a razão pela qual a adsorção dos solutos em alumina é baixa, apesar de ter a mesma característica da sílica gel (grupos OH – na superfície). Ao que parece, a área superficial da alumina, que é aproximadamente três vezes menor que a da sílica-gel, é um fator importante a ser considerado. No caso de sistemas ternários formados de fluido supercrítico e dois solutos, verificou-se também a possibilidade de adsorção seletiva de um dos solutos mostrando a potencialidade de utilização do processo de adsorção como técnica de separação de misturas (Domingo et al., 2001).

Lim e Rizvi (1996) estudaram a remoção de colesterol do óleo de manteiga utilizando CO₂ supercrítico como solvente e acoplado uma coluna de adsorção empacotada com silicato de magnésio ao processo de extração. Além da remoção do colesterol e recuperação eficiente do óleo de manteiga, os autores observaram que, após a etapa de dessorção, o adsorvente manteve a sua capacidade de adsorção. Mohamed et al. (1998) realizaram estudo semelhante utilizando uma coluna de adsorção empacotada com alumina, acoplada ao processo de extração, e CO₂ supercrítico como solvente. Além da remoção completa do colesterol, observaram que o fracionamento do óleo de manteiga em três grandes frações: leves, médios e pesados. Em trabalho posterior do grupo de pesquisa, Mohamed et al. (2000) estudaram o mesmo processo utilizando etano supercrítico como solvente. Estes autores observaram a remoção completa do colesterol utilizando uma massa de etano cerca de 10 vezes menor que a massa de CO₂ necessária para promover a mesma separação. Isto se deve ao fato da

Capítulo II: Revisão da literatura

solubilidade do óleo de manteiga e do colesterol serem cerca de duas ordens de grandeza superiores em etano supercrítico quando comparado aos valores de solubilidade em CO₂ supercrítico nas mesmas condições de temperatura e pressão.

Lucas et al. (2004) estudaram as isotermas de adsorção do acetato de etila e do furfural em carvão ativo, inicialmente solubilizados em CO₂ supercrítico. Estes autores correlacionaram os dados das isotermas de adsorção em função da densidade do solvente. Comparando os dados na mesma densidade, os autores observaram que a afinidade dos compostos pelo adsorvente aumenta a menores temperaturas. Os autores observaram ainda que, a temperatura constante, o aumento da pressão, e conseqüentemente da densidade do solvente, resultou em uma menor capacidade de adsorção do material. Os autores relacionaram este efeito com o aumento das forças de interação entre o soluto e o solvente em comparação com as forças das interações entre o soluto e os grupamentos funcionais na superfície do adsorvente. Estes autores correlacionaram os dados obtidos utilizando as isotermas de adsorção de Langmuir, Freundlich e Redlich-Peterson. Foi observado que a isoterma de Langmuir apresentou menores desvios na correlação dos dados do acetato de etila, enquanto que a isoterma de Freundlich apresentou desvios de apenas 3% para os sistemas contendo furfural. Estes autores ainda utilizaram a equação de Van't Hoof para calcular a entalpia de adsorção dos componentes no carvão ativo. A determinação da entalpia de adsorção dá uma idéia da força de interação entre o soluto e o material adsorvente, ou seja, o tipo de adsorção (físico ou química). Estes dados mostraram que para ambos os casos a adsorção é física e, comparando os valores de ΔH obtidos, o furfural (valor de 26 kJ/mol) é mais fortemente adsorvido que o acetato de etila (valor de = 9 kJ/mol) pelo material adsorvente.

Tan et al. (2003) estudaram o processo de recuperação da cafeína solubilizada em CO₂ supercrítico em membranas de sílica meso-porosas e silicato micro-porosas suportadas sobre tubos de alumina com diâmetro médio de poro de 200 nm e que, a depender do tratamento empregado, apresentavam superfícies internas hidrofílicas ou hidrofóbicas. Os resultados dos ensaios experimentais realizados a 35°C e 13,79 MPa mostraram que, nos ensaios em que a superfície

da sílica no filtro foi hidrofílica, a cafeína ficou retida no interior do filtro com excelentes níveis de remoção, começando a decair ao final de 8 horas de experimento. Nos ensaios realizados com os filtros nos quais a superfície da sílica foi hidrofóbica, a remoção da cafeína decaiu com o tempo, até que no limite de 5 h de operação o nível de remoção caiu para zero. Comparando as espessuras e características das membranas, e os tamanhos de poro, os autores associaram o elevado grau de remoção de cafeína com a adsorção de cafeína na camada de sílica meso-porosa depositada na superfície interior da membrana. Nestes ensaios, ficou evidente que após um período longo de operação, a saturação da camada de sílica faz com que o grau de remoção (sílica hidrofílica) caia para zero quando o equilíbrio de adsorção é atingido. Os resultados dos filtros confeccionados com silicatos micro-porosos também apresentaram excelentes níveis de remoção, mas neste caso a remoção deve-se à exclusão por tamanho.

Como variante do processo de adsorção, Schaeffer et al. (1989) utilizaram uma resina de troca catiônica para purificar a monocrotalina da *crotolaria spectabilis*. Neste processo, a adsorção é realizada através das interações químicas entre as moléculas monocrotalina e as moléculas da resina. Estes autores conseguiram excelentes resultados, isolando a monocrotalina com purezas superiores a 95%. Trabalhos mais recentes, como o de Wang et al (2004) utilizaram a técnica de adsorção por modulação de pressão na separação de esqualeno e α -tocoferol inicialmente solubilizados em dióxido de carbono supercrítico. Neste trabalho os autores utilizaram como material adsorvente octadecilsílica. Os autores reportaram a concentração de esqualeno até 98% a partir de uma mistura com 80% de esqualeno.

2.8 Extração supercrítica de princípios ativos de produtos naturais

A extração de princípios ativos de produtos naturais iniciou-se no final da década de 70 na Alemanha através dos processos de descafeinização dos grãos de café verde. A partir destes processos a tecnologia de extração utilizando fluidos supercríticos se desenvolveu muito, assim como a gama de substâncias

Capítulo II: Revisão da literatura

estudadas. Entretanto, não é possível generalizar os conhecimentos desenvolvidos nestas últimas décadas para todos os produtos naturais e princípios ativos devido às particularidades de cada sistema (matriz vegetal do produto natural). Dentre estas particularidades, pode-se citar a influência das diversas substâncias presentes na matriz vegetal, efeitos de co-solvência ou competição do princípio ativo pelo solvente, polaridade do composto, interação com a matriz vegetal, forma na qual o princípio ativo encontra-se presente na matriz vegetal, etc. Nesta seção, serão apresentados e discutidos alguns dos diversos trabalhos publicados na literatura sobre a recuperação de princípios ativos de produtos naturais.

As particularidades acima descritas foram evidenciadas no trabalho de Del Valle et al. (2005) que compilou os diversos trabalhos dos principais grupos de pesquisa da América Latina atuando na área de extração supercrítica. Dentre as principais classes de compostos estudados, podem-se citar: óleos essenciais, antioxidantes, cumarinas, triglicerídios, carotenóides e alcalóides. Comparando os dados de extrações de óleos vegetais dos diferentes trabalhos, os autores verificaram que as correlações para a predição da solubilidade de triglicerídios apresentam bons resultados, devido ao fato dos triglicerídios que constituem os óleos vegetais apresentarem em média 54 carbonos e que a solubilidade destes compostos é função da massa molecular e que o grau de insaturação não apresenta um efeito significativo. Esta observação geral já não pode ser utilizada no caso dos óleos essenciais, onde as diferentes classes de compostos (monoterpenos, monoterpenos oxigenados, sesquiterpenos e sesquiterpenos oxigenados), presentes em diferentes concentrações, massas moleculares e polaridades, tornam muito difícil uma generalização. O pré-tratamento dispensado à matriz vegetal também influencia o rendimento do processo. Novamente, utilizando como exemplo a extração de óleos vegetais, trabalhos disponíveis na literatura mostraram que o rendimento de extração dos óleos vegetais diminuem com o aumento do tamanho de partícula devido ao aumento da área superficial específica (razão entre a área superficial e o volume da partícula) e o aumento do percentual do óleo livre na superfície da partícula. Ainda a respeito da extração de óleos vegetais, cabe ressaltar que parâmetros, como a umidade da matriz vegetal, influenciam significativamente o rendimento do processo. Eggers (1996) reportou

que teores de umidade superiores a 12% reduzem o rendimento do processo, devido ao intumescimento das membranas da matriz vegetal e bloqueio dos sítios lipofílicos. Apesar de impedir a remoção dos óleos vegetais, a água é um excelente co-solvente para a extração de alcalóides. A indústria de descafeinização do café utiliza CO₂-saturado em água como co-solvente. Nestes processos, os grãos de café são umidificados e o CO₂ antes de ser alimentado ao processo é saturado com água. Peker et al. (1992) reporta que rendimentos da ordem de 92% são obtidos neste processo.

O efeito da natureza do solvente foi estudado por Azevedo e Mohamed (2001) e Azevedo et al. (2003) na extração da gordura do cupuaçu utilizando como solventes supercríticos CO₂, CO₂ saturado em etanol e etano como solventes. Os resultados mostraram que em todos os casos uma extração efetiva da gordura foi obtida. Comparando os resultados obtidos para os sistemas, nas mesmas condições de pressão e temperatura, nos quais CO₂ e CO₂/etanol foram utilizados como co-solvente, houve uma redução de 75 % no tempo de extração e quantidade de solvente necessária utilizando etanol como co-solvente. Comparando ainda estes resultados com os obtidos para os sistemas nos quais etano supercrítico foi utilizado como solvente, observou-se que o etano foi o solvente mais eficiente. Estes resultados foram analisados com base nas forças de interação intermoleculares (solvente-triglicerídio) presentes nos sistemas. No caso do etano, as forças de dispersão foram duas ordens de grandeza superiores às calculadas para os sistemas utilizando CO₂ e CO₂/etanol como solvente. Comparando os sistemas nos quais a mistura CO₂/etanol foi utilizada como solvente com os sistemas nos quais CO₂ puro foi utilizado como solvente, as forças de indução foram superiores no primeiro e foi especulada a possibilidade de formação de pontes de hidrogênio entre a molécula do álcool e os oxigênios dos grupamentos carboxila esterificados da molécula do triglicerídio. Resultados similares foram observados por Illés et al. (1997) no estudo da extração do óleo dos frutos de *Rosa canina* com CO₂ supercrítico, propano e misturas de CO₂ e propano.

Kopcak et al. (2004) estudaram o efeito da adição de etanol e isopropanol como co-solvente ao CO₂ na extração de cafeína das sementes de guaraná.

Capítulo II: Revisão da literatura

Comparando os resultados obtidos pelos autores com os dados de Saldaña et al. (2002), os autores verificaram que a adição de etanol a uma concentração de 10% (m/m) aumentou a extração de cafeína em duas ordens de grandeza. O efeito do co-solvente foi associado com o aumento da densidade do solvente e com a formação de pontes de hidrogênio entre a molécula de cafeína e a do álcool. Estes autores verificaram ainda que o rendimento do processo inicialmente aumenta com a pressão e subseqüentemente diminui. Os autores associaram estes resultados à perda de seletividade do solvente em relação aos fenóis presentes nas sementes de guaraná. Os dados mostraram ainda que o etanol foi mais eficiente como co-solvente que o isopropanol. A este fato são associados dois fatores: 1- como as misturas foram preparadas em bases mássicas e como a molécula do isopropanol tem maior massa molecular, uma menor quantidade de hidroxilas estava disponível no sistema para formar os complexos de solvatação com as moléculas de cafeína. 2- os autores também associaram estes resultados com impedimentos estéricos e de transporte do co-solvente para o interior da partícula.

O comportamento do rendimento do processo com a pressão, a uma mesma temperatura também foi observado por Saldaña (1997) e Canela et al. (2002), e no estudo da extração de cafeína dos grãos de café com CO₂ supercrítico e de ácidos graxos e carotenóides de *Spirulina máxima* com CO₂ supercrítico, respectivamente. Comportamento similar com o uso de co-solventes foi verificado por Pereira et al. (2004) no estudo da extração de alcalóides de *Tabernaemontana catharinensis*, utilizando CO₂ adicionado de etanol como co-solvente. Estes autores observaram que a 35°C o rendimento total da extração diminuiu com o aumento da pressão de 200 para 300 bar. O comportamento inverso foi observado a 55°C com o maior rendimento dos alcalóides coronaridina e voacagina sendo obtidos a 45°C e 250 bar apesar do rendimento total ser mais baixo que a 55°C e 250 bar. Estes resultados mostram uma perda de seletividade do solvente com o aumento da pressão e temperatura. Os autores verificaram ainda que, aumentando o percentual de co-solvente de 4,6 para 9,2 % nos ensaios realizados a 55°C e 300 bar, os rendimentos totais, assim como a razão alcalóides/ extrato total praticamente dobraram.

Além dos efeitos da pressão, temperatura e natureza do solvente, o efeito da matriz vegetal também deve ser levado em consideração. Em um estudo com sistemas modelo Björklund et al. (1988) estudaram a extração da clevidipina impregnada em papel de filtro, esferas de aço inox, esferas de vidro e areia, utilizando CO₂ supercrítico como solvente a 28,3 MPa a 40°C e a uma vazão de 4,0 mL/min. Os autores verificaram que as esferas de vidro e aço inox apresentaram as mesmas taxas de extração e recuperação de 80% da massa impregnada. Entretanto, nos ensaios em que a clevidipina foi impregnada em papel de filtro, a taxa de extração foi muito menor e o rendimento total de extração foi de apenas 5%.

He et al. (2003) estudaram a extração de esqualeno e óleo dos grãos de *Amaranthus* utilizando CO₂ como solvente na faixa de pressão de 150 a 300 bar e temperaturas de 40 a 70°C utilizando diferentes tamanhos de partícula. Os dados mostraram que, reduzindo o tamanho de partícula, as taxas de extração aumentam significativamente. Isto se deve ao aumento da área superficial e à maior disponibilidade de soluto livre na superfície da partícula, devido à ruptura das estruturas celulares nas quais estão contidos. Os resultados mostram que o rendimento de extração do óleo aumenta com o aumento da pressão a temperatura constante. Os dados mostram ainda a presença do comportamento retrógrado.

Entretanto, os dados de extração do esqualeno mostram que inicialmente o rendimento de extração aumenta com o aumento da pressão, a temperatura constante. Aumentos sucessivos da pressão resultaram em menores rendimentos de extração. Os autores determinaram a concentração do esqualeno nos extratos e verificaram que, apesar do rendimento de extração do óleo aumentar, a concentração de esqualeno atinge o máximo a 200 bar, caindo com novos aumentos de pressão. Neste caso, fica evidente uma perda de seletividade do solvente em relação ao esqualeno. Resultados similares foram observados por Hadolin et al. (2001) no rendimento total da extração de princípios ativos de *Silybum marianum* utilizando CO₂ e propano supercríticos como solventes.

Capítulo II: Revisão da literatura

Choi et al (1999a, 1999b, 2000) estudaram a extração dos alcalóides hyoscyamina e escopolamina de *Scopolia Japonica*, metil efedrina, norefedrina, efedrina e pseudoefedrina de *Ephedra sinica* e de cephalotaxina das folhas de *Cephalotaxus wilsoniana* utilizando CO₂ supercrítico e co-solventes. Estes autores apontam para o fato de que ,apesar de alguns destes alcalóides apresentarem altas solubilidades no CO₂ supercrítico puro, os rendimentos de extração a partir da matriz vegetal são muito baixos. Este fato segundo os autores se deve ao fato de que os alcalóides encontram-se presentes nos tecidos vegetais na forma de sal conjugados com ácidos orgânicos presentes nos tecidos vegetais. Os autores verificaram ainda que a adição de um co-solvente com características básicas (ex: soluções de dietilamina em água ou metanol) aumenta drasticamente a solubilidade dos alcalóides, pois o alcalóide na forma de base livre é muito solúvel no CO₂ supercrítico.

CAPÍTULO 3 : Objetivos do trabalho de pesquisa

3.1 Objetivo geral

O objeto geral dessa tese de doutorado foi a investigação da tecnologia que utiliza fluidos supercríticos para a extração e purificação de princípios ativos do café, visando tanto o desenvolvimento adequado do processo como a obtenção de produtos de alto valor agregado. Foram determinados dados experimentais inéditos e levantados subsídios teóricos necessários ao desenvolvimento do processo de recuperação dos ácidos clorogênicos, cafeína e lipídios dos grãos de café verde. Além disso, foi desenvolvido um novo equipamento para processamento de produtos naturais com fluidos supercríticos, usando tecnologia nacional desenvolvida nesse trabalho de tese.

3.2 Objetivos específicos

1-Estabelecer o comportamento da solubilidade dos princípios ativos em solventes supercríticos pela determinação das solubilidades da cafeína e lipídios em CO₂ supercrítico puro através de sistemas modelos em função das condições termodinâmicas.

2- Determinar as condições de temperatura e pressão, ou seja os valores de densidade do solvente em que os valores de solubilidade e seletividade desses compostos sejam atrativos e vantajosos para estabelecer estratégias viáveis à extração e/ou separação explorando o efeito combinado dessas variáveis termodinâmicas.

Capítulo III: Objetodos

3-Avaliar a extração dos princípios ativos do café, a separação por meio do uso de co-solventes e/ou o acoplamento de outra operação unitária ao processo.

4- Ajustar modelos termodinâmicos reportados na literatura para a correlação da solubilidade desses compostos.

CAPÍTULO 4: Materiais e métodos

Neste capítulo são abordadas as metodologias de análise e os equipamentos que foram utilizados neste trabalho. É também apresentada a relação de material de consumo (colunas cromatográficas, reagentes, cilindros de gás, vidrarias, etc.) utilizados na realização dos experimentos e análises dos extratos.

4.1- Matéria prima

Grãos de café verde da espécie *Coffea Arábica* cultivar Mundo novo foram obtidos junto ao Instituto Agrônomo de Campinas, São Paulo (Brasil). Para permitir a análise correta dos dados, foi adquirido e utilizado um lote único da matéria prima, o qual foi conservado adequadamente para manutenção das suas características e qualidades. Os grãos foram moídos utilizando um moinho de facas. Em etapa subsequente os grãos foram separados por diâmetro de partículas e transferidos para frascos de vidro munidos de tampa rosqueável e em seguida armazenados em freezer a -18°C . Esse lote foi utilizado em todos os experimentos.

Cafeína 99,99% (Sigma) e ácido 5-cafeioquínico (Merck), metanol grau HPLC (Em Science, Merck), etanol P.A. (Sinth), Isopropanol P.A. (Carlo Erba), Acetona grau HPLC (Mallinckrodt), acetonitrila grau HPLC (Em Science, Merck), Sílica gel 60 (Merck) e Resina Aniônica Dowex-1 (Sigma) foram obtidos junto a fornecedores locais. O óleo bruto de café verde (*Coffea Arábica*) foi doado pela Chemyunion.

Dióxido de Carbono (99,8%) e as misturas CO_2 /etanol (5% m/m) e CO_2 /isopropanol (5% m/m) foram adquiridas junto à White Martins, Campinas, SP.

4.2 Equipamentos de extração supercrítica

Neste trabalho foram projetadas e montadas duas unidades de extração supercrítica com a capacidade e versatilidade necessárias para a realização dos ensaios propostos. A unidade apresentada na Figura 4.1 foi projetada e construída pelo MSc. Alvaro B. A. de Azevedo na oficina da Faculdade de Engenharia Química da Unicamp. Esta unidade foi efetivamente utilizada na realização dos ensaios experimentais e é descrita a seguir. O equipamento apresenta grande versatilidade, possibilitando o controle independente das variáveis termodinâmicas pressão e temperatura e da vazão de solvente, além da possibilidade de mudança de configuração através de um sistema de válvulas. O equipamento possui duas bombas em paralelo, P-1 e P-2, marca Milton Roy, modelo 396 - 89, fornecidas pela Thermo Separation Products, Fremont, CA, USA, que permitem um fluxo individual de 46 a 460ml/hora, e uma pressão máxima de descarga de 414 bar.

As bombas são compostas por um sistema de deslocamento positivo tipo pistão. Na sucção das bombas apresentam-se como elementos de proteção uma válvula de retenção (Autoclave Engineers), que permite o fluxo em um único sentido e um filtro de linha (Autoclave Engineers), para impedir a danificação da bomba por algum eventual contaminante do solvente. Para garantir que o solvente e o co-solvente cheguem à sucção da bomba no estado líquido, cada linha possui um trocador de calor tipo casco tubo. A solução refrigerante (solução aquosa de etileno glicol 30% v/v) é suprida aos trocadores de calor por um refrigerador Neslab, modelo CFT-25 munido de indicação digital de temperatura que abaixa a temperatura do fluido até -2°C .

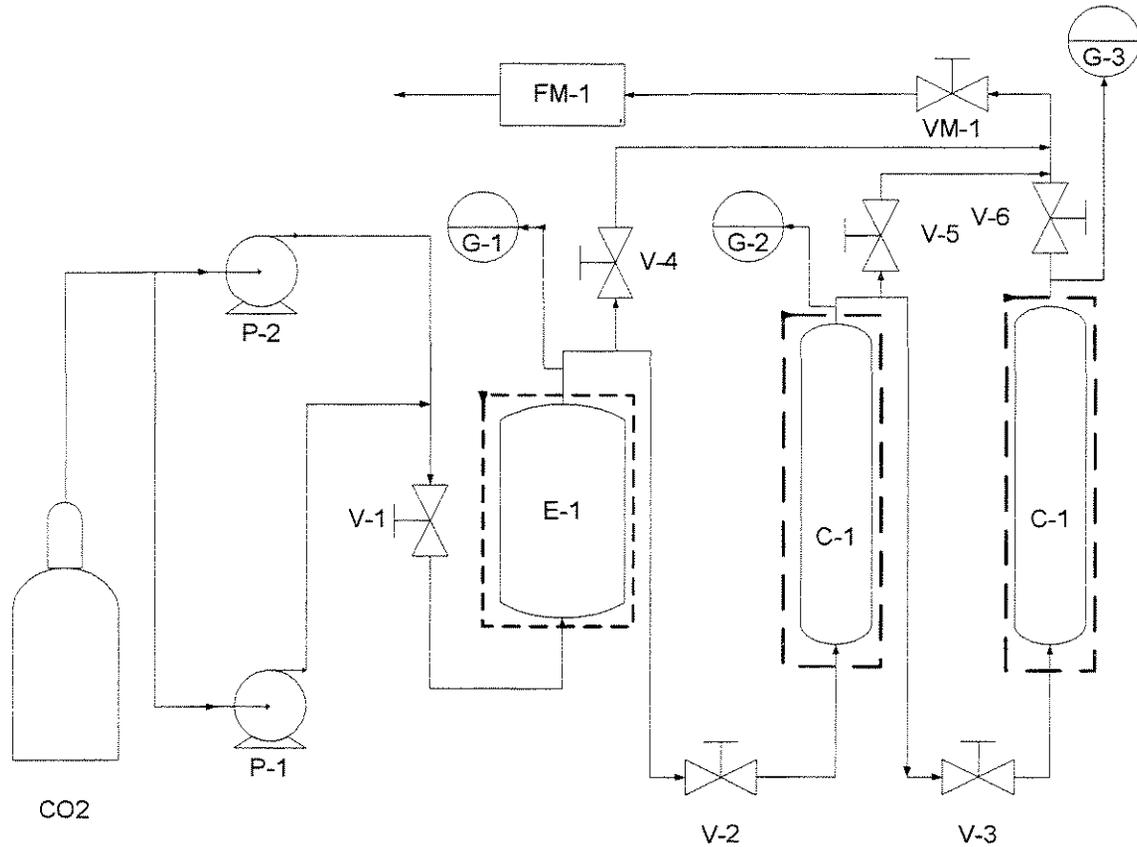


Figura 4.1 – Equipamento de extração supercrítica.

E-vaso de extração, G-manômetro, P-bomba, C- coluna de Separação, V-válvula de bloqueio, Vm-válvula micrométrica, FM-medidor totalizador de vazão

O equipamento possui um extrator de 300mL (L=18,5 cm X D = 4,5 cm) (E-1) de capacidade fabricado em aço inoxidável, tipo 316SS (Stainless Steel) projetado para resistir a pressões de até 372 bar, na temperatura de 343°C, e duas colunas (C-1 e C-2) de alta pressão 2,54cm DE X 1,27cm di X 30 cm. O extrator possui no seu interior um termopar que registra a temperatura interna. Ao redor do extrator encontra-se uma camisa de aquecimento elétrica ligada a um controlador de temperatura (Eurotherm, Reston, Virginia, USA). As colunas são mantidas dentro de fornos e o controle de temperatura é realizado através de um regulador de voltagem. A medida de temperatura é tomada na superfície externa da coluna através de termopares tipo J. No extrator e colunas, a entrada se apresenta na parte inferior e a saída na parte superior. Nas tubulações que ligam as bombas aos extratores, existem válvulas do tipo gaveta (V-1) que permitem

Capítulo IV: Materiais e métodos

operar separadamente cada um dos vasos, e uma válvula de segurança (safety head), (V-4) com disco de ruptura (pressão de ruptura = 42,7 MPa) para proteger o extrator de pressões acima do limite do equipamento. A pressão nos extratores é monitorada através de manômetros de 0 a 689,5 bar instalados na saída da tubulação e fornecidos pela Autoclave Engineers. Encontra-se também um monitor digital de pressão HEISE modelo 901A (G-1), que permite registrar a pressão com precisão de $\pm 0,5$ bar. A fase fluida, após deixar o extrator, passa por uma válvula micrométrica (Autoclave Engineers) que permite regular a vazão e controlar a pressão da saída a condições ligeiramente superiores à pressão atmosférica. Neste processo de passagem através da válvula ocorre a condensação/precipitação do soluto, que é recolhido no separador. Para evitar a possibilidade de congelamento da válvula e do CO₂ em função da expansão do gás, uma fita de aquecimento envolve a válvula e a parte da tubulação subsequente. A tubulação de saída ainda é provida por dois filtros, um coalescente e um de carvão ativo que permitem a retirada de eventuais impurezas da corrente de gás, que segue para o totalizador de fluxo tipo mássico (FM-1) (EG&G Technologies).

A Segunda Unidade foi projetada pelo grupo de extração supercrítica do Laboratório de Engenharia de Processos e Produtos (LEPP) da Faculdade de Engenharia Química da Unicamp (Pesquisadores envolvidos no Projeto: MSc Alvaro B. A. de Azevedo, Dr. Rahoma Sadeg Mohamed) em colaboração com a AUTIC Automação e Instrumentação Industrial (Mauricio Perissinot, diretor). Este equipamento encontra-se em período de teste e em processo de patenteamento. A descrição detalhada desta unidade constitui a seção 6 do capítulo V deste documento.

4.3 Determinação da solubilidade dos compostos de interesse em CO₂ puro

4.3.1 Solubilidade de cafeína

Para a determinação da solubilidade da cafeína em CO₂ supercrítico foram realizados ensaios experimentais na faixa de temperatura de 50 a 70°C e de pressão entre 152 a 352 bar. Na realização destes ensaios, aproximadamente 30 g de cafeína foram alimentadas ao extrator misturadas em esferas de vidro, visando-se melhorar a distribuição do solvente através do aumento da área de contato entre o solvente e soluto. O solvente foi alimentado lentamente ao extrator, a fim de prevenir o arraste do soluto. Atingidas as condições de operação, as determinações da solubilidade foram realizadas através do método dinâmico com fluxo contínuo. A vazão do CO₂ foi fixada em 1 L/min de gás expandido. Este valor foi fixado com base no trabalho de Kopcak (2003) que determinou a solubilidade de cafeína nos solventes supercríticos (CO₂/etanol 5% m/m e CO₂/isopropanol 5% m/m). Amostras foram coletadas após a passagem de 30 g de CO₂ pelo extrator. Cada ponto experimental representa a média de 5 experimentos independentes. As amostras foram coletadas por precipitação do material ao despressurizar a mistura através de uma válvula micrométrica. A massa de CO₂ foi determinada através de um medidor totalizador de fluxo mássico. A solubilidade foi calculada em fração molar e em bases mássicas. Após as análises dos dados obtidos, a pressão e temperatura do sistema foram modificadas para o nível seguinte e o procedimento acima descrito foi repetido, desprezando as duas primeiras medidas (em um total de 7 determinações).

Em todos os ensaios realizados neste trabalho, após a realização do experimento o sistema foi lavado com etanol aquecido até que a determinação da concentração de cafeína no álcool de lavagem, determinada por espectrofotometria (Seção 4.8.1), estivesse dentro da faixa de erro do equipamento. Antes que um novo experimento fosse iniciado, o equipamento foi seco utilizando ar comprimido e dióxido de carbono pressurizado.

4.3.2 Ensaio de solubilidade do óleo bruto de café verde

Como descrito anteriormente, o óleo de café verde é constituído por uma mistura de triglicerídios, diglicerídios, monoglicerídios, ácidos graxos livres, terpenos, etc. Entretanto, devido à estreita faixa de massa molecular dos triglicerídios dos óleos vegetais, o comportamento de solubilidade destes compostos é muito similar (del Valle et al; 2005; Perry et al, 1949). Testes experimentais de determinação de solubilidade de óleos vegetais realizadas neste grupo de pesquisa (Saldanã 2002; Azevedo et al 2003) mostraram que a composição das frações obtidas permanece praticamente constante e que os óleos estudados se comportaram como um pseudo componente. No óleo de café doado pela Chemyunion, que foi obtido por prensagem, foi observada através de análises por HPLC a presença de cafeína na concentração média de 2,7 g/kg de óleo, e também determinou-se a presença de compostos de alta viscosidade, que possivelmente são ceras.

Os ensaios experimentais foram realizados carregando-se aproximadamente 15 g de óleo de café no extrator misturado com esferas de vidro. O CO₂ supercrítico foi alimentado ao processo até que as condições experimentais (T e P) fossem atingidas. O sistema foi deixado em repouso por uma hora para que as flutuações cessassem. Após este período, as bombas foram novamente ligadas e o CO₂ alimentado continuamente ao processo. A válvula micrométrica localizada a jusante do extrator foi aberta e a vazão fixada em 1 L/min de gás expandido. Frações foram coletadas em intervalos de 100 L (ou 100 min) até o esgotamento do óleo no extrator e, a massa de óleo coletada em cada fração foi determinada por gravimetria.

4.4 Extração dos princípios ativos do café utilizando CO₂ puro e adicionado de co-solventes

Para explorar a capacidade dos solventes supercríticos (CO₂ puro, CO₂/Isopropanol, 95/5% m/m e CO₂/etanol, 95/5% m/m) foram empregados co-

solventes na extração de cafeína, óleo e ácidos clorogênicos dos grãos de café verde, e realizadas extrações a 50 e 60°C e pressões de 15,2, 24,8 e 35,2 MPa. As vazões dos solventes foram mantidas em 1,0 L/min este nível de vazão foi adotado com base nos trabalhos de Filippi (1982). Amostras de 15 g de grãos de café verde moídos (diâmetro médio de 0.725 mm), previamente secos em estufa a 60 °C por 24 horas, foram colocadas no extrator. Em um experimento típico de extração, o solvente foi alimentado pelas bombas ao extrator, previamente mantido na temperatura de processo, até que a pressão de extração desejada fosse alcançada.

Após as condições de processo serem alcançadas, a válvula micrométrica localizada a jusante do extrator foi aberta lentamente, de maneira a manter a pressão constante no extrator e a vazão no nível desejado. A corrente de saída do extrator (fluido supercrítico e os componentes do extrato) foi despressurizada através da válvula micrométrica. O extrato precipitado foi recuperado nos frascos de separadores colocados em um banho de gelo. Etanol foi colocado no último frasco separador para assegurar recuperação completa do extrato precipitado. Nestes experimentos, foram coletadas frações a intervalos de tempo determinados pela passagem de 183 e 91,5 g de CO₂ e misturas CO₂/co-solventes, respectivamente. A quantidade de solvente foi determinada pelo medidor totalizador de fluxo tipo mássico.

4.5 Ensaio de refino do óleo de café utilizando colunas de adsorção

Nesta etapa do trabalho, foram realizados ensaios experimentais nos quais uma coluna de adsorção (coluna separadora do equipamento convertida em coluna de adsorção) empacotada com 20 g de sílica-gel 60, previamente seca a 120°C em estufa por 24 horas, foi acoplada ao processo a jusante do extrator. Nestes ensaios, aproximadamente 15g de óleo foram alimentadas ao extrator misturadas com esferas de vidro. Os ensaios foram realizados nas mesmas condições de pressão, temperatura e vazão utilizada na determinação da solubilidade do óleo de café verde (pressões de 28,3 MPa a 35,2 MPa e

temperaturas de 50 e 70°C), de maneira que a concentração do óleo na entrada da coluna fosse conhecida. A pressão e temperatura na coluna de adsorção foram mantidas nos mesmos níveis das condições no extrator, não foi verificada, através dos manômetros instalados na saída do vaso de extração e na saída da coluna de adsorção, perda de carga no sistema. O CO₂ foi lentamente alimentado ao sistema até que a pressão atingisse o nível operacional estabelecido. Em seguida, a válvula micrométrica localizada a jusante da coluna de adsorção foi lentamente aberta e a vazão fixada no valor estabelecido de 1L/min. Amostras foram coletadas em intervalos regulares de 100 L de gás expandido e armazenadas para posterior análise.

4.6 Ensaios de extração sequencial por mudança de polaridade do solvente

Nestes ensaios experimentais, adotou-se a estratégia da extração sequencial dos compostos por mudança da polaridade do solvente a 31,7 e 35,2 MPa nas temperaturas de 50 e 70°C. Aproximadamente 17 g de grãos de café moídos (dpm = 0,35 mm) e secos em estufa a 60°C por 24 horas foram empacotados em uma coluna localizada a jusante do vaso de extração de 300 mL. Inicialmente, foi realizada uma extração exaustiva utilizando dióxido de carbono puro como solvente, visando a recuperação do óleo de café e parte da cafeína. A vazão foi fixada em 1 L/min de gás expandido. Amostras foram coletadas após a passagem de 150 L de gás pela coluna. Após a extração do óleo de café e parte da cafeína o CO₂ foi inicialmente alimentado ao vaso de extração de 300 mL, no qual foi previamente alimentado etanol (150 mL), isopropanol (150 mL) ou metanol (150 mL) e o sistema levado às mesmas condições de pressão e temperatura da coluna, na qual se encontra a amostra de grãos de café desengordurada e parcialmente descafeinada. Em seguida, o dióxido de carbono supercrítico saturado com um destes álcoois foi alimentado ao vaso no qual se encontrava a amostra de café, com a finalidade de extrair os ácidos clorogênicos e o restante da cafeína. Amostras foram coletadas após a passagem de 50 L de gás pelo extrator. Após a retirada de cada amostra, o extrator foi aberto e o volume do

álcool completado para 150 mL, de maneira que a composição do solvente alimentado na coluna se mantivesse constante durante todo o processo. Ao final desta etapa obteve-se um extrato alcoólico contendo os ácidos clorogênicos, cafeína e açúcares.

4.7 Separação utilizando resinas de troca iônica

Resinas de troca iônica têm sido utilizadas na separação de várias classes de compostos orgânicos, podendo-se citar: ácidos orgânicos, ésteres, álcoois, entre outros. Neste trabalho, optou-se por acoplar a versatilidade da tecnologia que utiliza fluidos supercríticos com as vantagens da cromatografia de troca iônica. Este processo de separação apresenta como vantagens a eficiência, estabilidade, e o fácil controle sobre a seletividade (Waksmundzka-Hajnos, 1998). Ensaios preliminares utilizando Dowex-1, uma resina do tipo SAX (“Strong anion-exchange”) mostrou-se eficiente na separação dos ácidos clorogênicos e dos açúcares presentes em extratos alcoólicos obtidos dos grãos de café verde por métodos convencionais.

Os ensaios foram realizados acoplado uma coluna empacotada com resina de troca iônica DOWEX-1 localizada à jusante da coluna na qual se encontra a amostra de café. Nestes ensaios após a etapa de extração do óleo e de parte da cafeína (procedimento descrito anteriormente), a coluna foi acoplada. Os procedimentos descritos para os ensaios de varredura foram executados e o extrato alcoólico foi alimentado a coluna de troca iônica. Para recuperação posterior dos ácidos clorogênicos retidos no leito fixo de resina de troca iônica foi inicialmente utilizada uma solução aquosa de ácido acético, conforme procedimento descrito por Betessaura et al (1996).

4.8 Métodos analíticos

Nesta seção são apresentados os métodos analíticos empregados na determinação das concentrações dos princípios ativos presentes nos extratos. Também são descritos os métodos de determinação das concentrações de açúcares e fenóis totais, que constituem etapas de caracterização dos extratos.

4.8.1 Determinação da concentração de cafeína por espectrofotometria

Nos ensaios de solubilidade de cafeína pura em CO₂ supercrítico, todo o soluto retirado do extrator foi dissolvido em 250 mL de etanol absoluto utilizando-se um balão volumétrico. Uma alíquota de 1 mL foi retirada e diluída em 100 mL de etanol absoluto. Estas soluções foram então analisadas em um espectrofotômetro de UV HP 84453. As diluições utilizadas foram definidas em testes preliminares para que os máximos de absorbância estivessem em torno de 1,5, respeitando a faixa em que a concentração é diretamente proporcional a absorbância (Lei de Beer). A quantidade de cafeína foi determinada comparando-se os resultados com uma curva de calibração estabelecida, que relaciona absorbância, a 270 nm, de cafeína pura em álcool com a concentração do alcalóide no extrato.

4.8.2 Análise do teor total de fenóis

Para a análise do teor total de fenóis foi utilizado o procedimento de determinação colorimétrica adotado por Swain e Hillis (1959). Dos extratos obtidos em cada ensaio, alíquotas de 5 mL de cada fração (diluídas previamente para 250 mL) foram retiradas e colocadas em tubos de ensaios, secas em estufa a 90°C por 12 h. Aos tubos de ensaios foram adicionados 3,5 mL de água destilada. Em seguida, 250 µL de reagente de Folin-Ciocaltean foram adicionados e misturaram-se as soluções com auxílio de um Vortex Quimis. Após três minutos, 0,5 mL de

solução saturada de carbonato de sódio anidro (17,5 g/ 50 mL de água), foi adicionado, agitando-se em seguida. Após uma hora, estas soluções foram analisadas em um espectrofotômetro UV-Visível Pharmacia. A quantidade total de fenóis, extraída em cada fração, foi determinada comparando-se os resultados com uma curva de calibração previamente estabelecida que relaciona absorbância, a 725 nm, de soluções padrão de fenol (C₂H₅OH) submetidas ao mesmo procedimento mencionado acima. Os resultados obtidos são relativos às massas de fenol utilizadas para a obtenção da curva de calibração, conforme procedimento adotado por Swain e Hillis (1959).

4.8.3 Determinação dos isômeros do ácido clorogênico por cromatografia líquida de alta performance

Nestas determinações foi empregada a metodologia otimizada por Saldaña (1997), utilizando-se um cromatógrafo Shimadzu LC-10 equipado com detector UV operando a 313 nm. As análises foram conduzidas usando solventes isocráticos (metanol 20% em 0,5% de ácido acético aquoso) e uma coluna empacotada com C18 (4,6 mm x 250mm, 5 µm).

4.8.4 Determinação de cafeína por cromatografia líquida de alta performance

As análises foram realizadas utilizando a técnica da cromatografia líquida de alta performance (HPLC) de acordo com a metodologia utilizada por Mazzafera et al. (1997) e Saldaña (1997). Nestas análises, foi utilizado um cromatógrafo Shimadzu LC-10AD, equipado com detector UV operando a 280 nm disponíveis no laboratório. A fim de promover uma separação eficiente foi utilizada uma coluna empacotada com C18 (4,6 mm x 250mm, 5 µm) e uma solução aquosa de metanol e ácido acético (metanol 20% em 0,5% de ácido acético aquoso).

4.8.5 Análise da composição do óleo de café por CLAE

Neste trabalho foi adotada a metodologia para análise de determinação da composição de triglicerídeos desenvolvida por Deffense (1983). Esta mesma metodologia foi utilizada por Facioli e Gonçalves (1998) e por Azevedo et al. (2003). A determinação da concentração dos triglicerídios nas frações de óleo e nos extratos de café foi realizada utilizando um cromatógrafo Shimadzu LC-10AC, equipado com detector índice de refração Shimadzu RID-10A, uma coluna de C18 (4,6 mmx 250mm, 5 µm)

4.8.6 Análise de açúcares solúveis totais por espectrofotometria

O procedimento analítico para a determinação do percentual de açúcares solúveis totais constituiu-se em tomar 20 µL da amostra, diluir em 80 µL de água destilada, em seguida adicionar 500 µL de fenol e 2mL de H₂SO₄ e fazer a leitura em espectrofotômetro (Pharmácia) em 490nm e comparar com uma curva de calibração previamente montada utilizando como padrão de referência a sacarose.

CAPÍTULO 5. Resultados e discussões

Neste capítulo são apresentados os resultados experimentais obtidos no decorrer desta tese de doutorado. Os resultados são discutidos com base em fundamentos teóricos e observações experimentais previamente reportados na literatura.

5.1 Validação do equipamento e metodologia experimental (solubilidade de cafeína)

Conforme descrito na Seção 4.3.1, foram realizados ensaios experimentais de determinação de solubilidade de cafeína em CO₂ supercrítico. Dados de solubilidade para este sistema foram obtidos por alguns autores, entre os quais se pode citar: Saldaña (1999), Johannsen e Brunner (1994), para uma grande faixa de condições de pressão e temperatura. Neste trabalho foram realizados ensaios experimentais de determinação de solubilidade nas pressões de 15,2 a 35,2 MPa e temperaturas de 50 a 70 °C pelo método dinâmico, com vazão de 1L/min (CNTP) com a finalidade de:

- 1- Validar a metodologia experimental.
- 2- Validar a nova unidade de extração supercrítica construída no LEPP/FEQ/UNICAMP.
- 3- Identificar o comportamento das isotermas de solubilidade e a pressão superior de cruzamento das isotermas.

Os dados obtidos são apresentados na Figura 5.1 e comparados com os reportados previamente por Johannsen e Brunner (1994)

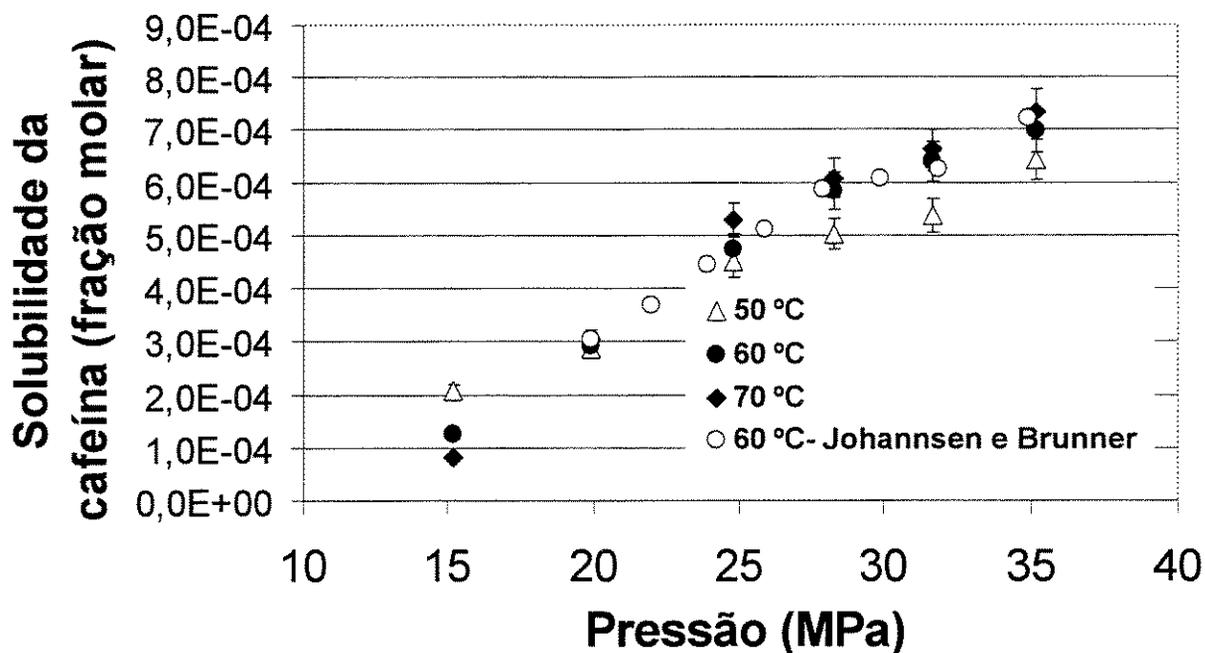


Figura 5.1 Dados de solubilidade de cafeína em CO₂ supercrítico.

Os dados apresentados na Figura 5.1 representam a média de cinco determinações experimentais nas mesmas condições de processo com desvio experimental médio de 6%. Pode-se observar uma boa concordância dos dados experimentais obtidos neste trabalho com os dados reportados na literatura, o que valida o equipamento e a metodologia experimental empregada. Os dados de solubilidade da cafeína em CO₂ supercrítico mostram que aumentos na pressão elevam a solubilidade devido ao aumento da densidade do solvente e conseqüentemente do poder de solvatação. Estes resultados podem ser também associados ao aumento das forças de interação físicas entre as moléculas do soluto e do solvente, uma vez que são forças de curto alcance e que aumentam de intensidade à medida que a distância entre as moléculas diminui (Morita e Kajimoto, 1990; Bai et al. 1997; Bulgarevich et al. 2002).

O efeito da temperatura sobre a solubilidade da cafeína confirma a existência do comportamento retrógrado. Este comportamento, muito comum em sistemas envolvendo fluidos supercríticos, deve-se a dois efeitos competitivos

ocorrendo simultaneamente. Estes efeitos são a redução da densidade do solvente e o aumento da pressão de vapor do soluto. Devido às grandes flutuações de densidade observadas para pequenos incrementos de pressão ou temperatura na proximidade do ponto crítico, o efeito predominante é o da redução da densidade do solvente e, conseqüentemente a solubilidade do soluto diminui devido à redução do poder de solvatação. À medida que as condições de processo se distanciam do ponto crítico, a densidade do solvente passa a ser menos sensível a variações na temperatura e o efeito do aumento da pressão de vapor passa a predominar, provocando o aumento na solubilidade do soluto. O ponto onde as isotermas se cruzam é conhecido como pressão de cruzamento e representa o ponto onde estes dois efeitos são equivalentes e se compensam (Chimowitz e Pennisi, 1986; Foster et al., 1991; Johnston et al., 1987). Os dados mostram ainda que a pressão superior de cruzamento para esse sistema é 19,3 MPa e a existência do comportamento retrógrado para pressões inferiores a este valor. Entretanto, a proximidade dos dados de solubilidade obtidos para as diferentes isotermas sugerem uma faixa de pressão em torno de 19,3 MPa onde os dados de solubilidade para as diferentes temperaturas são próximos. O valor da pressão de cruzamento para este sistema está de acordo com o valor de pressão de cruzamento (19 MPa) reportado por Sálvaña (1997) que determinou dados de solubilidade na faixa de temperatura de 40 a 70°C e pressões de 9,7 a 23,4 MPa.

5.2- Comportamento de extração e de solubilidade do óleo bruto de café verde

O óleo de café verde é um importante insumo para a indústria de cosméticos e atualmente apresenta um preço elevado no mercado, que pode vir a ser reduzido a depender da quantidade comercializada. Obtido por prensagem mecânica, o óleo bruto de café verde apresenta em sua composição cafeína, ácidos graxos livres, mono, di e triglicerídios, terpenos, esteróis, ésteres de terpenos e ésteres de esteróis, sendo, portanto, uma mistura multicomponente

complexa formada por compostos de diferentes funções químicas, moléculas de tamanho variado e propriedades físico-químicas (Nikolova-Damyanova, et al., 1998).

Buscou-se, portanto, identificar o comportamento de solubilidade do óleo de café verde e determinar como os compostos presentes no óleo de café se distribuíam nas frações de óleo de café coletadas em ensaios de extração utilizando CO₂ supercrítico como solvente, conforme descrito na Seção 4.3.2.

É importante salientar que o óleo de café verde bruto alimentado ao extrator, apresentava uma coloração verde escura e opaca, devido provavelmente à presença de pigmentos (ex. clorofila) e fosfolipídios e ceras. O óleo extraído neste trabalho apresentou uma intensa coloração amarela e aspecto cristalino, o que representa um certo grau de refino e que pode ser interessante para a formulação de cosméticos e medicamentos.

Após a completa extração do óleo de café do extrator foi verificado que no fundo do extrator permanecia uma fração de alta viscosidade após a depressurização do sistema. Análises dessa Fração por HPLC mostraram que não havia a presença de triglicerídios nessa fração. Acredita-se que este resíduo pode ser a cera presente nas cascas dos grãos de café e extraídas em conjunto durante o processo de prensagem (Folstar, 1985). Esta cera é constituída por poli-álcoois que devido as suas características físico-químicas não são extraíveis pelo CO₂ supercrítico em pressões inferiores a 40 MPa. (Brunner, 1994, Taylor, 1996).

Foram obtidos dados de extração do óleo bruto de café verde em CO₂ supercrítico na faixa de pressão de 15,2 a 35,2 MPa e temperaturas de 50 a 70°C e a uma vazão de 1 L/min de CO₂ medido nas CNTP. Em todos os ensaios foram alimentadas massas de óleo de aproximadamente $15 \pm 1,5$ g e o desvio experimental, calculado através de ensaios em duplicata escolhidos aleatoriamente dentro das condições experimentais investigadas, foi de 5,4%. Foram coletadas amostras (Frações) após a passagem de 100L (ou 100 min) de CO₂ através do extrator até o esgotamento do óleo (aproximadamente 20 horas).

Os resultados experimentais obtidos nessas determinações são apresentados nas Figuras 5.2 a, b e c.

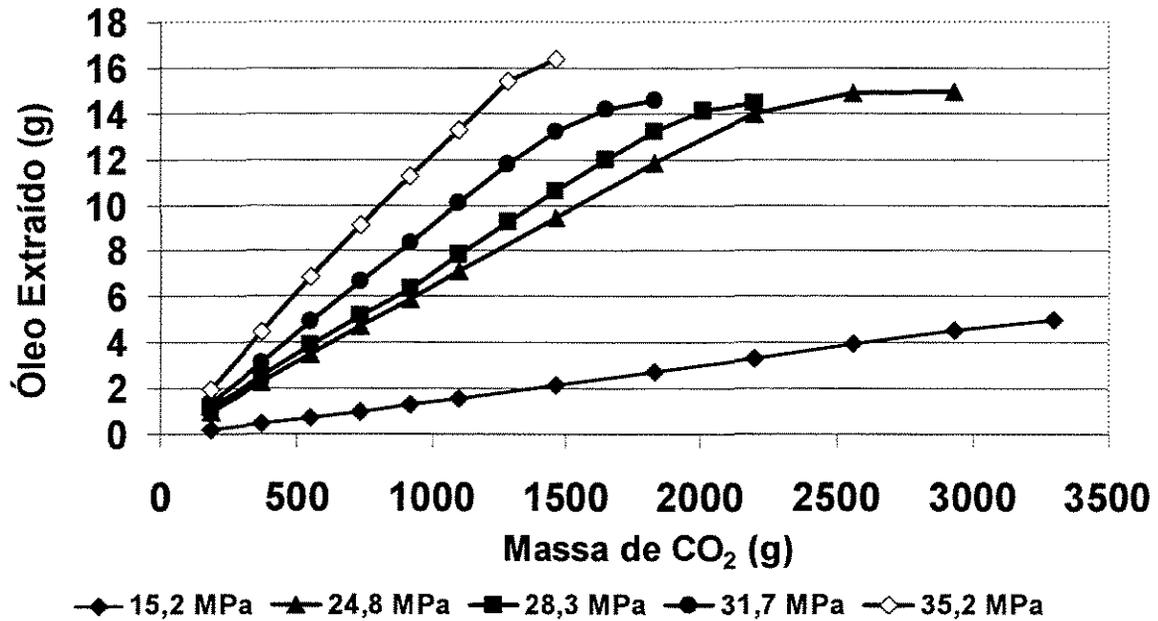


Figura 5.2a Curvas de extração do óleo de café utilizando CO₂ como solvente supercrítico a 50°C

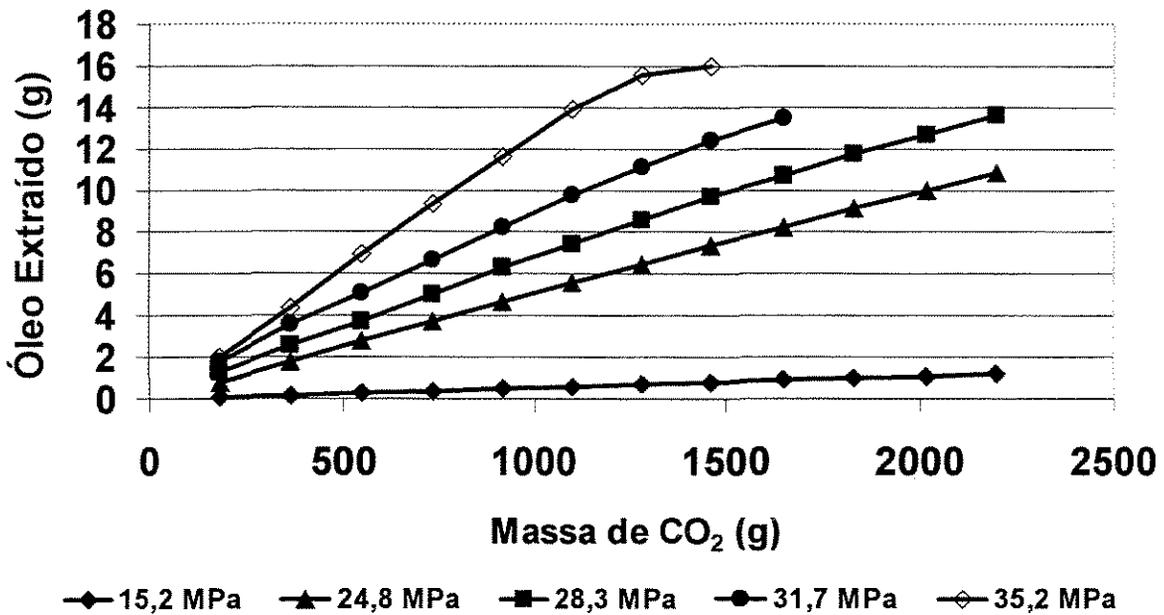


Figura 5.2b Curvas de extração do óleo de café utilizando CO₂ como solvente supercrítico a 60°C

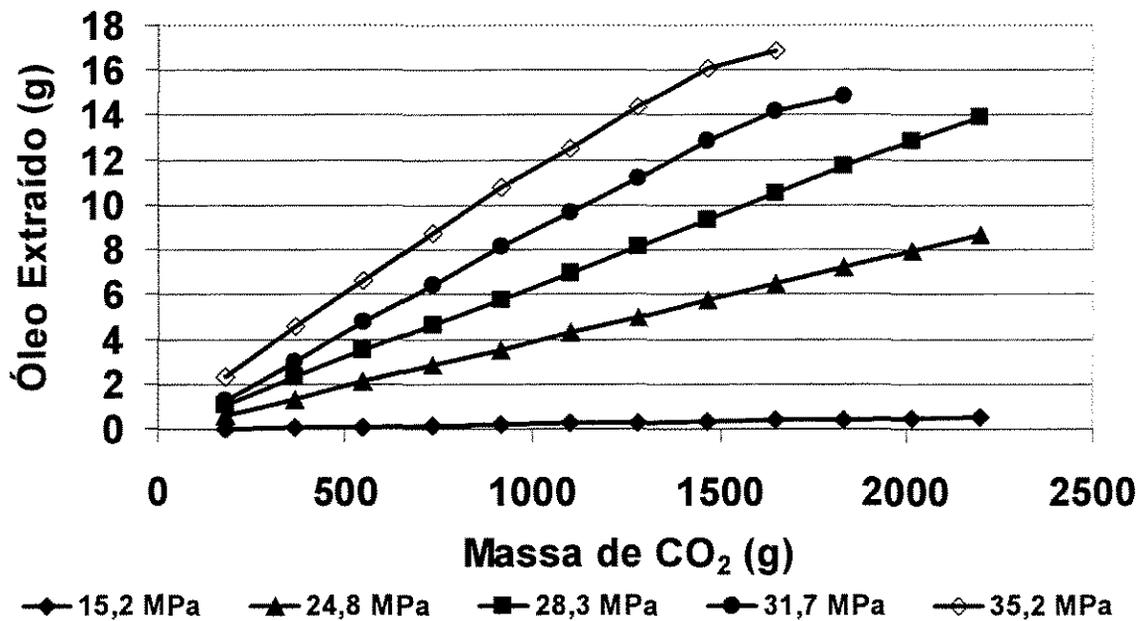


Figura 5.2c Curvas de extração do óleo de café utilizando CO₂ como solvente supercrítico a 70°C

Conforme esperado, incrementos na pressão à temperatura constante resultaram em aumentos nas razões de extração (definida como a razão entre a massa de óleo extraída e a massa de CO₂ utilizada para extrair essa massa). Essa observação experimental deve-se ao aumento da densidade do solvente e conseqüentemente ao aumento das forças de interação intermoleculares de natureza física, que aumentam de intensidade com o crescimento do número de moléculas do solvente disponíveis para a formação dos complexos de solvatação e também devido à redução das distâncias entre as moléculas, resultante do aumento de densidade (Li e Hartland, 1996; Bulgarevich et al. 2002).

Este resultado pode ser claramente identificado na Figura 5.3, onde é traçada a curva de solubilidade em função da densidade do solvente para cada isoterma. Como esperado, o aumento na solubilidade se correlaciona bem com o aumento na densidade do solvente. Estes resultados encontram-se de acordo com outros previamente reportados na literatura por Saldaña et al. (2002), Friedrich et al. (1982) e Li e Hartland (1996). Os resultados apresentados na Figura 5.3 também mostram que, para uma mesma densidade do solvente, a solubilidade

aumenta com o aumento da temperatura devido ao aumento da pressão de vapor dos diversos componentes presentes no óleo de café.

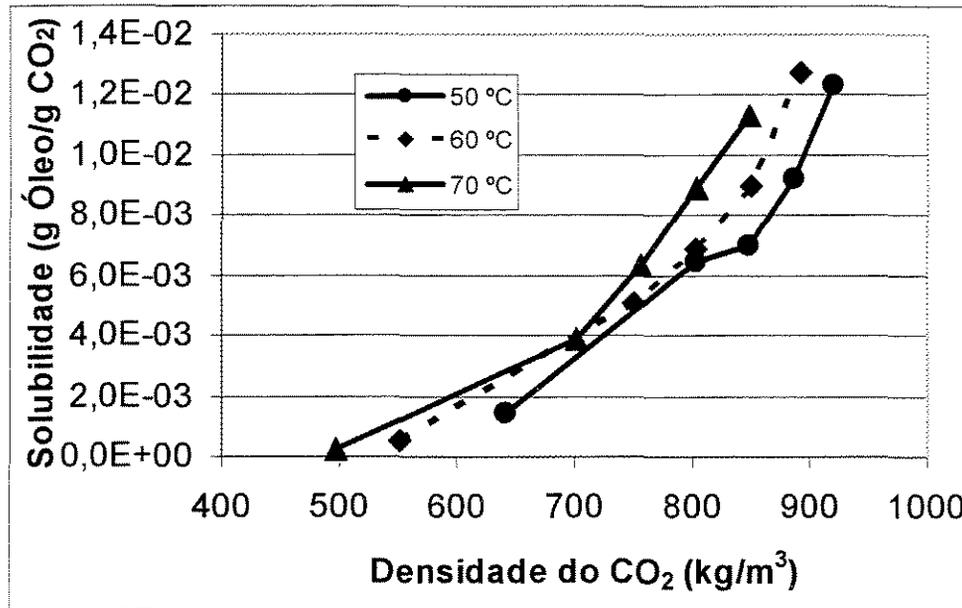


Figura 5.3 Solubilidade do óleo de café em função da densidade do CO₂

O efeito da temperatura na solubilidade do óleo de café pode ser observado na Figura 5.4 que representa as isotermas de solubilidade do óleo de café em função da pressão. Pode-se verificar claramente que, para pressões inferiores a 30 MPa, aumentos de temperatura resultam em reduções na solubilidade. Os dados sugerem que, para este sistema, a partir da pressão de 30 MPa a temperatura passa a ter pouca influência no comportamento de solubilidade, pois, considerando o erro experimental envolvido, aparentemente as três isotermas apresentam o mesmo valor de solubilidade nos dados obtidos a 31,7 e a 35,2 MPa.

O comportamento da solubilidade com a temperatura, verificado para este sistema é muito comum em sistemas envolvendo fluidos supercríticos, e foi reportado na literatura por vários autores tais como Hadolin et al. (2001), que estudaram a extração do óleo de *Silybum marianum* utilizando CO₂ ou propano supercríticos, Illés et al. (1997) que estudaram a solubilidade e extração do óleo de *Rosa Canina L* utilizando CO₂ ou propano supercríticos como solventes. Estes

autores verificaram que as isotermas de solubilidade obtidas a 35 e 55°C a pressões na faixa de 10 a 40 MPa, se cruzam em aproximadamente 31 MPa.

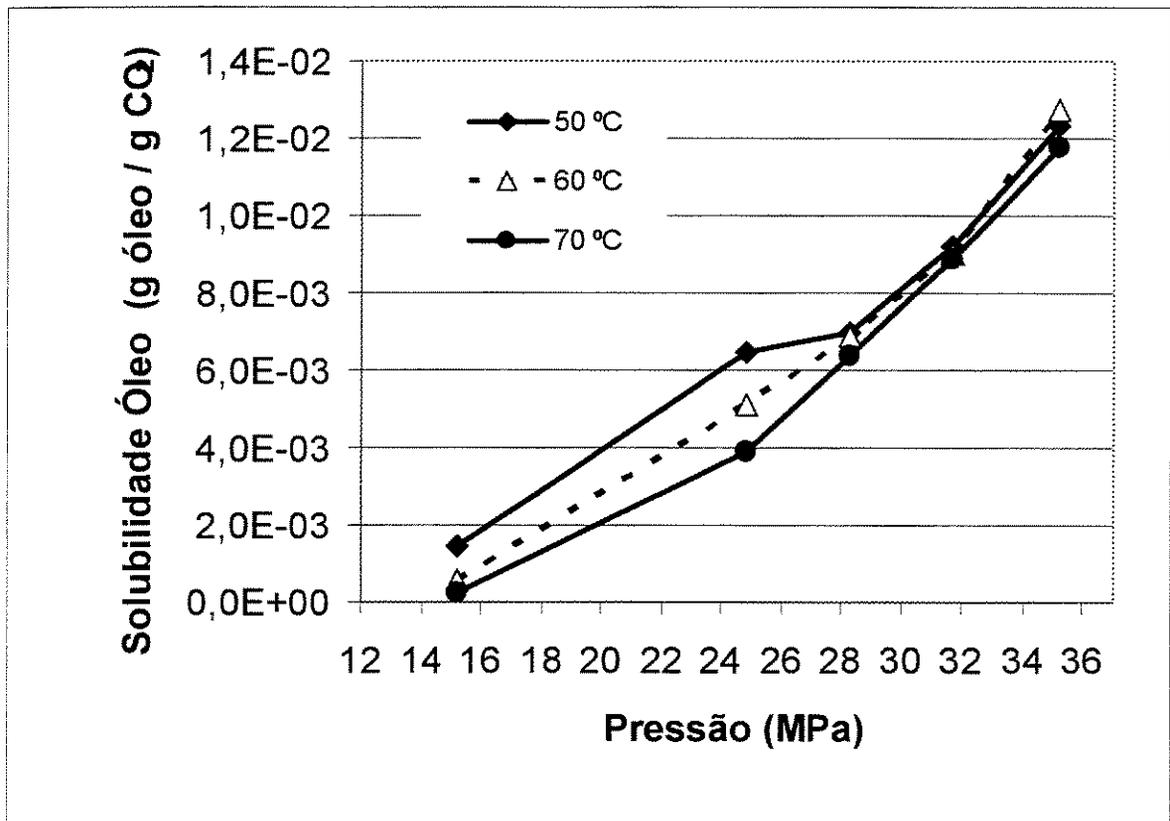


Figura 5.4 Solubilidade do óleo de café em função da pressão

Apesar de ser uma mistura complexa, a extração do óleo de café ocorreu a uma razão constante (óleo extraído / solvente utilizado) até o esgotamento do mesmo no extrator. Especulou-se a possibilidade de que o óleo de café se comporte como um pseudocomponente durante o processo de extração. Isto pode vir a ser de grande importância para fins de modelagem, pois em vez de modelar uma mistura multicomponente, o sistema pode ser aproximado para um sistema binário (solvente / pseudocomponente).

Foram realizadas análises nas frações de óleo (massa de óleo coletada após a passagem de 183 g de CO₂ pelo extrator) obtidas a fim de verificar a variação da composição de cafeína e triglicerídios (principais componentes do

óleo de café: 75% em peso). Os resultados dessas determinações analíticas são apresentados a seguir.

Inicialmente, foram realizadas análises no óleo de café verde bruto fornecido pela Chemyunion para determinar a quantidade de cafeína presente. Estas análises mostraram um percentual médio de 2,7 g de cafeína/kg de óleo. A massa acumulada de cafeína recuperada nas frações de óleo de café em ensaios de extração utilizando CO₂ supercrítico como solvente são apresentadas nas Figuras 5.5a, b e c. A Tabela 5.1 mostra a quantidade de cafeína presente no extrator em função da massa de óleo alimentada e o percentual recuperado para cada condição de processo.

Tabela 5.1 Massa de cafeína alimentada e recuperada nos ensaios de extração do óleo bruto de café verde

Pressão (MPa)	Temperatura (°C)	Massa de Óleo Alimentada (g)	Massa de Cafeína Inicial (g)	Massa de Cafeína Extraída (g)	Massa de Cafeína Recuperada (%)
15,2	50	15,10	0,04077	0,03760	92,22
	60	14,76	0,03985	0,0299	75,03
	70	15,04	0,04061	0,02989	73,61
24,8	50	15,26	0,04120	0,03933	95,46
	60	14,12	0,03812	0,03366	88,29
	70	14,30	0,03861	0,03604	93,34
28,3	50	15,60	0,04212	0,03822	90,74
	60	15,14	0,04088	0,03877	94,84
	70	16,26	0,04390	0,03858	87,89
31,7	50	15,10	0,04077	0,03553	87,15
	60	15,06	0,04066	0,03536	86,96
	70	15,54	0,04196	0,03673	87,54
35,2	50	16,70	0,04509	0,03842	85,21
	60	16,19	0,04370	0,03759	86,01
	70	17,65	0,04766	0,04182	87,76

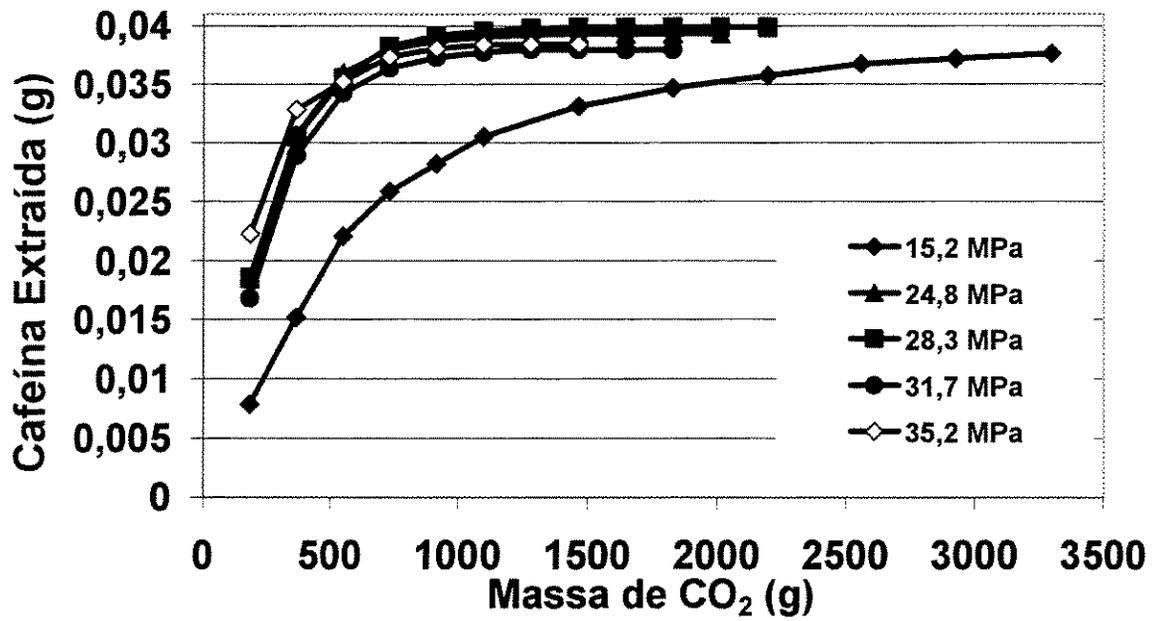


Figura 5.5a: Curvas de extração de cafeína utilizando CO₂ supercrítico como solvente a 50°C

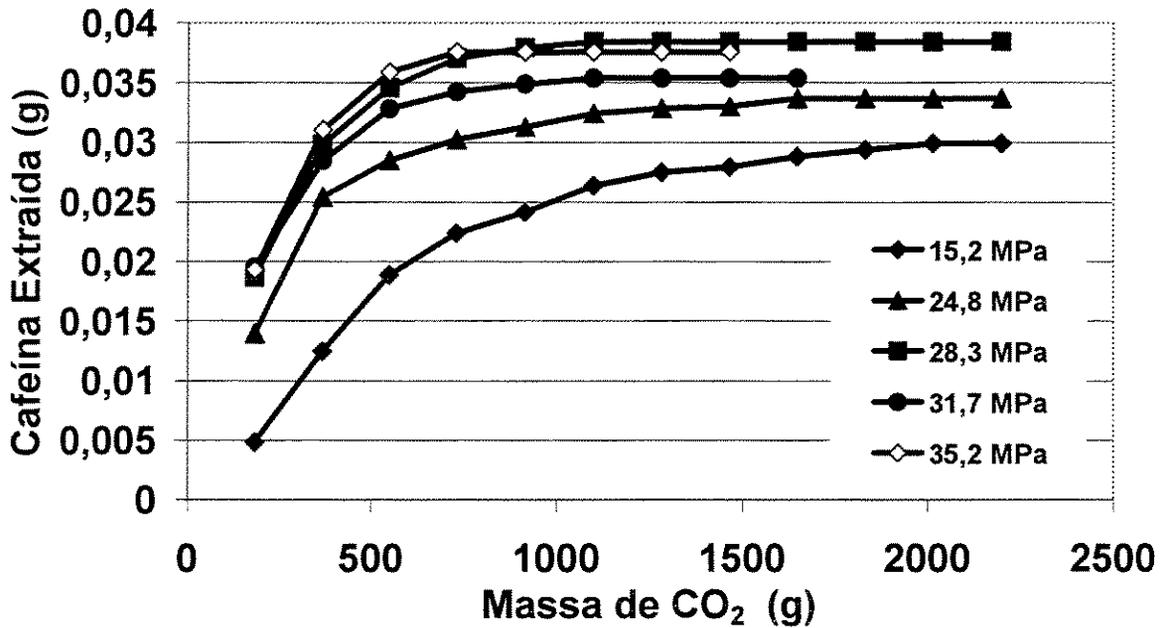


Figura 5.5b: Curvas de extração de cafeína utilizando CO₂ supercrítico como solvente a 60°C

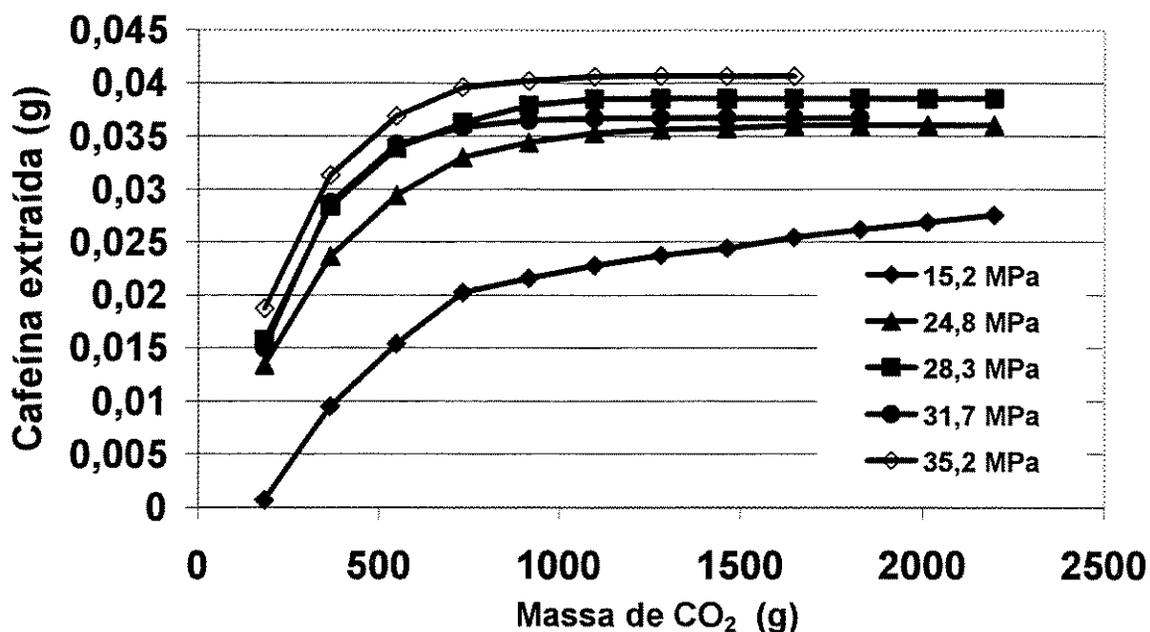


Figura 5.5c: Curvas de extração de cafeína utilizando CO₂ supercrítico como solvente a 70°C

As Figuras 5.5 a, b, e c mostram as curvas de extração da cafeína presente no óleo de café em função da massa de solvente utilizada no processo para as temperaturas de 50, 60 e 70°C, respectivamente. Os dados apresentados para pressões superiores a 15,2 MPa mostram que a cafeína foi recuperada em percentuais superiores a 85% em todas as condições de processo investigadas neste trabalho. Conforme pode ser observado nas Figuras 5.5 a cafeína presente nos sistemas é extraída nas três ou quatro primeiras frações coletadas para ensaios realizados em pressões a partir de 24,8 MPa.

Quanto ao fracionamento do óleo bruto de café verde visando a remoção da cafeína, foi observado que os melhores resultados em termos de seletividade foram obtidos a 15,2 MPa e 70 °C. Nestas condições de processo toda a cafeína é extraída, enquanto apenas 6% da massa de óleo alimentada ao extrator é extraída. Esse comportamento antagônico de rendimento e seletividade, ou seja, maiores rendimentos reduzem a seletividade e maiores seletividades reduzem o rendimento, é típico de processos de extração de produtos naturais com solventes supercríticos.

O efeito da pressão é semelhante ao observado para a extração do óleo de café verde. Entretanto, à medida que a pressão aumenta, o seu efeito sobre a extração da cafeína é menos pronunciado como pode ser observado na Figura 5.6. Essa figura foi construída calculando-se a razão entre a massa de cafeína extraída e a massa de solvente acumulada, tomando-se para cada curva os pontos que se encontram na região linear da curva de extração. Com base nos dados de Filippi (1982) e na vazão de solvente utilizada nestes ensaios (1L/min), pode-se assumir que o tempo de residência do solvente no extrator é suficiente para que ocorra a sua saturação. Portanto, os dados apresentados na Figura 5.6 representam a concentração de equilíbrio da cafeína na fase rica em CO₂ supercrítico (fase leve).

Esta observação pode ser relacionada aos efeitos sinérgicos positivos entre os compostos presentes no óleo de café, conforme mostra o trabalho de Vasapollo et al. (2004). Estes autores estudaram o efeito da adição de um óleo vegetal ao CO₂ como co-solvente na extração de licopeno do tomate seco em pó e verificaram que o óleo vegetal atuou no sistema como um co-solvente para o licopeno, aumentando o rendimento de processo e a razão de extração.

Entretanto, à medida que as concentrações dos demais compostos presentes no óleo de café aumentam, na fase supercrítica, o efeito de co-solvente diminui, conforme apontado por Morita e Kajimoto (1990). Estes autores reportaram que o aumento da concentração do co-solvente resulta na saturação da região em torno da molécula do soluto, levando a valores de solubilidade próximos entre si. Neste caso, os triglicerídios e os demais compostos presentes no óleo atuam como co-solventes internos para a cafeína. Resultado similar foi observado por Azevedo (2001) na extração de gordura de cupuaçu, utilizando CO₂ supercrítico e etanol como co-solvente e por Li e Hartland (1996) na extração da gordura de cacau, utilizando como solvente CO₂ supercrítico adicionado de etanol como co-solvente. Esses autores verificaram que a solubilidade da gordura na temperatura de 60°C aumenta com o aumento da pressão de 5 a 15 MPa e a partir deste limite permanece constante para aumentos adicionais de pressão até aproximadamente 31 MPa.

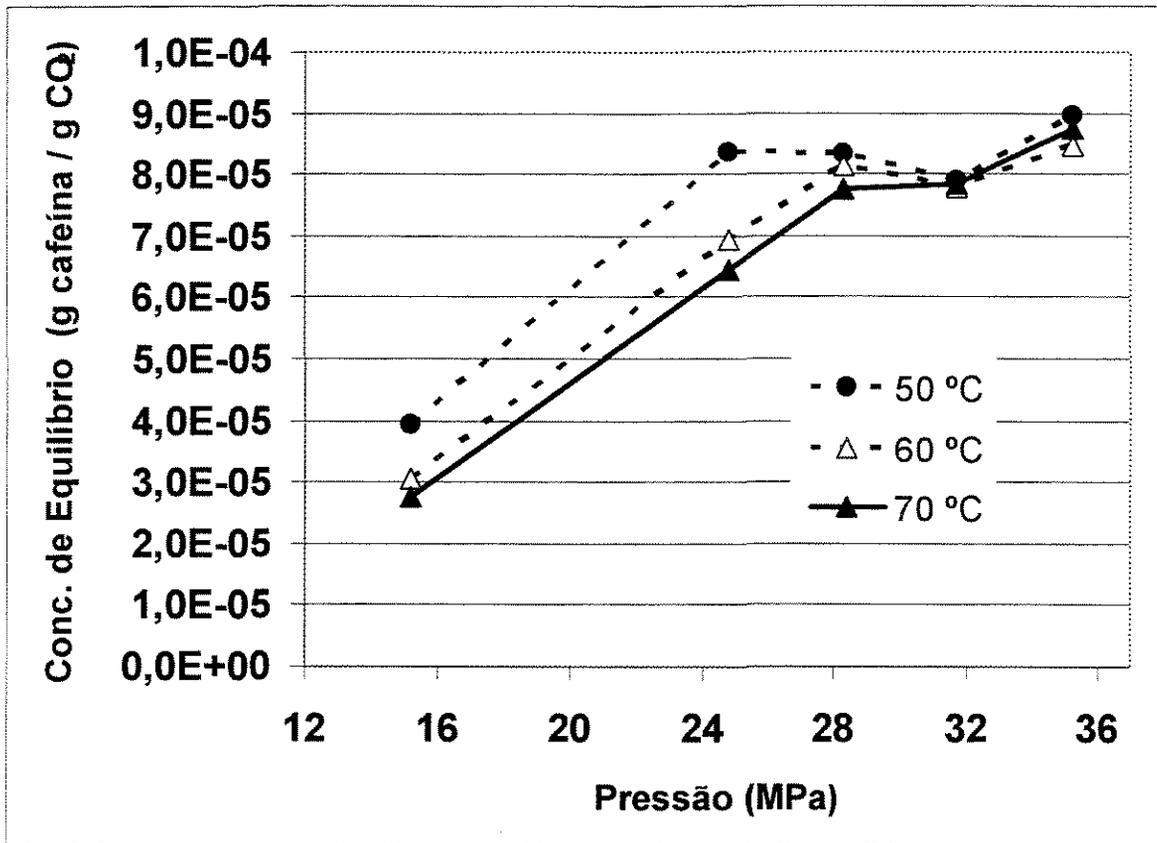


Figura 5.6 Concentração de equilíbrio da cafeína em CO₂ supercrítico em função da pressão

Comparando os dados de solubilidade de cafeína obtidos neste trabalho (Figura 5.1 convertidos para g/g e apresentados na Tabela 5.2) com os dados de concentração de equilíbrio de cafeína apresentados na Figura 5.6, observa-se que os valores de concentração de equilíbrio são aproximadamente duas ordens de grandeza inferiores aos valores de solubilidade determinada também pelo método contínuo. Essa diferença entre os valores de solubilidade e razão de extração pode ser atribuída à baixa concentração da cafeína na fase óleo e aos parâmetros de transferência de massa.

Quando o sistema atinge o equilíbrio termodinâmico tem-se a igualdade das fugacidades dos componentes em todas as fases presentes no sistema. Como a concentração de cafeína na fase óleo é muito baixa, o equilíbrio do sistema formado pela fase óleo e pela fase supercrítica é atingido para valores baixos de concentração de cafeína na fase supercrítica, o que resulta em razões de extração menores que a solubilidade.

Os dados obtidos para a extração de cafeína mostram também que o CO₂ supercrítico apresenta maior afinidade pelas moléculas dos lipídios presentes no óleo de café do que pela cafeína. Este comportamento foi também verificado por Li e Hartland (1996) para o sistema multicomponente formado por CO₂, etanol, cafeína, theobromina e gordura de cacau, e está de acordo com o esperado, considerando a natureza e as propriedades físico-químicas da molécula de CO₂. O dióxido de carbono é um melhor solvente para compostos apolares ou fracamente polares do que para compostos polares como a cafeína (Brunner, 1994, Taylor, 1996).

Tabela 5.2 Solubilidade de cafeína em CO₂ supercrítico

Pressão (MPa)	Solubilidade da Cafeína (g/g)		
	50 °C	60 °C	70 °C
15,2	7,75E-04	4,72E-04	2,36E-04
19,9	1,07E-03	1,11E-03	1,13E-03
24,8	1,67E-03	1,79E-03	1,98E-03
28,3	1,88E-03	2,21E-03	2,27E-03
31,7	2,01E-03	2,42E-03	2,47E-03
35,2	2,40E-03	2,64E-03	2,74E-03

O efeito da temperatura pode também ser observado na Figura 5.6. O comportamento retrógrado foi detectado no intervalo de pressões compreendido entre 15,2 e 31,7 MPa. A pressão de cruzamento observada para o sistema binário CO₂-cafeína foi de 19,3 MPa, a qual é muito inferior a pressão de cruzamento observada para as isotermas de concentração de equilíbrio de cafeína no sistema cafeína-óleo-CO₂ (31,7 MPa.).

Este aumento na pressão de cruzamento das isotermas de solubilidade é comumente observado em sistemas nos quais o solvente supercrítico se constitui de uma mistura solvente/co-solvente devido ao aumento da pressão e temperatura crítica da mistura supercrítica, como pode ser observado no trabalho de Schaeffer et al. (1988), que estudaram a solubilidade de monocrotalina em CO₂ supercrítico

e em CO₂ supercrítico adicionado de etanol em diferentes percentuais. Os autores verificaram que, aumentando a concentração de etanol de 0 para 10%, a pressão de cruzamento das isotermas aumentou de aproximadamente 7,5 para 27,5 MPa. No caso do sistema CO₂-cafeína-óleo de café, o aumento da pressão de cruzamento em comparação ao sistema binário pode ser atribuído aos efeitos de co-solvência do óleo de café.

Ainda sobre a Figura 5.6, o comportamento das isotermas da concentração de equilíbrio aparentemente sugere um ponto de inflexão na isoterma. Esse comportamento é contrário ao previsto pela termodinâmica, que indica um crescimento da solubilidade com a pressão. Esse aumento inicialmente ocorre com taxa elevada devido às grandes variações de densidade com a pressão na região próxima ao ponto crítico e depois diminui a medida que a densidade da fase supercrítica vai assumindo os valores característicos da fase líquida. Neste trabalho, o comportamento observado foi atribuído aos efeitos de co-solvente do óleo de café e à baixa concentração de cafeína presente no sistema, os quais reduzem a diferença de solubilidade e aumentam erros experimentais e analíticos.

A composição de triglicerídios das frações de óleo de café obtidas nestes ensaios foram determinadas por HPLC como descrito na Seção 4.8.2. A Figura 5.7 representa um cromatograma típico obtido para o óleo de café bruto. Neste cromatograma, além dos nove componentes identificados por Gonzalez et al. (2001), estão indicados os picos referentes a mais dois componentes. Estes compostos foram identificados comparando-se os tempos de retenção dos compostos presentes no óleo de café e de padrões cromatográficos adquiridos junto à Sigma Inc. As análises foram realizadas em sequência com a finalidade de garantir que a influência das pequenas variações de composição da fase móvel e acondicionamento da coluna não influenciasses nos tempos de retenção dos compostos. A Tabela 5.3 mostra a composição média dos triglicerídios presentes no óleo bruto de café verde e a Tabela 5.4 mostra a composição média dos seis principais triglicerídios presentes nas frações (massa de óleo recolhida após a passagem de 183 g de CO₂ pelo extrator) coletadas do óleo de café. Os valores apresentados na tabela apresentam desvios experimentais de 3,7%.

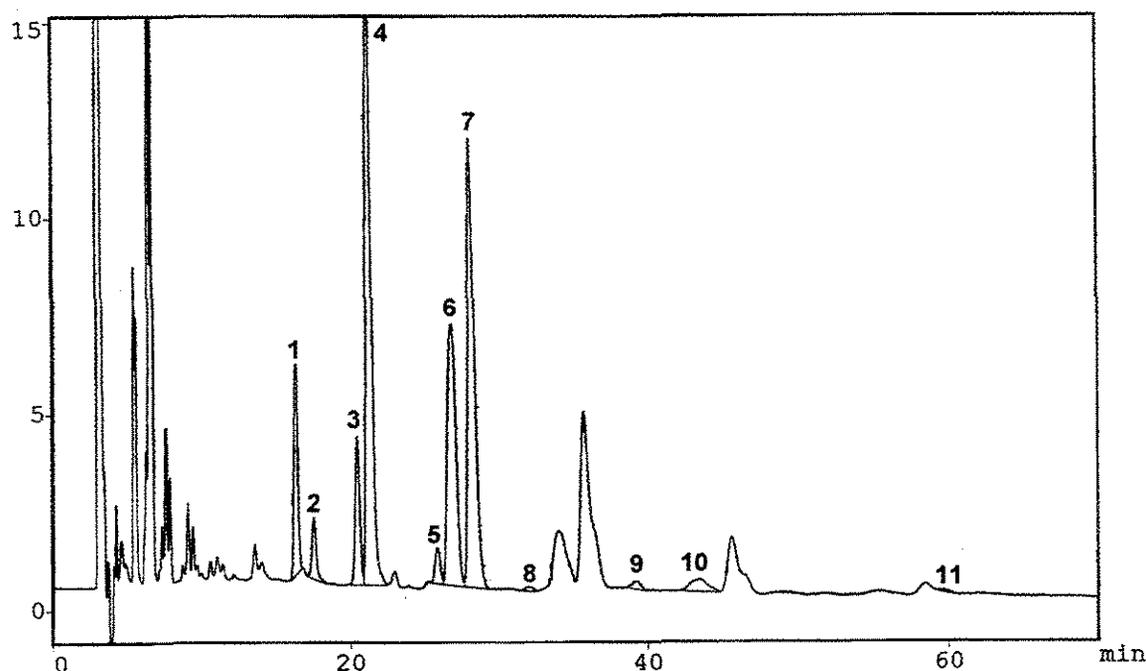


Figura 5.7 Cromatograma do óleo bruto de café verde obtido por HPLC

Tabela 5.3 Composição de triglicerídios (TAG) do óleo de café.

TAG	LLL	PLL n	OLL	PLL	OLO	PLO+SLL	PLP	OOO	POP	OOS	SOS
Comp. (%)	7,76	2,33	5,84	32,74	1,56	19,51	26,74	0,26	0,65	1,77	0,79
Pico nº	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11

Legenda: L-ácido linoleico, Ln ácido linolênico, P-ácido palmítico, O -ácido oléico, S-ácido esteárico. Ex: POP: 1,3 palmitol,2oleil, glicerídio.

Como pode ser observado não há variações consideráveis na composição de triglicerídios das frações obtidas. Essa falta de seletividade e fracionamento pode ser atribuída à estreita faixa de massa molecular dos triglicerídios que compõem o óleo de café. Este fato está de acordo com as observações de Perry et al. (1949) ao reportarem que triglicerídios de mesmo peso molecular apresentam a mesma pressão de vapor independente do número de insaturações presentes nas cadeias carbônicas.

Tabela 5.4 Composição média das frações de óleo de café considerando apenas os sete principais triglicerídios.

TAG		LLL	PLLn	OLL	PLL	PLO+SLL	PLP
24,8 MPa 50°C	F1	8,30	2,79	5,37	33,92	18,65	30,94
	F4	8,43	2,96	5,50	34,06	18,78	30,25
	F8	8,27	2,41	6,31	34,70	20,44	27,86
24,8 MPa 60°C	F1	6,05	2,10	4,99	32,55	19,53	34,64
	F4	6,41	2,21	5,19	33,07	19,55	33,53
	F8	5,96	2,20	5,30	31,45	21,46	33,59
24,8 MPa 70°C	F1	5,29	1,76	4,65	30,19	20,70	37,39
	F4	6,12	2,26	4,93	32,90	19,17	34,59
	F8	6,02	2,17	5,17	32,60	19,94	34,07
31,7 MPa 50°C	F1	5,70	1,43	5,04	31,78	20,48	35,56
	F4	7,09	2,34	5,64	33,55	20,12	31,22
	F8	7,43	2,19	6,01	32,17	22,99	29,09
31,7 MPa 60°C	F1	5,87	1,31	4,44	29,21	21,23	37,91
	F4	5,50	1,82	5,29	31,43	21,24	34,69
	F8	7,77	2,78	6,83	33,56	22,07	26,95
31,7 MPa 70°C	F1	7,84	2,59	5,56	33,55	19,38	31,05
	F4	8,29	2,18	6,32	34,67	20,75	27,86
	F8	6,96	2,07	6,88	31,63	24,95	27,51
Óleo de Bruto		8,22	2,47	6,19	34,68	20,25	28,16

Legenda: F1- Fração 1, F4 – Fração 4, F-8 Fração 8.

5.3-Fracionamento e refino do óleo bruto de café verde

Nesta etapa do trabalho, buscou-se, através do acoplamento de uma coluna de adsorção, refinar o óleo bruto de café verde extraído com CO₂ supercrítico. Devido ao fato dos triglicerídios representarem 75% da massa do óleo bruto de café, optou-se por adsorver os compostos polares (cafeína, sobretudo) no material adsorvente empacotado na coluna de adsorção, enquanto que os triglicerídios permearam pela mesma (Nikolova-Damyonova et al., 1998).

O CO₂, conforme dito anteriormente, apresenta maior afinidade por compostos apolares ou de baixa polaridade e, devido ao momento quadripolo que possui, apresenta apenas uma leve basicidade (Bulgarevich et al., 2002).

Portanto, os compostos com características polares apresentam maior afinidade por adsorventes que apresentam grupamentos polares na superfície e os compostos apolares maior afinidade pelo CO₂ (Ruthven, 1984; Domingo et al., 2001).

Buscou-se identificar quais materiais adsorventes que apresentavam as características físico-químicas necessárias para promover a separação dos compostos polares presentes no óleo bruto de café verde dos triglicerídios. Com base nos trabalhos de Augustine (1996), sílica gel e alumina, sólidos geralmente utilizados como suporte para catalisadores, apresentam elevadas cargas superficiais com pontos isoelétricos bastante distintos. O ponto isoelétrico (ou ponto de carga nula) da sílica encontra-se em torno do pH = 1 enquanto que para a alumina encontra-se em torno de pH = 9. Além destes materiais adsorventes, foi também testada uma resina de troca iônica do tipo “*strong cation exchange*” (Dowex 50, Sigma Inc. USA).

Foram realizados ensaios experimentais conforme descrito na Seção 4.5 do capítulo de materiais e métodos. Em linhas gerais, os ensaios constituíram de uma etapa de extração do óleo de café, seguida por uma etapa de adsorção e finalmente uma etapa de dessorção realizada através da mudança de polaridade do solvente. A coluna de adsorção (30 cm x 1,5 cm) foi empacotada com o material adsorvente utilizando-se uma placa vibratória com a finalidade de obter a maior homogeneidade possível do leito e acoplada à jusante do vaso de extração. Estes ensaios foram realizados nas pressões de 28,3 a 35,2 MPa e temperaturas de 50 e 70°C e com aproximadamente 20 g de material adsorvente. Estas condições foram escolhidas por terem sido previamente estudadas nos ensaios de extração do óleo de café e possibilitarem o conhecimento da composição de entrada da coluna (Co).

Os resultados dos ensaios preliminares mostraram que a alumina tem baixa afinidade pelos compostos polares contidos no óleo de café, nas condições de processo estudadas. Após as duas primeiras frações de óleo coletadas, observou-se a presença de cafeína e compostos pigmentados junto com os triglicerídios. Resultados similares foram obtidos por Shen et al. (2002) no estudo da dessorção de óleo de laranja em sílica gel 60 e alumina. Os autores verificaram

que os compostos polares presentes no óleo foram dessorvidos mais rapidamente da alumina em comparação com a sílica.

Os ensaios realizados utilizando as resinas de troca iônica apresentaram bons resultados em termos de capacidade de adsorção. A regeneração da resina, entretanto mostrou-se difícil devido à grande hidrofobicidade adquirida pela superfície das partículas após adsorver os grupamentos polares dos compostos presentes no óleo de café, deixando a parte apolar da molécula voltada para a solução (como uma miscela). Para regenerar a resina foi necessário a utilização de um surfactante, para precipitá-la em uma solução aquosa, seguida da adição de uma base forte para a troca dos compostos adsorvidos na superfície e finalmente a utilização de HCl para regenerar a carga superficial da resina. Comportamento similar foi reportado por Coelho et al. (2001) para uma peneira molecular contendo cátions na superfície.

Os melhores resultados foram obtidos utilizando sílica-gel como material adsorvente. Este material foi empregado em um estudo sistemático, que é apresentado a seguir.

O efeito da retenção do óleo de café pela sílica-gel pode ser observado nas Figuras 5.8 e 5.9. As curvas com símbolos abertos representam a massa de óleo coletada nos sistemas em que a coluna empacotada com material adsorvente foi acoplada ao processo. Para efeito de comparação estas figuras também contem as curvas de extração do óleo de café obtidas utilizando as mesmas condições de processo destes ensaios sem o acoplamento da coluna de sílica gel (Figuras 5.2).

A separação entre as curvas apresentadas para uma mesma condição de operação representa o período inicial, no qual os triglicerídios são continuamente adsorvidos e dessorvidos pelo leito de sílica. Observa-se que, devido ao acoplamento da coluna de adsorção, são necessários mais de 1000 g de CO₂ para se detectar a presença de óleo na saída da coluna.

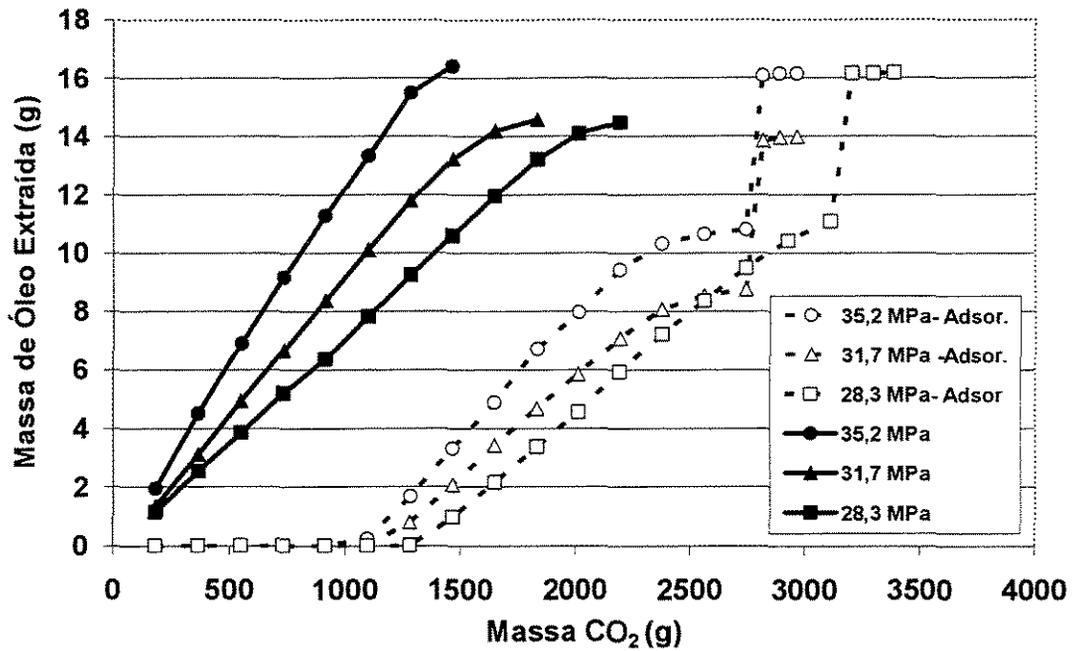


Figura 5.8. Retenção (adsorção/dessorção) do óleo de café verde solubilizado em CO₂ supercrítico em uma coluna empacotada com sílica-gel a 50 °C

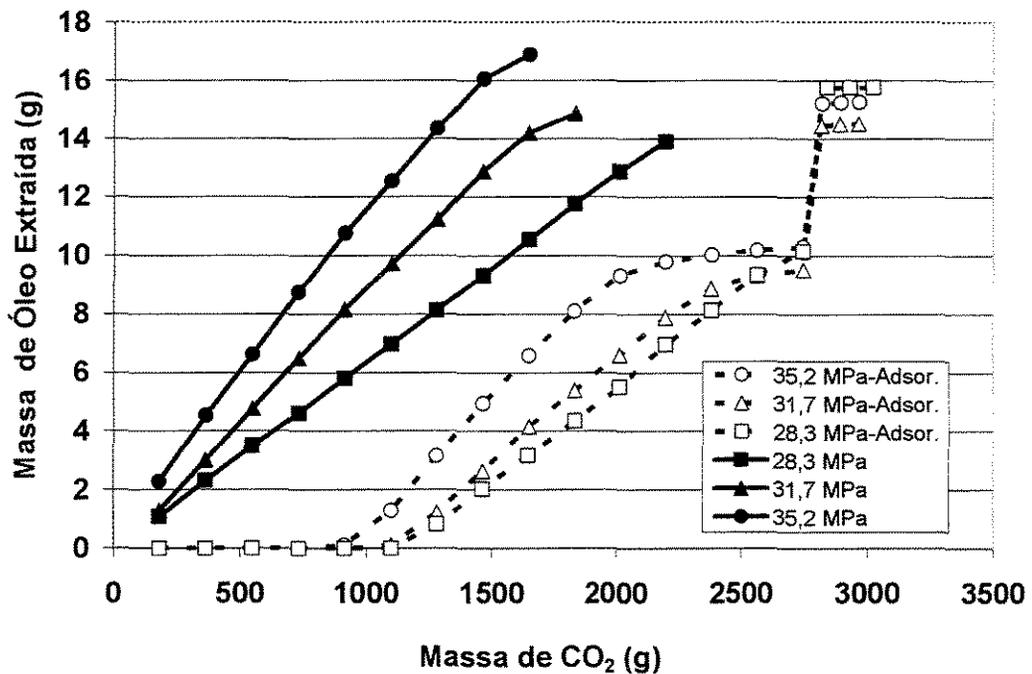


Figura 5.9 Retenção (adsorção/dessorção) do óleo de café verde solubilizado em CO₂ supercrítico em uma coluna empacotada com sílica-gel a 70 °C

Segue-se o período no qual o óleo de café permeou através do leito de sílica sendo coletado a uma taxa constante, e o período de dessorção no qual a polaridade do solvente é modificada, observando um aumento abrupto na massa extraída. O período de dessorção visou recuperar o material adsorvente e os compostos polares do óleo de café adsorvidos, entre os quais pode-se citar a cafeína, e foi realizado modificando a polaridade do CO₂ por saturação em etanol.

Comparando-se as curvas obtidas através dos ensaios realizados com e sem o acoplamento da coluna empacotada com sílica-gel conclui-se que inicialmente o óleo de café é adsorvido pela sílica devido à grande disponibilidade de sítios de interação. Entretanto, à medida que o experimento é conduzido, os triglicerídios presentes no óleo de café são dessorvidos. Este fato pode ser atribuído a três fatores: a baixa afinidade entre os triglicerídios e os sítios de interação presentes na superfície da sílica, devido às características apolares das moléculas dos triglicerídios, o impedimento estérico e a adsorção competitiva. Os dois primeiros fatores são comumente observados em cromatografia, onde os compostos que apresentam baixa afinidade com o material adsorvente são detectados na saída da coluna em um menor tempo de retenção que os de maior afinidade. O terceiro fator que associado aos resultados observados (a adsorção competitiva entre os compostos presentes no óleo de café). é caracterizado pela competição entre os adsorbatos, na qual os de maior afinidade pela superfície do material adsorvente competem com os compostos fracamente adsorvidos pelos sítios de interação presentes na superfície do material adsorvente (neste caso, pelos grupos silanóis), deslocando os primeiros (Subra et al, 1998). Vale ressaltar que nos estágios iniciais do processo, todos os compostos são adsorvidos e a competição entre os compostos se dá à medida que o processo prossegue.

Observações experimentais previamente reportadas na literatura sugerem comportamento similar ao observado neste trabalho, entre os quais pode-se citar Reverchon (1997), que estudou a dessorção de uma mistura de limoneno e linalol de uma coluna empacotada com sílica-gel utilizando CO₂ supercrítico como dessorvente. Este autor verificou que o limoneno foi seletivamente dessorvido da coluna, permanecendo o linalol adsorvido. O mesmo foi observado por Subra et al.

Capítulo V: Resultados e discussões

(1998) no estudo do processo de separação de terpenos e dos terpenos oxigenados comumente presentes em óleos de cítricos.

Comparando as massas de CO₂ utilizadas no processo de adsorção/dessorção, antes que os triglicerídios (análises cromatográficas do material coletado na saída da coluna, apresentadas a seguir, mostram que as frações são compostas apenas de triglicerídios) apareçam na corrente de saída da coluna, nas diferentes pressões (28,3 31,7 e 35,2 MPa) e temperaturas estudadas (50 e 70 °C), verifica-se que estas diminuem com o aumento da pressão e que a razão de extração aumenta com o aumento da pressão.

Estes resultados podem ser discutidos de forma análoga a um processo de extração de um óleo a partir de uma matriz vegetal. Neste tipo de processo, maiores solubilidades no CO₂ supercrítico e razões de extração dos triglicerídios são obtidas à medida que a densidade do solvente aumenta. O aumento da solubilidade reflete ainda o aumento de intensidade das forças de interação intermolecular, que aumentam com a redução (até certo ponto) da distância entre o soluto e o solvente (Lucas et al. 2004a, Subra et al. 1998, Tan e Liou, 1990). A redução da massa de CO₂ necessária para o início da coleta dos triglicerídios pode ainda ser associada a efeitos competitivos entre o CO₂ e as moléculas dos triglicerídios pelos sítios ativos da superfície da sílica-gel.

Valores experimentais de isotermas de adsorção obtidos por Olivier e Jadot (1997) mostram que a quantidade de CO₂ adsorvida em sílica-gel aumenta com o aumento da pressão. Os autores verificaram ainda que a quantidade de CO₂ adsorvida nas mesmas condições de processo é maior que a quantidade adsorvida de etano, propadieno, propano e metano. Estes resultados foram associados à capacidade do CO₂ interagir com os grupos silanóis presentes na superfície da sílica devido ao elevado momento quadripolo que a molécula de CO₂ apresenta (Bamberger 1996 *appud* Lucas et al, 2004a). Estas observações estão de acordo com a suposição de uma competição entre as moléculas do CO₂ e dos triglicerídios, que são compostos apolares, pelos grupos silanóis da sílica-gel. Entretanto de acordo com Domingo et al. (2001), o efeito competitivo entre o adsorbato e o solvente é reduzido quando o processo é conduzido sob condições supercríticas do solvente.

O efeito da pressão observado neste trabalho foi previamente reportado por Lucas et al. (2004 b) no estudo das isotermas de adsorção do furfural em uma coluna de carvão ativo. Estes autores verificaram que, a uma temperatura e concentração de alimentação constantes, a capacidade adsorvedora da coluna diminui. As hipóteses dos autores para este comportamento foi o aumento da magnitude das forças de interação entre o solvente e o adsorbato em comparação às interações entre o adsorbato e a superfície do carvão ativo, e está de acordo com a análise de Domingo et al. (2001), para explicar a adsorção do ácido benzóico e do ácido salicílico, previamente solubilizados em CO₂, em sílica-gel e alumina.

O efeito da temperatura sobre a retenção do óleo de café verde pela sílica gel está representado nas Figuras 5.10 a,b e c. Nestas figuras também são apresentadas as curvas de extração do óleo de café nas mesmas condições de processo, para fins de comparação.

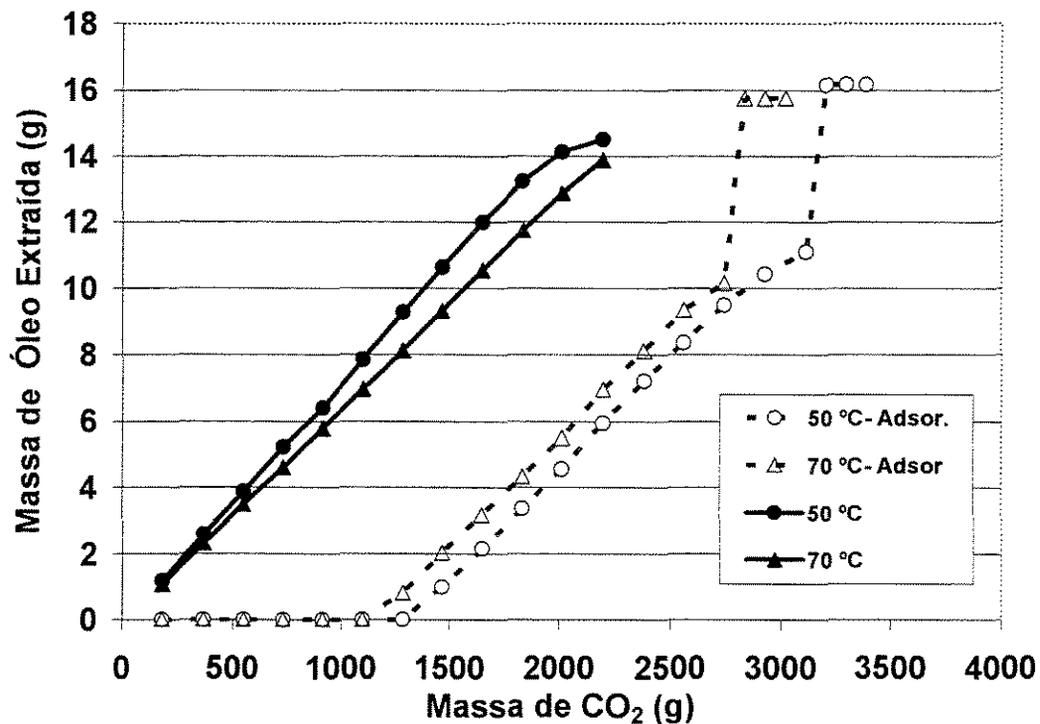


Figura 5.10a. Retenção (adsorção/dessorção) do óleo de café verde solubilizado em CO₂ supercrítico a 28,3 MPa usando uma coluna empacotada com sílica-gel.

Pode-se verificar que, nas condições de pressão de 28,3 MPa e 35,2 MPa estudadas, o aumento de temperatura, mantendo-se a pressão constante, resultou claramente em diminuição na massa de solvente utilizada antes que o óleo de café fosse detectado na corrente de saída da coluna. A 31,7 MPa este comportamento não foi tão proeminente. Este comportamento é uma função combinada de parâmetros termodinâmicos e cinéticos, conforme será discutido a seguir.

Em um sistema solvente-adsorvente-adsorbato, a retenção do adsorbato na coluna depende da complexa relação entre as magnitudes das forças de interação intermoleculares entre os pares adsorvente-adsorbato, adsorvente-solvente e adsorbato-solvente (Domingo et al, 2001; Murata e Kaneko, 2001).

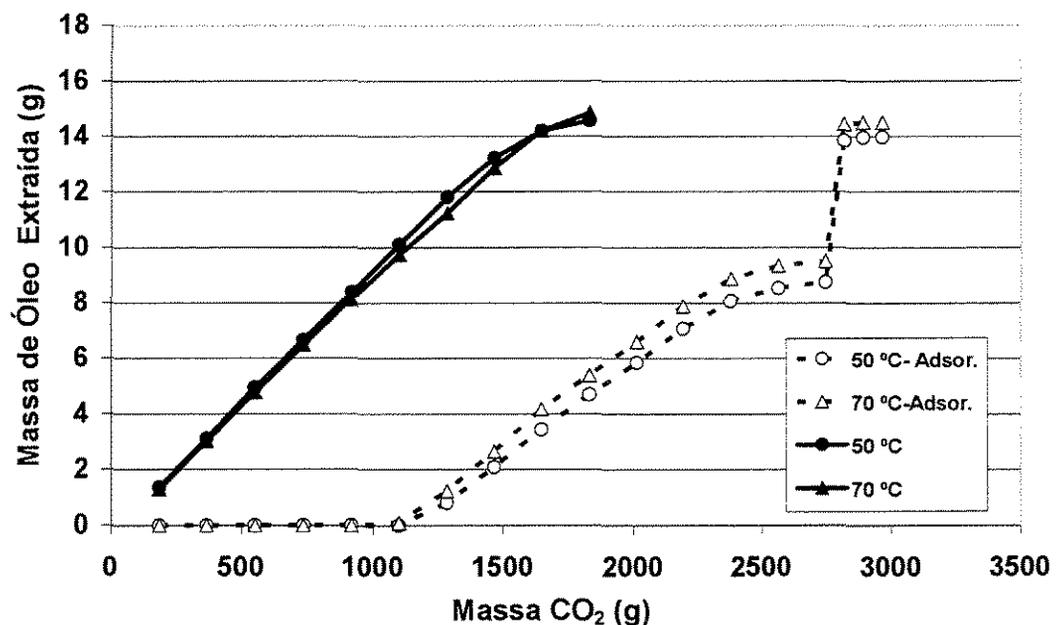


Figura 5.10b. Retenção (adsorção/dessorção) do óleo de café verde solubilizado em CO₂ supercrítico a 31,7 MPa usado uma coluna empacotada com sílica-gel.

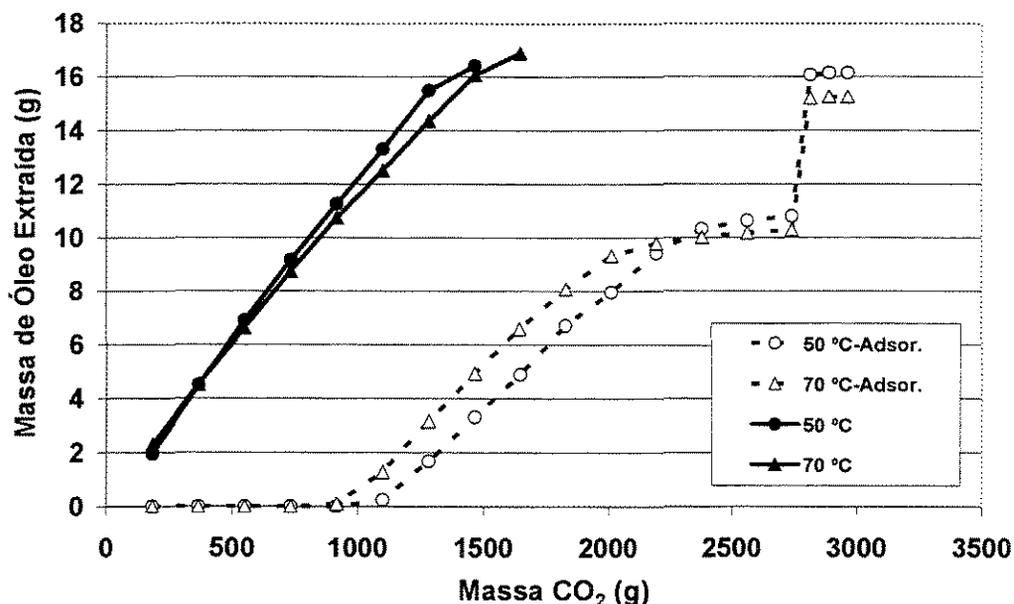


Figura 5.10c. Retenção (adsorção/dessorção) do óleo de café verde solubilizado em CO₂ supercrítico a 35,2 MPa usando uma coluna empacotada com sílica-gel.

De maneira geral, em sistemas nos quais apenas forças de interação de natureza física estão presentes, a magnitude das forças de interação entre o solvente-adsorvente, adsorbato-adsorvente e adsorbato-solvente diminuem com o aumento da temperatura, devido à maior energia cinética das moléculas do adsorbato e do solvente (Ruthven, 1984). Portanto, o adsorbato e o solvente encontram-se fracamente adsorvidos na superfície do material adsorvente.

Em relação ao par solvente-adsorbato, o efeito da temperatura depende do nível de pressão no qual o processo é realizado, devido ao fenômeno do comportamento retrógrado, que influencia o comportamento de solubilidade do adsorbato no solvente e é comum em sistemas envolvendo fluidos supercríticos.

Analisando-se os dados de solubilidade do óleo de café em função da pressão, para as diferentes temperaturas, apresentados nas Figuras 5.3, verifica-se que, apesar do sistema estar na região do comportamento retrógrado na pressão de 28,3 MPa, os valores de solubilidade a 50 e 70 °C são muito próximos. Portanto, não se espera que este par de interação influencie significativamente no processo de adsorção/dessorção na faixa de temperatura e pressão adotadas

neste trabalho. Portanto, os menores volumes de *breakthrough* (volume de solvente necessário antes que o soluto seja verificado na corrente de saída da coluna) podem ser atribuídos à redução da magnitude das forças de interação entre o material adsorvente e o triglicerídeo do óleo de café.

Em relação a cinética do processo, tanto o óleo como o CO₂ devem percolar pelo leito de sílica até a saída da coluna. Valores mais altos de temperatura reduzem a viscosidade e a resistência à difusão, facilitando o deslocamento através do material adsorvente e de maneira geral aumentando o coeficiente de difusão (Domingo et al., 2001).

Comportamento similar com a pressão e temperatura foi observado por Lucas et al. (2004b), no estudo de determinação das isotermas de adsorção do acetato de etila e do furfural com CO₂, utilizando uma coluna empacotada com carvão-ativo. Os trabalhos de Kikic et al. (1996) reportam estudo das isotermas de adsorção em carvão ativo do ácido salicílico solubilizado em CO₂ e os trabalhos de Mohamed et al. (2000), sobre a remoção do colesterol e o fracionamento do óleo de manteiga de leite utilizando uma coluna empacotada com alumina, também confirmam esse comportamento.

A eficiência do processo de refino do óleo de café utilizando um processo combinado de extração e adsorção em meio supercrítico foi avaliada através de análise da composição das frações. Foram realizadas análises por HPLC, para a determinação do percentual de cafeína e da composição de triglicerídios das frações. Os dados obtidos revelam excelentes graus de refino, conforme pode ser visto na fotografia (Figura 5.11) e pelos cromatogramas comparativos (Figuras 5.12 a-d) entre os óleos bruto, fracionado com CO₂ supercrítico, fracionado pelo processo combinado e o material recolhido na etapa de dessorção.

Pode-se observar que o óleo refinado através do processo combinado (Figura 11, tubo 3, e Figura 12c) é transparente e que apenas triglicerídios encontram-se presentes nas frações. No processo convencional de refino de óleos vegetais, para que estas características sejam obtidas, são necessárias várias etapas, descritas sucintamente a seguir.

1-Degomagem, etapa na qual são removidos os fosfatídeos, proteínas e substâncias coloidais. Realizada com a finalidade de reduzir a quantidade de alcali necessária na posterior neutralização. Nem todos os óleos necessitam passar por essa etapa de refino, devido às pequenas quantidades de “goma” existentes. O método mais usual é constituído pela adição de água ao óleo, a uma temperatura na faixa de 60 a 70°C, com agitação durante 20 a 30 minutos. Forma-se um precipitado, que é removido por centrifugação, e a eficiência do processo é de 70 a 80%. Há um outro método que utiliza o ácido fosfórico, que apesar de ser mais eficiente (90%), resulta em uma lecitina impura. (Hoffman, 1989, Erickson et al, 1987, Hartman e Esteves, 1982).

2-Neutralização, etapa em que são retirados os ácidos graxos livres, proteínas e produtos de oxidação de triglicerídeos. Esta etapa consiste em adicionar e dispersar uma solução aquosa alcalina ao óleo. A neutralização acontece na interface do óleo com a solução. O processo mais moderno ocorre de maneira contínua, no qual a solução alcalina é adicionada aos óleos, a mistura é aquecida a 65-90°C e posteriormente centrifugada, a fim de separar borra e óleo.

3-Branqueamento, etapa que visa reduzir a quase zero o percentual de pigmentos nos óleos e gorduras. O óleo já neutralizado e seco é alimentado ao branqueador junto com a terra clarificante a uma temperatura contida na faixa de 80 a 90°C, sob vácuo de 30mmHg, e em seguida filtrado em filtros tipo placa.

4-Desodorização, etapa que visa a remoção de sabores e odores que não são desejados no produto final. As substâncias geralmente removidas nesse processo são aldeídos, cetonas, ácidos graxos de cadeia média e curta, hidrocarbonetos, etc. O óleo é alimentado ao desodorizador, com insuflação de vapor direto. As condições de operação são: pressão absoluta de 2 a 8mmHg, a fim de reduzir o consumo de vapor, e temperatura na faixa de 220 a 250°C.

Através do processo combinado de extração supercrítica com adsorção, o óleo é refinado em uma única etapa, evitando as severas condições de processo empregadas no processo convencional de refino, que, devido ao alto percentual de ácidos graxos insaturados presentes no óleo de café, podem levar à degradação térmica do produto, bem como à manipulação de compostos

Capítulo V: Resultados e discussões

perigosos, como soda cáustica e ácido fosfórico. Outra vantagem do processo de extração com adsorção supercrítica é que os custos de processamento e energético podem vir a ser reduzidos através da diminuição das etapas de refino e do material necessário, uma vez que na etapa de dessorção o material adsorvente é regenerado, podendo ser reutilizado no processo.

Os mono e diglicerídios, terpenos, ésteres de terpenos, esteróis, ésteres de esteróis, e ácidos graxos livres, que também são importantes insumos para as indústrias alimentícias como emulsificantes e antioxidantes, encontram-se apresentados na Figura 5.12d e representam o material coletado após a etapa de dessorção (Representada nas Figuras 5.9 a e b pelo salto presente na curva após o platô).

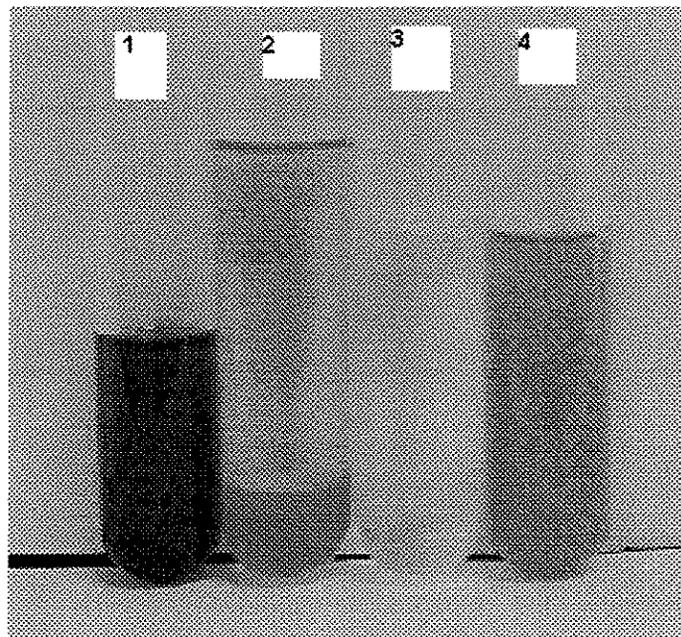


Figura 5.11. Fotografia do Óleo de Café Obtido por Diferentes Processos. O tubo de ensaio identificado com o número 1 representa o óleo bruto de café verde, o tubo de ensaio indicado com o número 2 representa o óleo de café fracionado com CO₂ supercrítico, o tubo de ensaio identificado com o número 3 representa o óleo de café refinado após a etapa de adsorção e o tubo número 4 representa o material recuperado da coluna no processo de dessorção utilizando CO₂ supercrítico saturado em etanol.

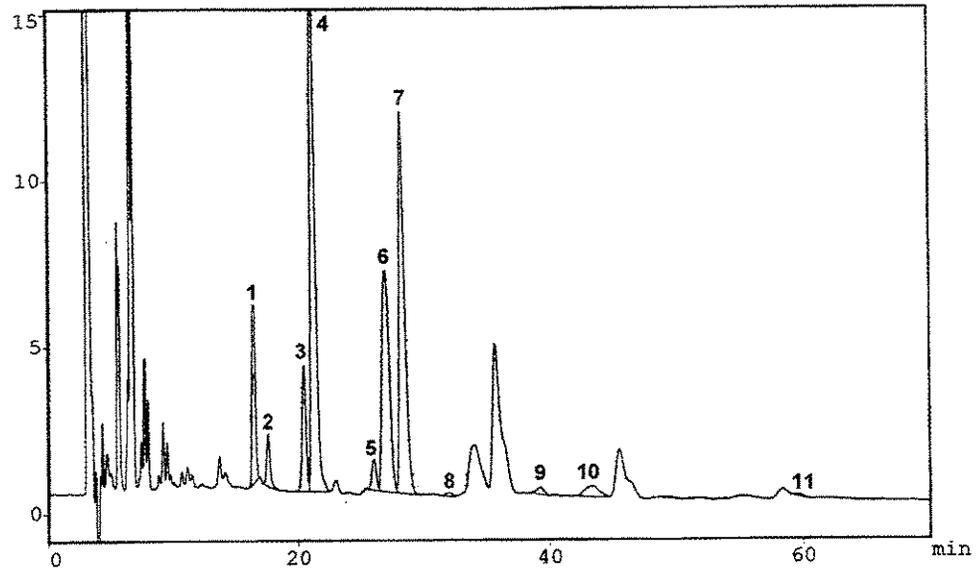


Figura 5.12a. Cromatograma obtido por HPLC do óleo de café bruto.

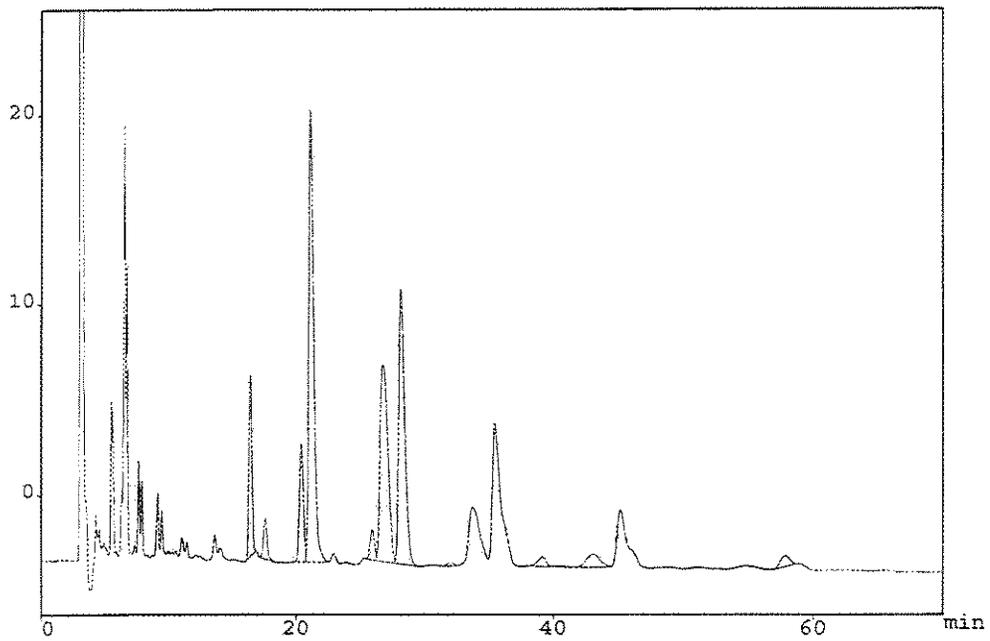


Figura 5.12b. Cromatograma Obtido por HPLC do óleo de café fracionado com CO₂ supercrítico.

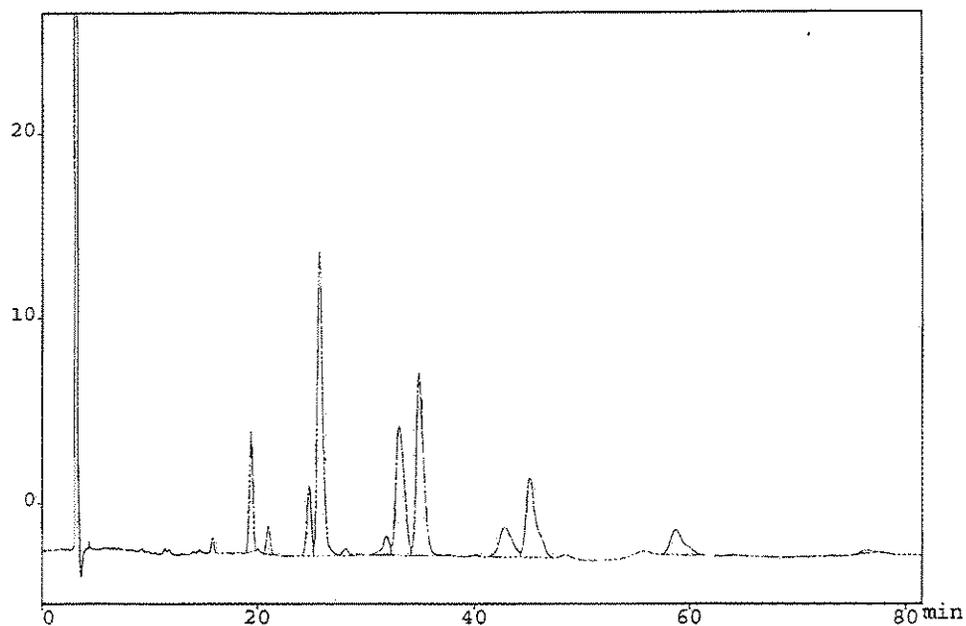


Figura 5.12c. Cromatograma obtido por HPLC do óleo de café verde refinado através de extração supercrítica acoplada a adsorção.

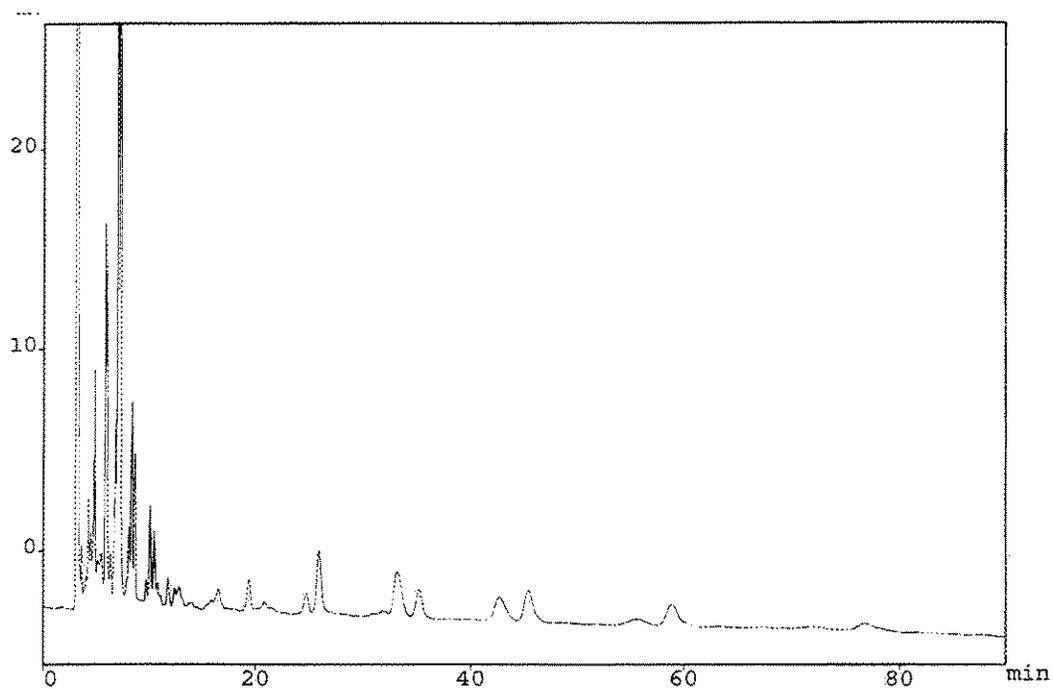


Figura 5.12d Cromatograma obtido por HPLC da fração desorvida da coluna.

As Figuras 5.13 a e b apresentam as curvas de retenção da cafeína, conforme a determinação nas amostras coletadas na saída do sistema. Nestas figuras também estão representadas as curvas de extração obtidas nos ensaios nos quais a coluna de adsorção não foi acoplada à jusante do extrator. Observe-se que a cafeína foi completamente adsorvida na coluna de sílica durante a realização do processo de sorção do óleo de café, juntamente com todos os outros compostos presentes, pois não foi detectada nas frações de óleo obtidas. A cafeína é encontrada apenas nos extratos na etapa de dessorção, na qual é recuperada do material adsorvente em conjunto com os outros compostos do café em uma única fração. Considerando que o material dessorvido da coluna em cada ensaio representa uma massa média de 4,5 g a concentração de cafeína no material dessorvido é aproximadamente 3,7 vezes maior que no óleo bruto de café. Esse resultado comprova a maior eficiência do processo combinado em comparação com o processo de extração simples, em termos de seletividade, em relação à cafeína.

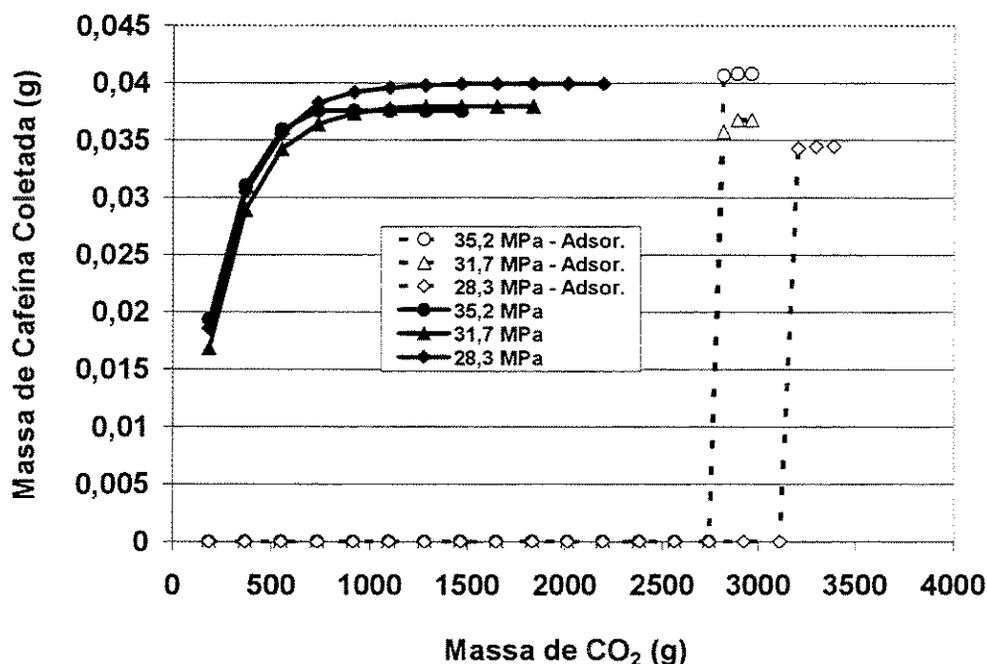


Figura 5.13a Curvas de retenção (adsorção/dessorção) a 50 °C da cafeína presente no óleo de café.

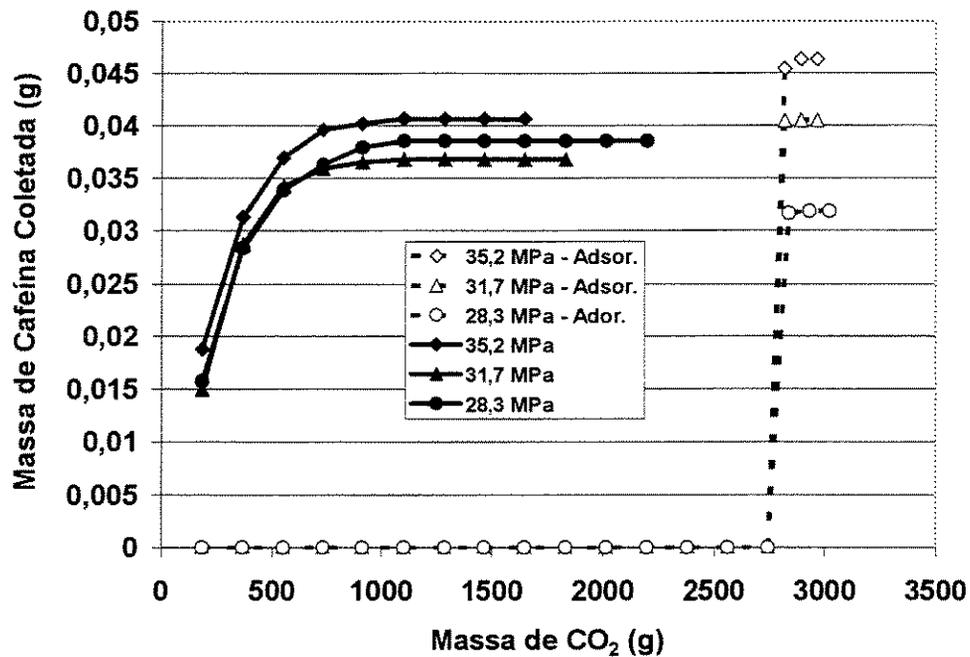


Figura 5.13b Curvas de retenção (adsorção/dessorção) a 70 °C da cafeína presente no óleo de café.

A eficiente separação da cafeína dos triglicerídios se dá devido à diferença de afinidade entre os compostos existentes no óleo e a sílica-gel. A estrutura molecular da cafeína contém dois átomos de oxigênio disponíveis para a formação de pontes de hidrogênio com os grupos silanois presentes na superfície da sílica-gel.

O processo de separação de cafeína do CO₂ supercrítico foi previamente estudado por Tan et al. (2003). Estes autores utilizaram filtros tubulares de alumina com tamanho de poro muito maior que a molécula de cafeína e impregnaram nestes filtros uma membrana de sílica-gel. Foram obtidos bons resultados para a remoção de cafeína, que foram atribuídos à adsorção da cafeína na superfície da sílica-gel.

As curvas mostram ainda que a recuperação da cafeína aumenta com a temperatura e com a pressão. Comparando-se os resultados obtidos no processo com sorção aos do processo de extração supercrítica utilizando um co-solvente, no qual um soluto é recuperado a partir de uma matriz sólida, verifica-se que os

valores encontrados estão de acordo com o comumente verificado (Peker et al, 1992, Saldaña, 2002 b, Kopcak et al, 2004).

Não foram realizadas análises para a determinação do comportamento dos demais compostos presentes no óleo de café, que representam aproximadamente 25 % da massa total alimentada ao extrator (terpenos, esteróis, ácidos graxos livres, etc.). Um balanço de massa, com base nos dados apresentados nas Figuras 9 a e b, indica que estes compostos provavelmente apresentaram o mesmo comportamento verificado para a cafeína. O balanço de massa e o cromatograma apresentado na Figura 5.12d mostram que triglicerídios também estão presentes no material dessorvido da coluna, representando em média 15% dos triglicerídios (75% da massa total) presentes no óleo de café. Esse percentual de triglicerídios no material dessorvido da coluna poderia vir a ser reduzido caso os experimentos fossem continuados por mais tempo.

O balanço de massa entre a quantidade alimentada ao extrator e a quantidade total coletada para cada ensaio experimental é apresentado na Tabela 5.5. Pode-se verificar que a massa de triglicerídios coletadas é em média aproximadamente 63% da massa total alimentada ao extrator e que praticamente toda a massa alimentada ao extrator é recuperada. É importante ressaltar que nestes ensaios o mesmo resíduo de alta viscosidade, o qual supõe-se ser constituído de cera, foi observado no fundo do extrator ao final de cada ensaio e, portanto, pode corresponder à parcela da massa total que falta para fechar o balanço.

Dados preliminares mostraram que é possível a recuperação da cafeína do material coletado após a etapa de dessorção, através de lavagens do material com etanol anidro sob vigorosa agitação, seguida de uma etapa de decantação. Devido à polaridade da molécula de cafeína, foi verificado que este composto preferencialmente se concentra na fase etanólica.

Tabela 5.5 Balanço de massa dos ensaios de extração com sorção.

Pressão (MPa)	Temperatura (°C)	Massa Alimentada (g)	Massa de Triglicerídios Extraída (g)	Triglicerídios Recuperados (%)	Massa Dessorvida (g)	Massa Total Recuperada (%)
35,2	50	17,5	10,80	82,29	5,34	92,23
	70	15,79	10,30	86,97	4,95	96,58
31,7	50	14,51	8,74	80,31	5,50	98,14
	70	15,18	9,51	83,53	4,96	95,32
28,3	50	16,25	11,10	91,08	5,06	99,45
	70	16,03	10,15	84,43	5,61	98,32

* Antes da mudança de polaridade do solvente.

5.4- Extração de cafeína, ácidos clorogênicos e óleo de café

Nesta etapa do trabalho, foi avaliada a extração dos princípios-ativos cafeína, ácidos clorogênicos e óleo presentes nos grãos de café verde. Foram realizados ensaios experimentais de extração utilizando como solventes supercríticos CO₂ puro, e CO₂ adicionado de 5% de etanol ou de isopropanol como co-solventes. Trabalhou-se, em média, com 15g de grãos de café verde moídos com tamanho de partícula médio igual a 0,725 mm. Os ensaios foram realizados em condições de processo e contemplaram-se os níveis de pressão de 15,2, 24,8 e 35,2 MPa e de temperatura de 50 e 60°C, conforme descrito na Seção 4.6. A discussão destes resultados foi realizada separadamente para cada um dos princípios-ativos estudados.

5.4.1 Extração do óleo de café

Os resultados obtidos nos ensaios experimentais isotérmicos e isobáricos são apresentados nas Figuras 5.14 a, b e c para cada um dos solventes estudados. Foram realizados ensaios experimentais em duplicata, escolhidos aleatoriamente dentro das condições experimentais definidas, e revelaram um desvio experimental da ordem de $\pm 6\%$.

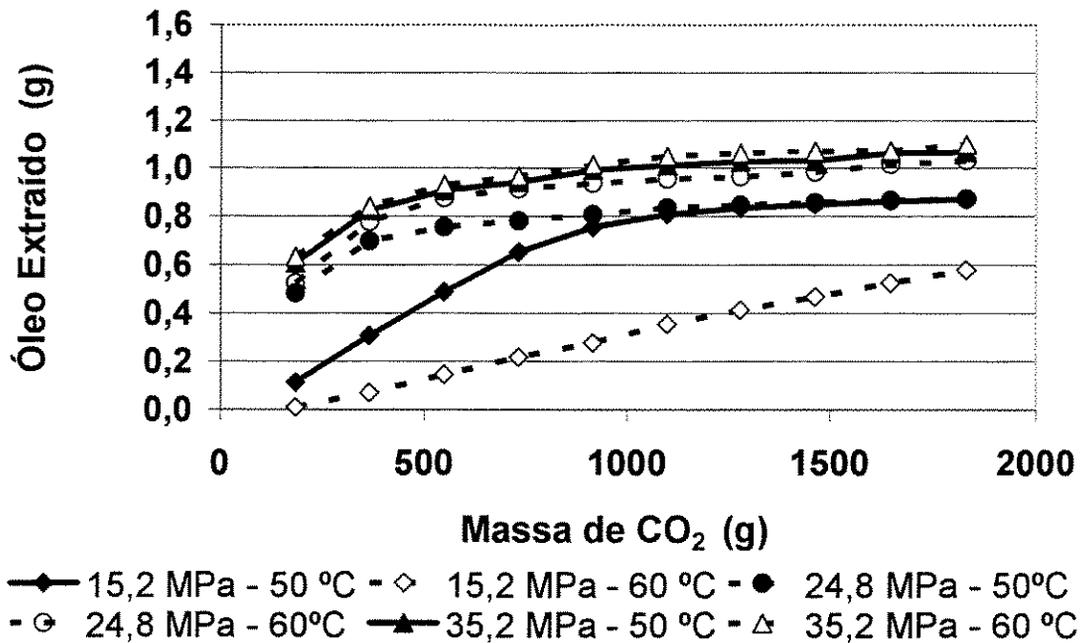


Figura 5.14a. Curvas de extração do óleo de café utilizando CO₂ supercrítico.

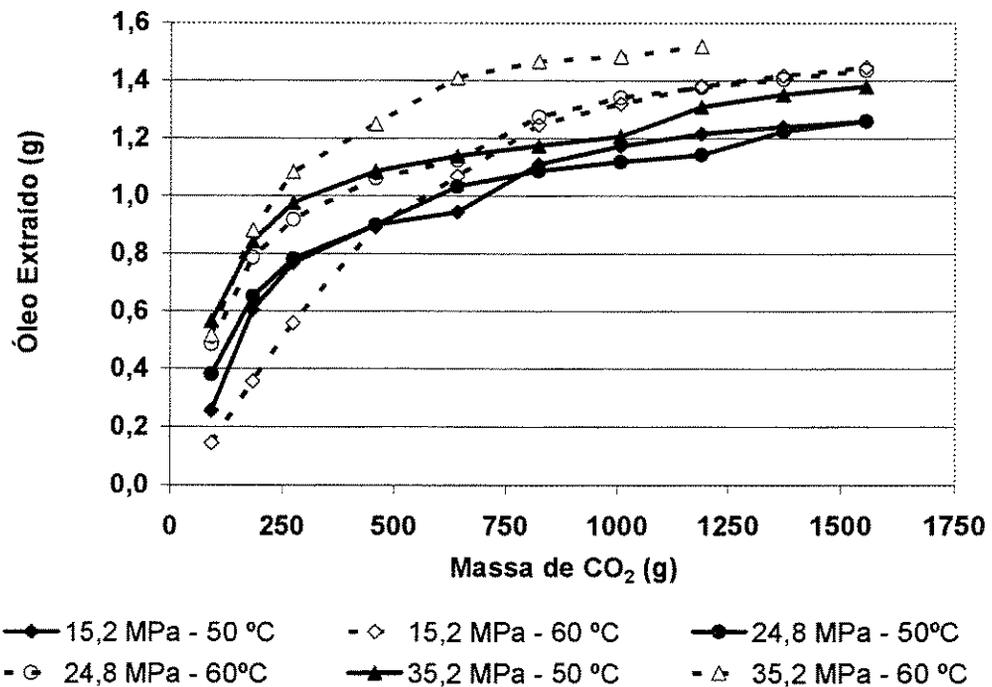


Figura 5.14b. Curvas de extração do óleo de café utilizando a mistura CO₂ / Etanol 5% (m/m) como solvente supercrítico.

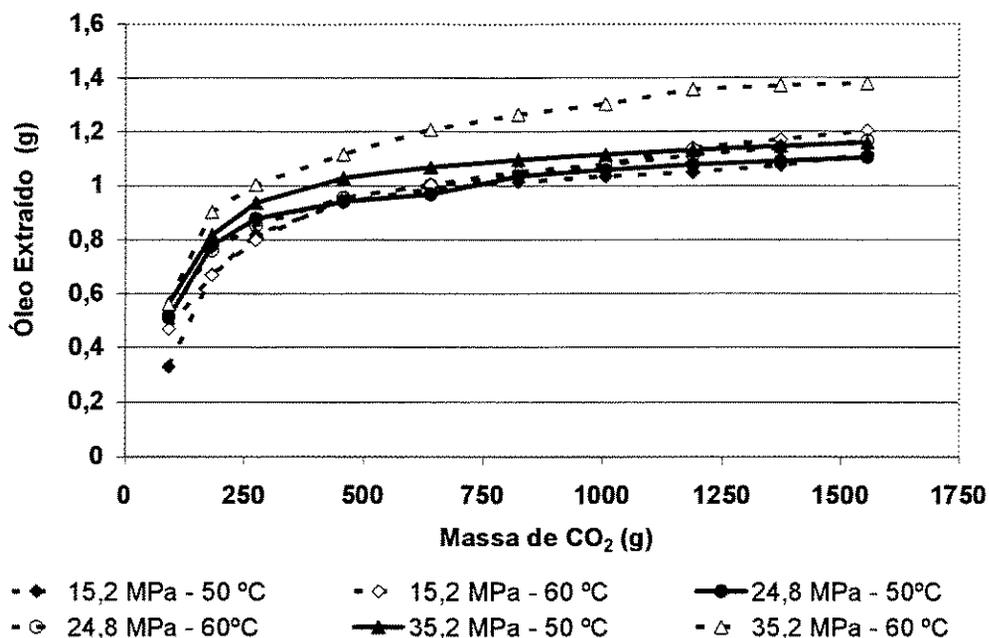


Figura 5.14c. Curvas de extração do óleo de café utilizando a mistura CO₂ / Isopropanol 5% (m/m) como solvente supercrítico.

Os dados indicam, através da razão de extração do óleo de café (massa de óleo extraído / massa de CO₂) calculada através da inclinação da região linear da curva de extração, que a adição de n-álcoois como co-solventes resultou em um grande aumento de solubilidade, se comparadas às razões de extração obtidas utilizando CO₂ puro como solvente, nas mesmas condições de processo. A adição dos co-solventes em percentuais de 5% resultou em uma redução de 60% no tempo de extração e na quantidade de solvente requerida para que rendimentos da ordem de 70% fossem alcançados. Os resultados obtidos, se comparados com dados de extração sohxlet, também mostram que foram obtidos rendimentos de extração do óleo da ordem de 70, 93 e 99%, quando os solventes supercríticos CO₂ puro, CO₂/isopropanol e CO₂/etanol foram utilizados e o processo conduzido a 60°C e 35,2 MPa.

O aumento na razão de extração e nos rendimentos obtidos com a adição dos álcoois como co-solventes podem ser atribuídos a aumentos da densidade do solvente e às modificações das forças de interação físicas entre as moléculas presentes no sistema. A modificação das forças de interação física foi

previamente calculada por Azevedo (2001), aproximando os valores dos parâmetros das moléculas dos triglicerídios necessários para os cálculos das forças de interação física aos valores dos parâmetros de moléculas de hidrocarbonetos. Este autor verificou que tanto as forças de dispersão como as forças de indução aumentam em duas ordens de grandeza. Outro efeito possível e reportado por este autor é a formação de ligações específicas como pontes de hidrogênio entre a molécula do álcool e o núcleo esterificado da molécula do triglicerídio. Estudos experimentais visando medir propriedades dos sistemas solvente-co-solvente-soluto em nível molecular, realizados por Yonker e Smith (1988) e Bulgarevick et al. (2002), mostraram que a adição de um co-solvente aumenta a densidade local ao redor da molécula do soluto, e que as pontes de hidrogênio formadas (a depender das moléculas presentes no sistema) desempenham um importante papel na formação dos complexos de solvatação e, conseqüentemente, no aumento da solubilidade. Esse comportamento foi observado também por Sovová (2001), no estudo da solubilidade do ácido ferrúlico em CO₂ supercrítico puro e adicionado de etanol como co-solvente, e por Ting et al. (1993b) no estudo da solubilidade do naproxeno em CO₂ supercrítico com e sem co-solventes (álcoois alifáticos). De acordo com a análise desses autores, a molécula do naproxeno apresenta um grupamento carboxílico e um grupamento éter, podendo, portanto, vir a formar pontes de hidrogênio ou complexos de transferência de carga com os álcoois alifáticos adicionados como co-solventes ao sistema.

Os dados apresentados nas Figuras 5.14 mostram que rendimentos maiores foram obtidos para processos realizados nas mesmas condições (pressão, temperatura) quando o etanol (fração molar 0,048) foi utilizado como co-solvente em vez do do isopropanol (0,038).

Nas mesmas condições de pressão, temperatura e fração molar conforme mostram os dados de Zúniga-Moreno et al. (2002) e Pöker e Kiran (1997), os dois solventes mistos apresentam aproximadamente a mesma densidade. Portanto, como as misturas foram preparadas em base mássica, essa observação pode ser atribuída ao maior número de moléculas do etanol presentes no sistema e, conseqüentemente, ao maior número de hidroxilas disponíveis para a formação

dos *clusters* de solvatação, ou ainda a efeitos estéricos que também podem influenciar negativamente a eficiência do isopropanol como co-solvente (Ting et al, 1993a, Ting et al, 1993b).

O aumento da razão de extração observado com a adição de co-solventes está de acordo com relatos experimentais da literatura sobre estudos da extração de óleos vegetais de diferentes oleaginosas, podendo-se citar Cocero e Calvo (1996), sobre a extração de óleo das sementes de girassol, Rónyai et al. (1998), sobre a extração do óleo de farelo de milho, e Azevedo e Mohamed (2001) sobre a extração da gordura de Cupuaçu utilizando misturas supercríticas de CO₂ e etanol.

O efeito da pressão e da temperatura na extração do óleo de café é mostrado nas Figuras 5.15 a, b, c. No eixo das ordenadas está representada a razão de extração obtida no primeiro período da curva de extração, que, conforme a denominação de Hedrick et al. (1992), é a região controlada pelo equilíbrio termodinâmico, onde a única resistência à transferência de massa é a difusão da superfície da partícula para o meio supercrítico. Como esperado, o aumento da pressão a temperatura constante e, conseqüentemente, aumentos de densidade, elevam a razão de extração.

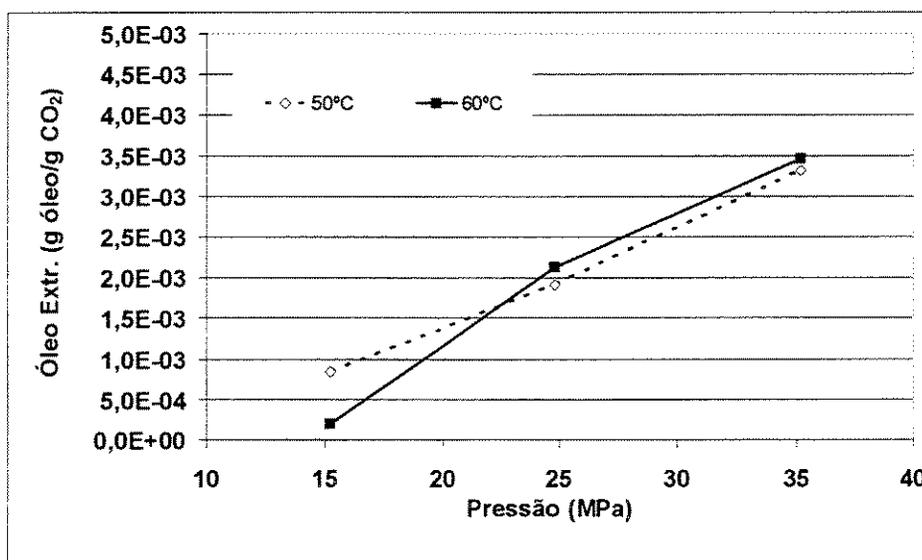


Figura 5.15a: Razão de extração do óleo de café verde em função da pressão utilizando CO₂ como solvente supercrítico

De acordo com Morita e Kajimoto (1990) e Kajimoto et al. (1988), estes aumentos de solubilidade, nos sistemas em que CO₂ puro foi utilizado como solvente, devem-se a redução da distância entre as moléculas do solvente, e do soluto o que faz com que a magnitude das forças de atração física (que são forças de curto alcance) aumentem.

Comparando o efeito da pressão na extração do óleo de café verde quando as misturas CO₂/álcool foram utilizadas com o efeito observado para o sistema no qual CO₂ puro foi utilizado como solvente, fica evidente o efeito do co-solvente na modificação das forças de interação intermoleculares. Nestes sistemas, o efeito da pressão é muito menos pronunciado. Para estes tipos de sistemas, foi verificado que o efeito do co-solvente diminui com o aumento da pressão devido à saturação da região cibotática e também a auto-associação das moléculas do co-solvente (Bulgarevick et al., 2002 e Santos et al., 2004).

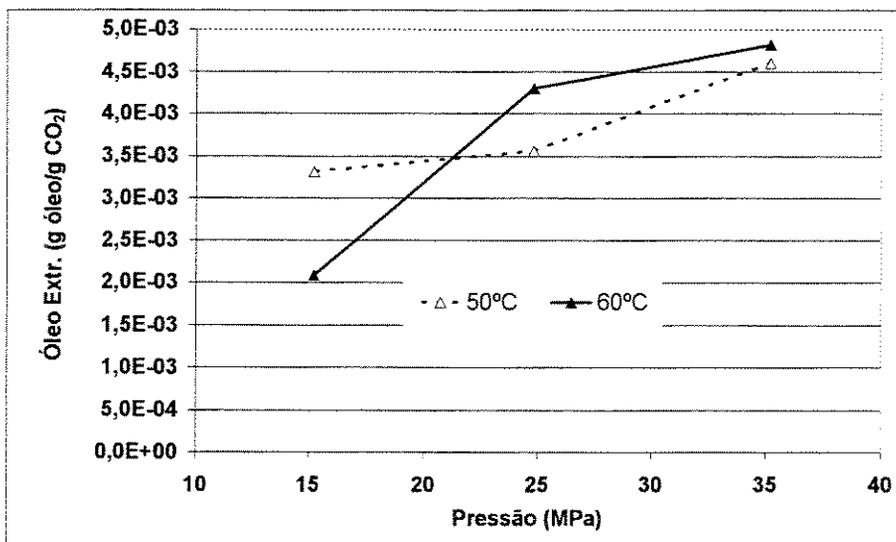


Figura 5.15b: Razão de extração do óleo de café verde em função da pressão utilizando a mistura CO₂/etanol (5% m/m) como solvente supercrítico

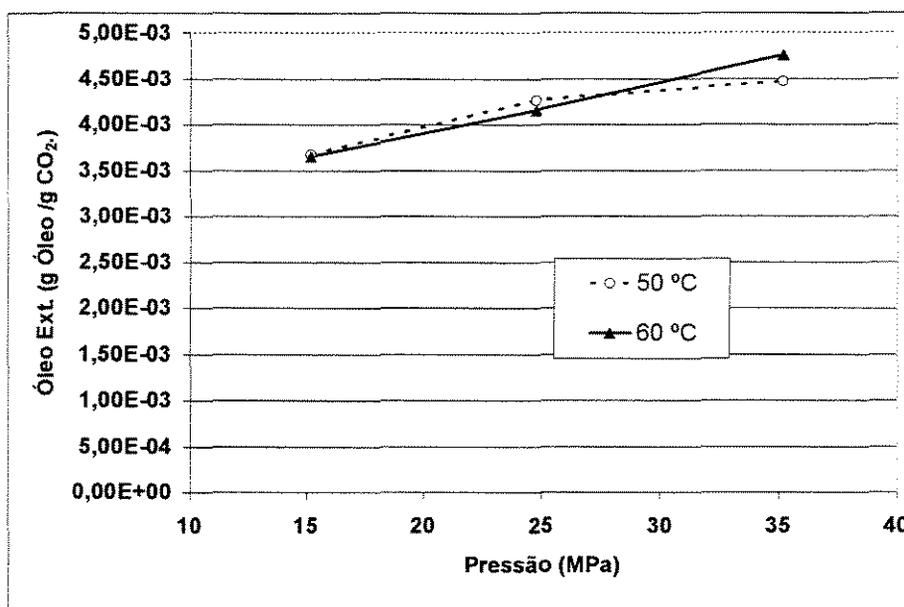


Figura 5.15c: Razão de extração do óleo de café verde em função da pressão utilizando a mistura CO₂/isopropanol (5% m/m) como solvente supercrítico

Para as duas temperaturas estudadas neste trabalho, os dados experimentais sugerem a ocorrência do comportamento retrógrado para os sistemas nos quais CO₂ e CO₂/etanol foram utilizados como solventes. Entretanto, devido ao pequeno intervalo de temperatura estudado e ao desvio experimental médio ($\pm 6\%$), um efeito significativo deste parâmetro não pode ser confirmado. Resultado similar foi observado por Reverchon et al. (2000) no estudo da extração do óleo de rosa mosqueta, utilizando temperaturas de 40 a 70°C na pressão de 413 bar. Os autores relatam que nesta pressão o efeito da temperatura foi desprezível, provavelmente porque no sistema estudado a pressão de cruzamento encontra-se em torno deste valor. Entretanto dados da literatura mostram que, para sistemas CO₂ – óleo vegetal, é comum ocorrer o comportamento retrógrado, como relatado nos trabalhos de Friedrich et al. (1982), sobre a extração de óleo de soja, e Hadolin et al (2001), na extração do óleo de *Silybum marianum* (uma espécie de girassol).

5.4.2 Extração de cafeína

Os resultados obtidos para a extração de cafeína dos grãos moídos de café verde em ensaios isotérmicos e isobáricos são apresentados nas Figuras 16 a, b e c, para as diferentes condições de processo abordadas neste trabalho e já descritas na Seção 4.6.

Os resultados mostram que os rendimentos obtidos foram 1,7, 17 e 2% para os ensaios realizados com CO₂, CO₂/etanol e CO₂/Isopropanol, respectivamente. Os baixos rendimentos observados podem ser atribuídos a alguns fatores. A cafeína presente nos grãos de café está distribuída homogeneamente em complexos com os ácidos clorogênicos (Horman e Viani, 1972). Para a extração da cafeína é necessária a quebra deste complexo (formado através de pontes de hidrogênio) entre as moléculas da cafeína e dos ácidos clorogênicos.

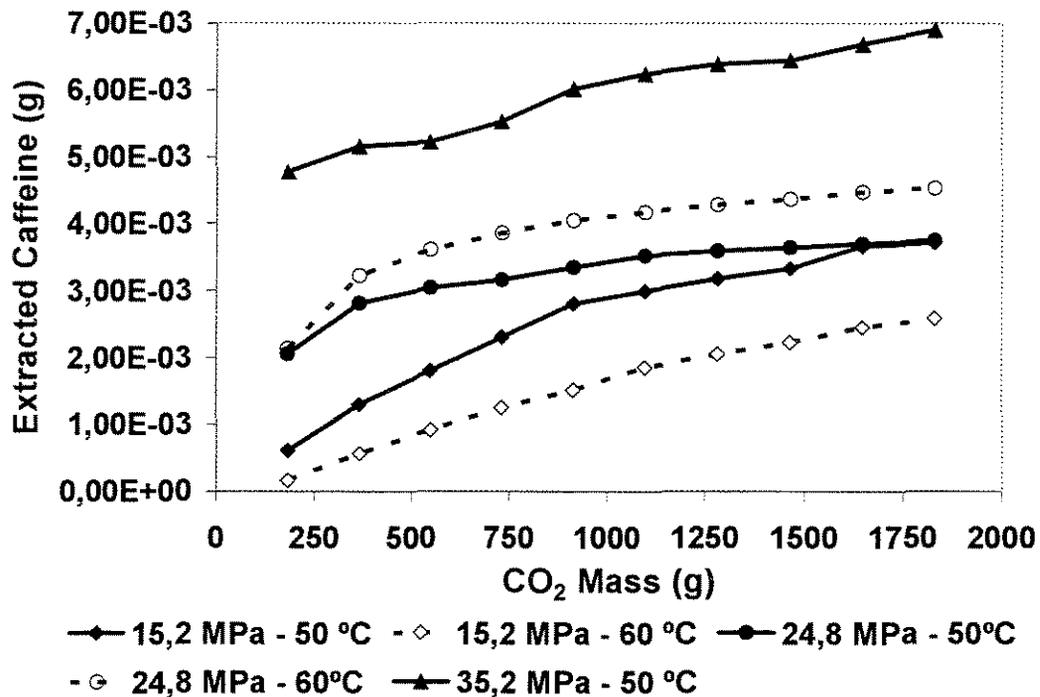


Figura 5.16a. Curvas de extração da cafeína dos grãos de café utilizando CO₂ como solvente supercrítico

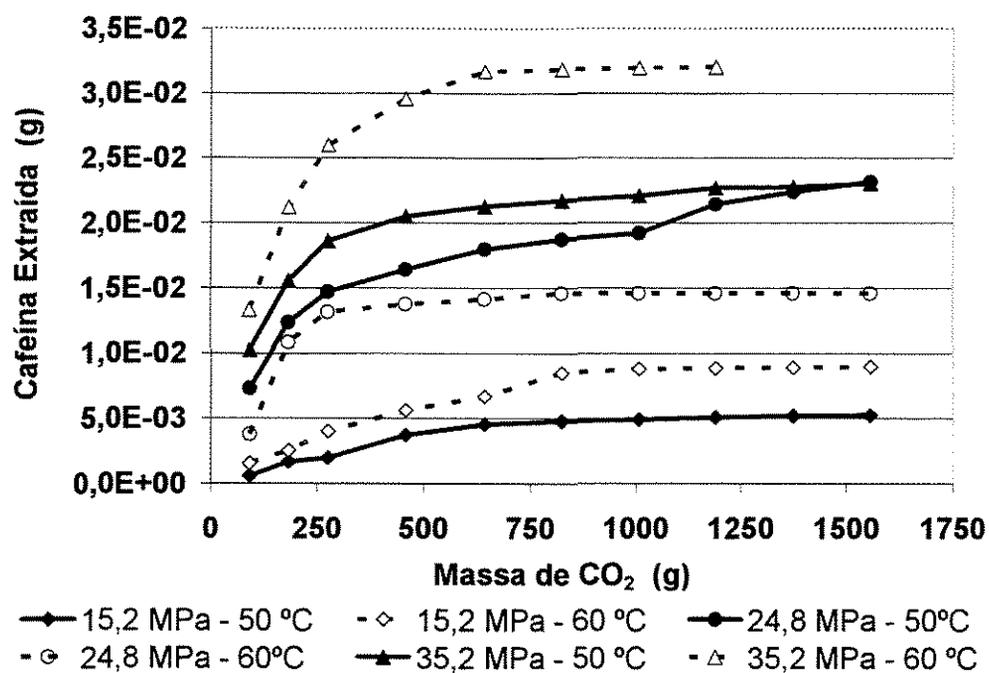


Figura 5.16b. Curvas de extração da cafeína dos grãos de café utilizando a mistura CO₂/etanol (5% m/m) como solvente supercrítico.

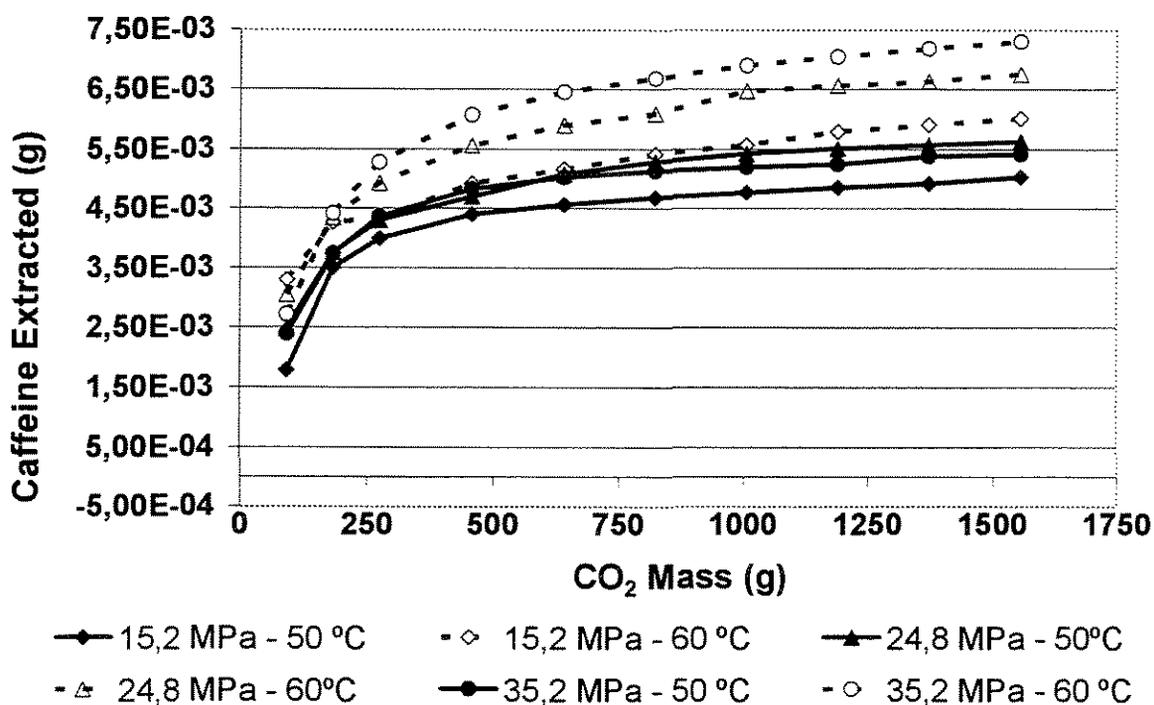


Figura 5.16c. Curvas de extração da cafeína dos grãos de café utilizando a mistura CO₂/isopropanol (5% m/m) como solvente supercrítico

A influência das interações entre o soluto e a matriz vegetal foi previamente reportado por Bjorklund et al. (1998) na extração de clevidipina impregnada em diferentes matrizes sólidas. Os autores mostraram que, a depender dos grupamentos químicos presentes nas superfícies da matrizes sólidas (areia, esferas de vidro, papel de filtro, pellets de aço), a interação entre o soluto e matriz faz com que rendimentos de extração diferindo em aproximadamente uma ordem de grandeza sejam observados.

Como já discutido anteriormente, o CO₂ apresenta maior afinidade por moléculas apolares e fracamente polares (Taylor, 1996), como é o caso das moléculas dos triglicerídios, que apresentam maior afinidade com o CO₂ do que com a cafeína. A adição de um co-solvente polar melhora os rendimentos de extração devido à modificação da forças intermoleculares e densidade do solvente, como pode ser observado no aumento do rendimento de extração da cafeína nos sistemas em que etanol ou isopropanol foram utilizados como co-solventes. Os resultados obtidos por Peker et al. (1992) e Lack e Seidlitz (1993) para a extração de cafeína de grãos de café previamente umedecidos e utilizando CO₂ supercrítico saturado com água mostram que a água é um eficiente co-solvente para a extração de cafeína. Portanto, os baixos rendimentos obtidos podem ser atribuídos às baixas concentrações de co-solvente, as quais não aumentaram suficientemente a polaridade do solvente (CO₂-álcool) de maneira que fosse possível quebrar o complexo formado entre as moléculas de cafeína e dos ácidos clorogênicos e solvatar as moléculas de cafeína. A concentração de co-solvente influencia diretamente o rendimento e a razão de extração, conforme mostrado por Kopcak et al. (2004) na extração de cafeína das sementes moídas de guaraná. Os autores verificaram que o rendimento de extração aumentou em aproximadamente uma ordem de grandeza ao se aumentar o percentual de etanol no CO₂ de 5 para 10%, em base mássica.

Os menores rendimentos observados para os sistemas CO₂/Isopropanol e CO₂ puro em comparação com os sistemas CO₂/Etanol podem ser atribuídos às mesmas razões discutidas na Seção 5.3.1 e também à possível perda de seletividade para os sistemas nos quais CO₂/Isopropanol foi utilizado como solvente. As análises cromatográficas dos extratos mostraram que os ácidos

clorogênicos foram detectados em maior quantidade quando o CO₂/Isopropanol foi utilizado como solvente. Para os outros extratos, os ácidos clorogênicos foram identificados apenas como traços nos cromatogramas.

Os dados obtidos mostram um aumento da razão de extração da cafeína com o aumento da pressão quando CO₂ e CO₂/Etanol foram utilizados como solventes (Figuras 5.17 a e b). Nos sistemas em que a mistura CO₂/isopropanol foi utilizada como solvente, o aumento da pressão inicialmente aumenta a razão de extração de cafeína e subsequente diminui com a pressão (Figura 5.17 c), apesar da massa total extraída aumentar, sugerindo uma perda de seletividade do solvente. Entretanto, esse ligeiro aumento observado com o incremento da pressão, pode não ser significativo, levando em consideração os desvios experimentais.

A perda de seletividade e a redução do rendimento da extração com a variação da pressão de extração tem sido reportada na literatura. Entre os principais trabalhos pode-se citar Saldaña (1997), que estudou a extração de cafeína dos grãos de café utilizando CO₂ supercrítico saturado em água como solvente. A autora verificou que, aumentando a pressão, maiores percentuais de óleo estavam presentes nos extratos. Outro trabalho que exemplifica este comportamento com a pressão foi realizado por He et al. (2003), que estudaram a extração do óleo e de esqualeno dos grãos de amaranto utilizando CO₂ como solvente supercrítico, na faixa de pressão de 15 a 30 MPa e temperaturas de 40 a 70°C. Os autores verificaram que na temperatura de 50°C a razão de extração do esqualeno aumenta no intervalo de pressão de 15 a 20 MPa, decrescendo para as pressões de 25 a 30 MPa. Os autores relacionaram este comportamento a pressões mais altas com a perda de seletividade do CO₂.

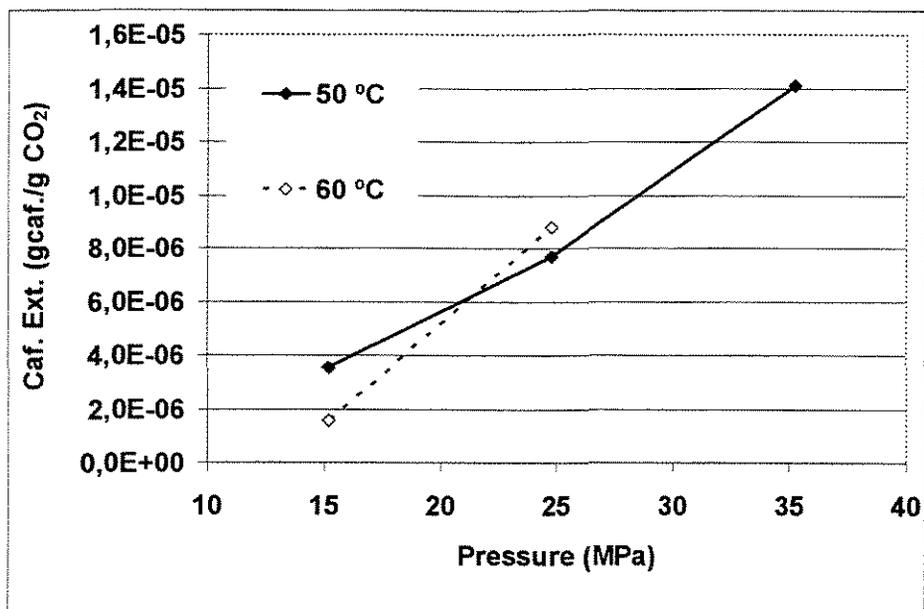


Figura 5.17a: Razão de extração de cafeína dos grãos de café verde, utilizando CO₂ como solvente supercrítico, em função da pressão

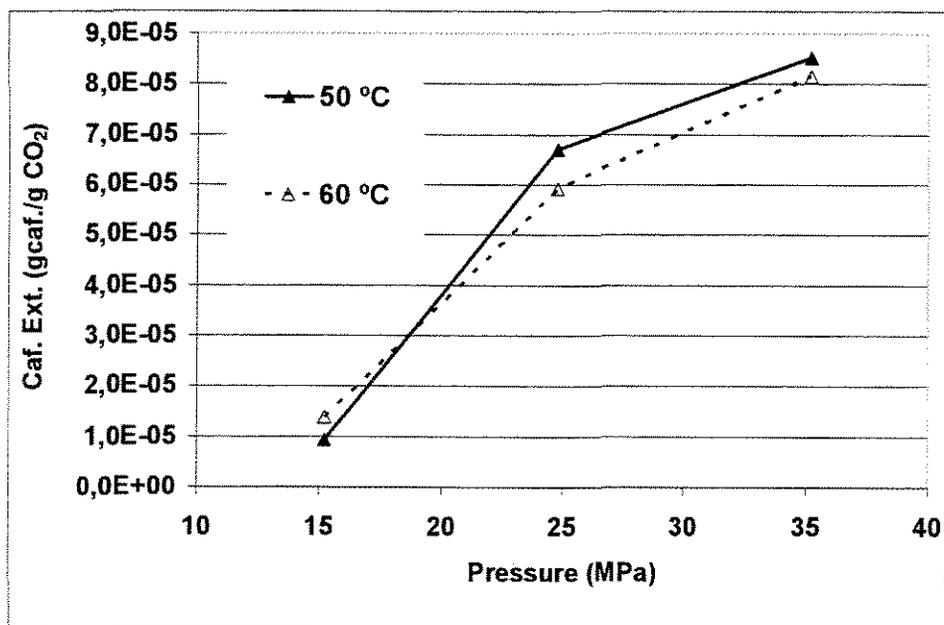


Figura 5.17b: Razão de extração de cafeína dos grãos de café verde, utilizando a mistura CO₂/etanol (5% m/m) como solvente supercrítico, em função da pressão

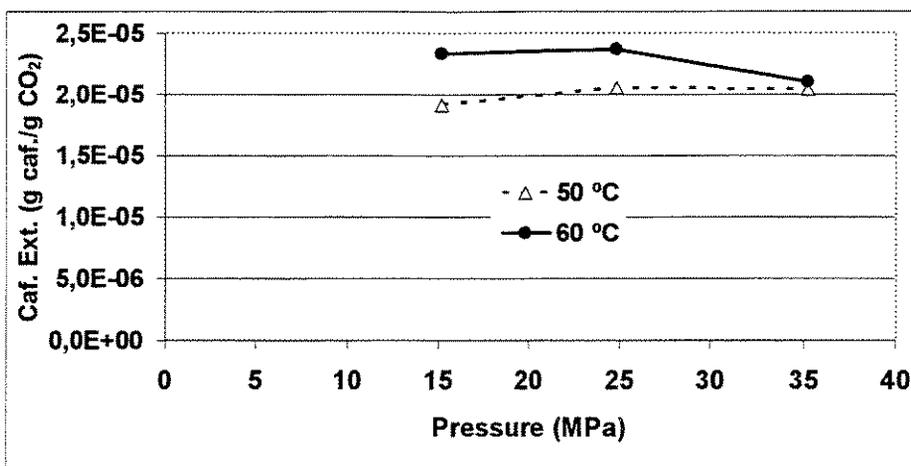


Figura 5.17c: Razão de extração de cafeína dos grãos de café verde, utilizando a mistura CO₂/isopropanol (5% m/m) como solvente supercrítico, em função da pressão

Os dados obtidos também mostram que, no intervalo de temperatura estudado neste trabalho, este parâmetro do processo não teve muita influência quando o CO₂ e CO₂/etanol foram utilizados como solventes, sugerindo a ocorrência do comportamento retrógrado para os sistemas CO₂/Isopropanol.

5.4.3 Extração dos ácidos clorogênicos

Os extratos obtidos nos ensaios de extração supercrítica utilizando CO₂ puro, CO₂/etanol (5% m/m) e CO₂/isopropanol (5% m/m) como solventes supercríticos, descritos na Seção 4.6, foram analisados por HPLC, conforme procedimento explicado na Seção 4.8.4. Os ácidos clorogênicos foram detectados em quantidades consideráveis nos extratos obtidos, utilizando a mistura CO₂/Isopropanol como solvente. Nos ensaios realizados utilizando CO₂ (35,2 MPa) e CO₂/etanol (35,2 MPa) como solvente, os ácidos clorogênicos foram detectados apenas como traços.

Comparando os ensaios realizados com co-solventes, os dados mostram que o isopropanol apresentou melhores resultados para a extração dos ácidos

clorogênicos, apesar de estar em menor concentração e ser menos polar que o etanol. Possivelmente outros compostos polares presentes nos grãos (ex: clorofila, açúcares, cafeína, etc.) competiram com os ácidos clorogênicos pelas moléculas de etanol disponíveis. Possivelmente, com a continuação da extração por mais tempo, maiores quantidades de ácidos clorogênicos poderiam vir a ser recuperadas a medida que os demais compostos fossem esgotados na matriz vegetal.

As curvas de extração obtidas para os ensaios utilizando CO₂/isopropanol são apresentadas na Figura 5.18. Entretanto, as quantidades de ácidos clorogênicos extraídas mostram baixos rendimentos de processo em todas as condições estudadas.

Conforme discutido anteriormente, os ácidos clorogênicos formam complexos com a cafeína (Horman e Viani, 1972). De acordo com as suas características físico-químicas, existe também a possibilidade das moléculas de ácidos clorogênicos se auto-associarem na forma de dímeros, trímeros, etc, interferindo no comportamento de solubilidade, conforme mostram os trabalhos de Fujii et al. (1988) e Bell et al. (2003). Estes autores mostram ainda que o grau de auto-associação diminui à medida que a polaridade do solvente aumenta. Segundo Clifford (1985), o isopropanol líquido e soluções de isopropanol/água são solventes de alta eficiência na extração dos ácidos clorogênicos dos grãos de café (solventes mais polares que o CO₂/Isopropanol 5% m/m). Portanto, é possível assumir que a baixa concentração do co-solvente pode ter sido o fator principal para falta de eficiência do sistema.

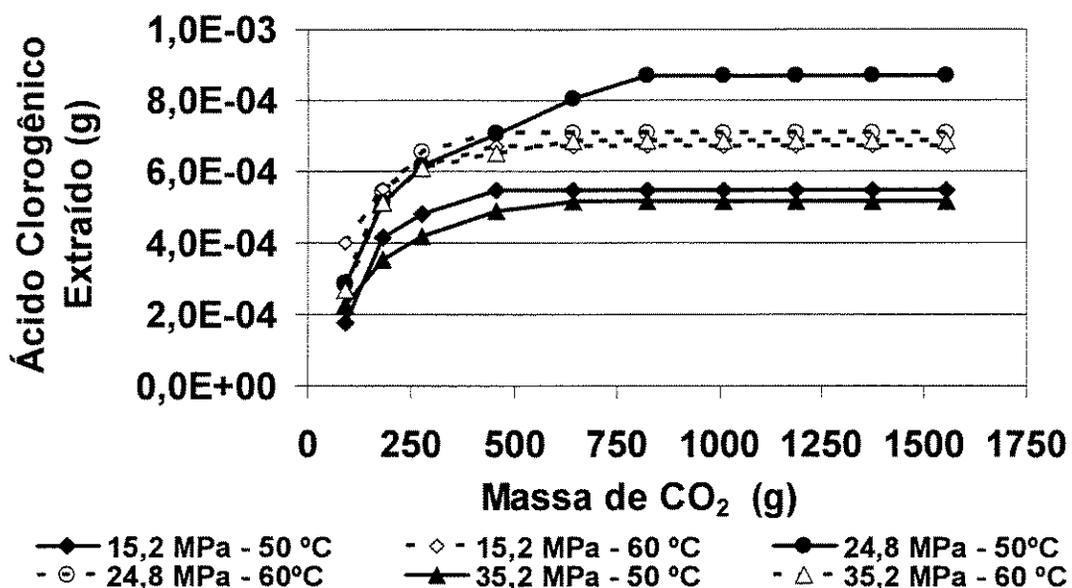


Figura 5.18. Curvas de extração dos ácidos clorogênicos dos grãos de café utilizando CO₂/isopropanol 5% (m/m) como solvente supercrítico.

O efeito da pressão na extração dos ácidos clorogênicos foi semelhante ao verificado para a cafeína e, com o aumento da temperatura não foi observada a presença do comportamento retrógrado, ou seja, o aumento da temperatura resultou em aumento da razão de extração em todas as condições de pressão abordadas.

5.5- Extração Sequenciada – mudança de polaridade do solvente

Os resultados anteriores mostraram que o CO₂ supercrítico puro é um solvente eficiente na extração do óleo de café verde dos grãos moídos. Os dados também mostraram que a cafeína foi parcialmente extraída e que estes compostos podem ser separados em uma única etapa de refino através de uma coluna de adsorção empacotada com sílica-gel.

Nesta etapa do trabalho, buscou-se aumentar a eficiência do processo quanto ao rendimento de extração do óleo e da cafeína, e extrair efetivamente os ácidos clorogênicos dos grãos de café verde moídos. Foram realizados ensaios

experimentais de extração dos princípios ativos do café, conforme descrito na Seção 4.7. Nestes ensaios, visou-se combinar as estratégias de extração seletiva e sequenciada com a estratégia de separação seletiva. As etapas de extração seletiva constituem as etapas do processo em que o CO₂ puro e o CO₂ saturado com álcoois alifáticos (metanol, etanol ou isopropanol) foram utilizados como solventes. As etapas de separação seletiva constituem as etapas de adsorção em sílica-gel e resina de troca iônica, que visam separar a cafeína do óleo de café e os ácidos clorogênicos dos demais compostos presentes no extrato após mudança de polaridade do solvente.

Nestes ensaios, foram utilizadas partículas de café verde de diâmetro médio de 0,35 mm. A redução do tamanho visou aumentar a área superficial e o percentual de óleo livre presente na superfície da partícula. Sovová et al. (1994) e Reverchon et al. (1999 e 2000) mostraram que a redução do tamanho de partícula resulta no rompimento de uma maior quantidade de estruturas celulares nas quais o óleo fica armazenado nas plantas e aumentam a eficiência do processo.

O aumento da eficiência se deve ao fato do processo de solubilização do óleo livre ser mais rápido que o processo de extração do óleo intrapartícula, pois o primeiro é controlado pela resistência termodinâmica (equilíbrio de fases) enquanto o segundo é controlado pela difusão até a superfície da partícula (resistência à transferência de massa).

O processo que foi proposto constituiu-se de quatro etapas, conforme descrito a seguir:

1- Extração do óleo de café e de parte da cafeína a partir dos grãos de café verde moídos, utilizando CO₂ supercrítico puro nas temperaturas de 50 e 70 °C e pressões de 31,7 e 35,2 MPa.

2- Refino do óleo de café verde, utilizando uma coluna de adsorção empacotada com sílica-gel e CO₂ supercrítico como solvente, conforme apresentado na Seção 5.3. Nesta etapa, as condições de processo (T e P) na coluna de adsorção foram mantidas nos mesmos níveis utilizados no vaso de extração.

Capítulo V: Resultados e discussões

2.1- Recuperação do material adsorvido da coluna, utilizando CO₂ supercrítico saturado em álcool (a depender do álcool utilizado na etapa de extração dos ácidos clorogênicos)

2.2- Separação da cafeína dos demais compostos desorvidos da coluna, por lavagem com álcool.

3- Extração dos ácidos clorogênicos e da cafeína restantes nos grãos de café verde, utilizando CO₂ supercrítico saturado com álcoois alifáticos. Para a realização desta etapa, 150 mL do álcool utilizado foram previamente alimentados ao vaso de saturação e este foi levado às condições de processo mantidas no vaso de extração. Através do sistema de válvulas, os vasos foram alinhados e a vazão de gás expandido mantida em 1L/min através da válvula micrométrica. Após a obtenção de cada ponto experimental, o vaso de saturação foi realimentado, de maneira que ao início de cada ponto o volume de álcool no vaso fosse sempre o mesmo.

4-Separação dos ácidos clorogênicos dos demais compostos extraídos, utilizando uma coluna empacotada com uma resina aniônica.

4.1-Recuperação dos ácidos clorogênicos, utilizando ácido acético para removê-los da coluna e regenerar a resina.

5.5.1 Primeira etapa do processo de extração

Nestes ensaios foram estudados os efeitos da pressão, temperatura e polaridade do solvente. Em cada ensaio experimental foram alimentadas ao vaso de extração aproximadamente 18 g de grãos moídos. Ensaio experimentais em duplicata, escolhidos aleatoriamente dentro das condições de processo utilizadas, mostraram um desvio experimental de 5,3%.

Os resultados obtidos são apresentados nas Figuras 5.19-5.21 a e b tendo sido utilizados como solventes CO₂ supercrítico puro (na primeira etapa do processo) e CO₂ supercrítico saturado com um álcool (segunda etapa do processo). Os dados estão apresentados de maneira adimensional (g extraída/kg

café versus kg CO₂/kg café). Esta maneira de representação visa tornar mais fácil a comparação entre os dados experimentais tornando-os independentes da massa de amostra alimentada ao extrator. Representados dessa forma os dados podem ainda ser utilizados em estudos de *scaleup* do processo. A segunda etapa do processo de extração começou após a passagem de 104 kg de CO₂/ kg de café através do vaso de extração. Este ponto é representado nas curvas pelo aumento abrupto das massas de cafeína e de ácidos clorogênicos extraídos.

Nas Figuras 5.19a, 5.20a e 5.21a estão representadas as curvas de extração da cafeína e do óleo de café para os processos realizados a 31,7 e 35,2 MPa, temperaturas de 50 e 70°C e utilizando metanol, etanol e isopropanol como co-solventes, respectivamente. Os dados obtidos para a extração dos ácidos clorogênicos nas mesmas condições de processo são apresentados na Figura 5.19b, 5.20b e 5.21b.

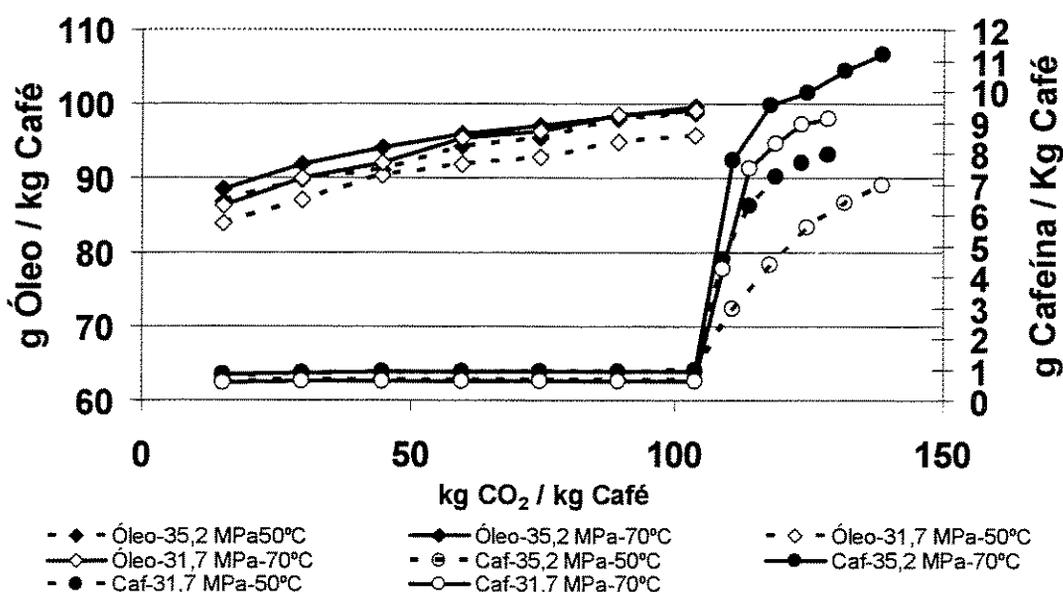


Figura 5. 19a: Curvas de extração do óleo e da cafeína do processo de extração sequenciada utilizando metanol como co-solvente.

As curvas de extração que representam a primeira etapa do processo de extração sequenciada representam ensaios experimentais realizados em triplicata,

uma vez que nesta etapa do processo o solvente supercrítico utilizado foi o CO₂ puro. A excelente concordância entre os dados experimentais serve para confirmar a reprodutibilidade desses ensaios .

Analisando as curvas de extração do óleo de café, observa-se que nas duas pressões e temperaturas estudadas em todos os ensaios experimentais realizados foram obtidos rendimentos de extração superiores a 90% se compararmos os rendimentos com os obtidos por extração soxhlet. Comparando-se estes dados, nos quais foram utilizadas partículas com diâmetro médio de 0,35 mm, com os previamente levantados, que utilizaram partículas com diâmetro médio de 0,725 mm, pode-se verificar que a redução do tamanho em 48 % representou um aumento do rendimento de extração em 20%. Estas observações estão de acordo com outros estudos previamente reportados na literatura, entre os quais podem-se citar Sovová (1994), Marrone, et al. (1998) e Reverchon et al. (1999), que estudaram o efeito do tamanho de partícula no rendimento do processo de extração de óleos vegetais utilizando CO₂ supercrítico.

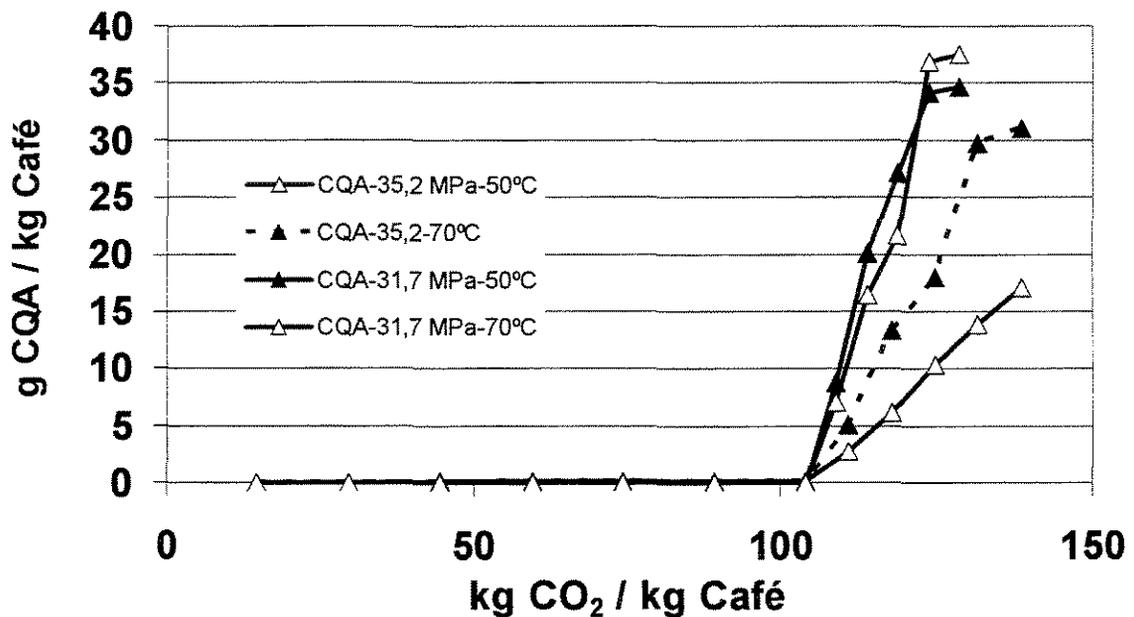


Figura 5. 19b: Curvas de extração dos ácidos clorogênicos do processo de extração seqüenciada utilizando metanol como co-solvente.

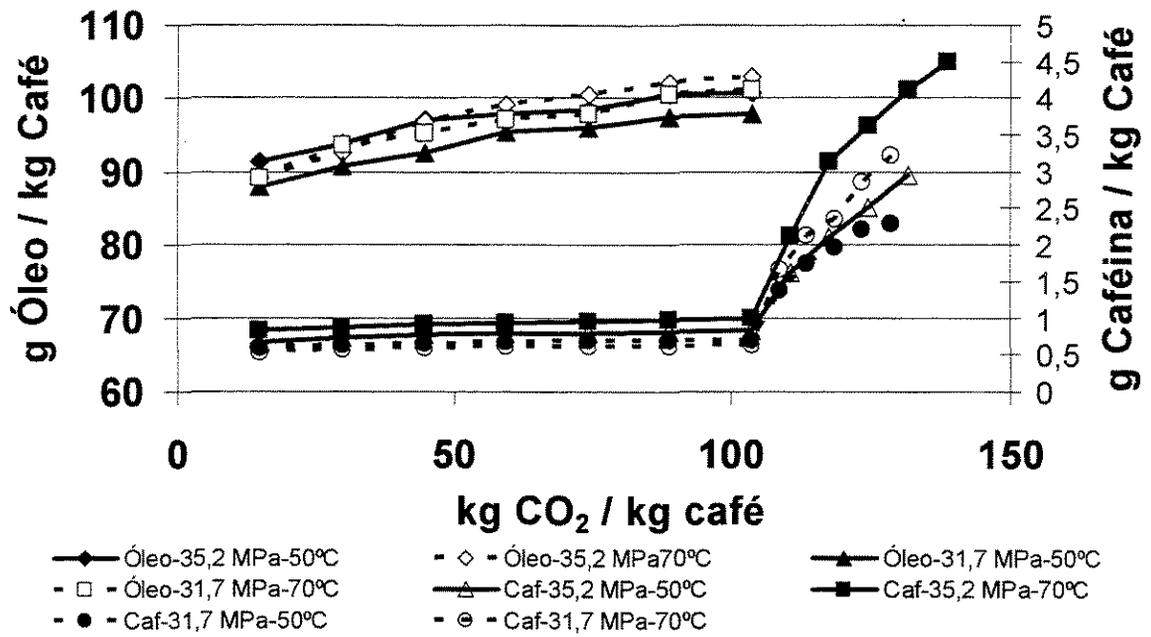


Figura 5. 20a: Curvas de extração do óleo e da cafeína do processo de extração seqüenciada utilizando etanol como co-solvente.

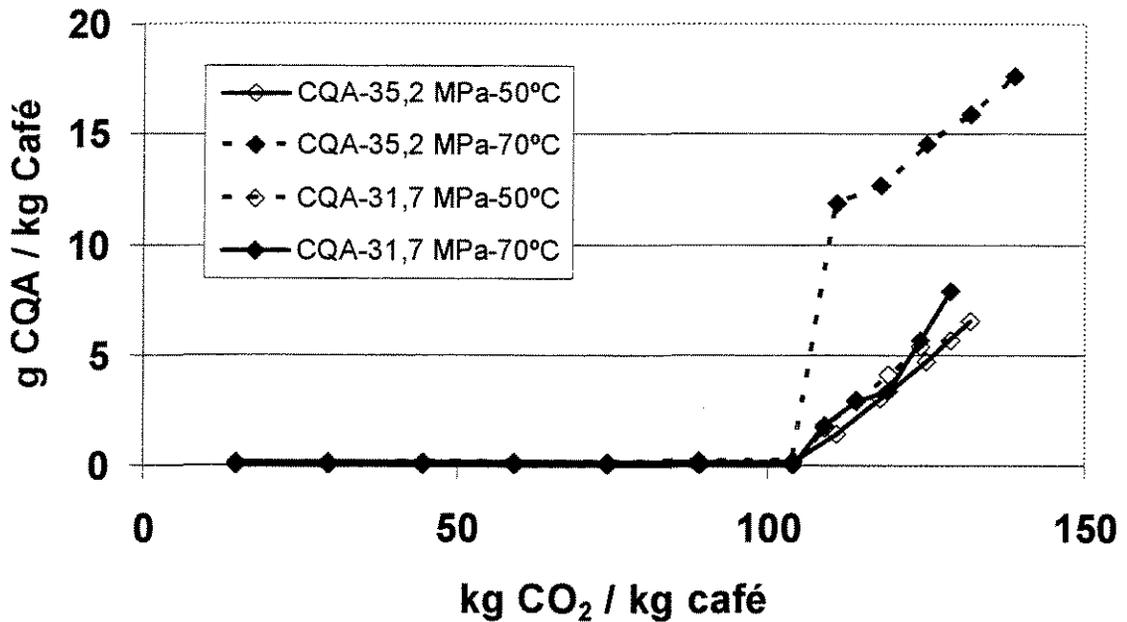


Figura 5. 20b: Curvas de extração dos ácidos clorogênicos do processo de extração seqüenciada utilizando etanol como co-solvente.

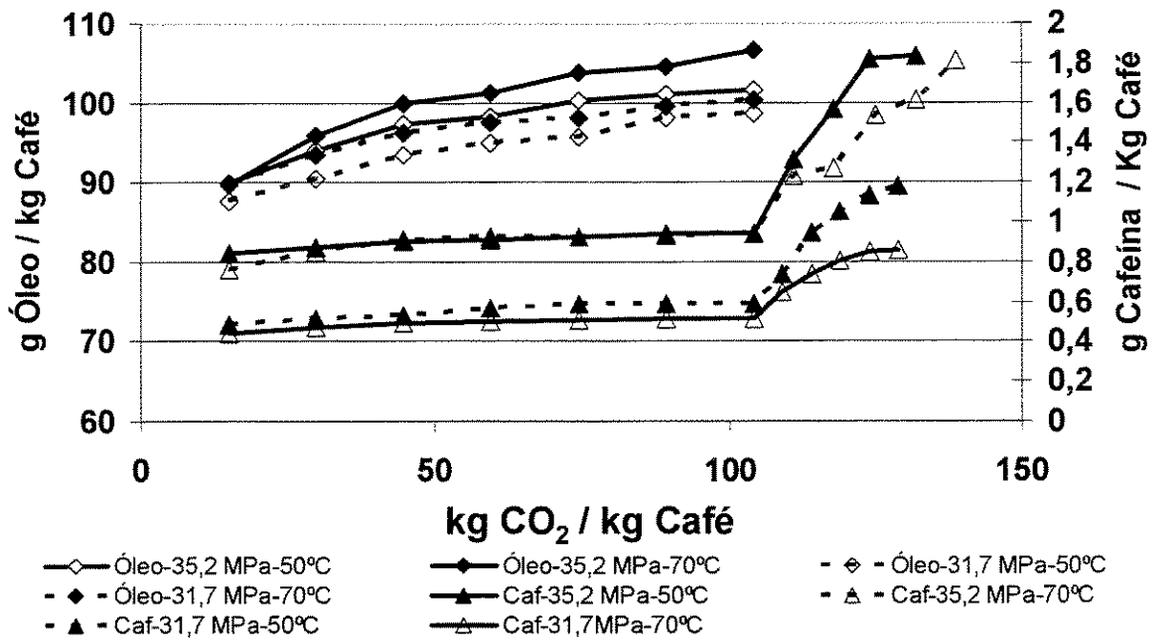


Figura 5. 21a: Curvas de extração do óleo e da cafeína do processo de extração seqüenciada utilizando isopropanol como co-solvente.

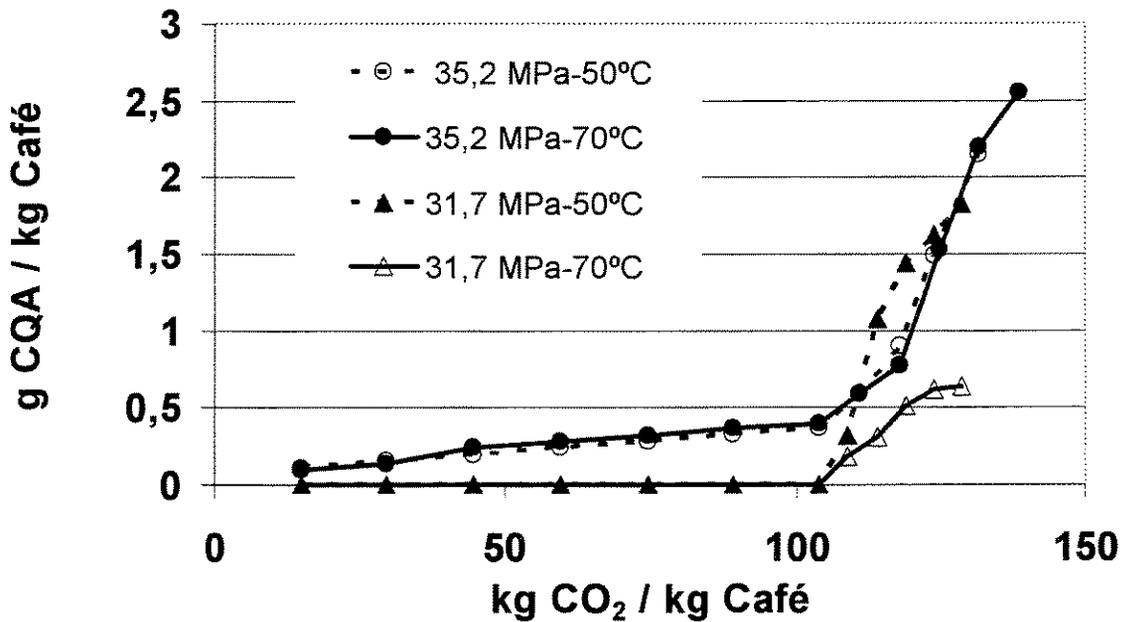


Figura 5. 21b: Curvas de extração dos ácidos clorogênicos do processo de extração seqüenciada utilizando isopropanol como co-solvente.

O comportamento observado para a razão de extração e do rendimento de processo com a variação do tamanho de partícula deve ser atribuído à ruptura de uma maior quantidade de estruturas celulares que armazenam o óleo nas sementes e à redução da razão volume da partícula/área superficial.

Devido à pequena massa de amostra alimentada ao vaso extrator (média de 18 g), a região linear da curva de extração não se encontra representada, pois ao se coletar a primeira fração de material todo o óleo livre já havia sido extraído. O efeito da pressão no processo de extração do óleo de café, neste mesmo intervalo, foi estudado na Seção 5.4. Entretanto, pode-se observar que rendimentos de extração ligeiramente superiores foram obtidos a 35,2 MPa na temperatura de 70°C.

Em relação à extração de cafeína na primeira etapa do processo, os dados apresentados nas Figuras 5.19a a 5.21a mostram que o aumento da pressão aumentou de maneira significativa o rendimento da extração. A recuperação da cafeína aumentou de 2% para 10%. Nestes dados também ficam evidentes os efeitos da redução do tamanho de partícula e da perda de seletividade, devido ao aumento do poder de solvatação do CO₂, resultando na solubilização de compostos de maior polaridade. Estas observações experimentais estão de acordo com os dados apresentados por Kopcak et al. (2004) e Rodrigues et al. (2003) sobre o estudo da extração de cafeína dos grãos de guaraná moídos e extração do óleo essencial de anis utilizando CO₂ supercrítico como solvente, respectivamente.

Ainda sobre a extração de cafeína na região da curva na qual o CO₂ puro foi utilizado como solvente, observa-se que o efeito da temperatura não foi significativo nas condições de processo abordadas. Como a região linear da curva de extração não está representada e como a diferença entre os valores é muito pequena, a diferença entre as massas extraídas cai dentro da faixa do erro experimental (5,3%) não sendo possível aferir maiores significados ao efeito deste parâmetro.

Os rendimentos de extração dos ácidos clorogênicos nesta primeira etapa do processo não foram significativos, sendo da ordem de 0,42%.

Entretanto, os efeitos da pressão e do tamanho de partícula se mostraram significativos na extração dos ácidos clorogênicos. Os dados mostram que na pressão de 31,7 MPa os ácidos clorogênicos foram identificados nos extratos apenas como traços, tendo sido detectados em maiores quantidades a 35,2 MPa.

A combinação do efeito do aumento da densidade do solvente, devido ao aumento da pressão, com o efeito da redução do tamanho de partícula, devido ao aumento da área superficial, podem ser associados à detecção dos ácidos clorogênicos nos extratos (Rodrigues et al., 2003; Kopcak et al., 2004).

Como os ácidos clorogênicos estão homogêneamente distribuídos por toda a estrutura da matriz vegetal do grão de café, a redução do tamanho de partícula disponibiliza uma maior quantidade destes compostos na superfície da partícula, onde a resistência a transferência de massa é menor (Abaroudi et al., 1999). Este resultado está coerente com os dados apresentados na Seção 5.4, nos quais os ácidos clorogênicos foram identificados apenas como traços nos extratos, quando se utilizaram partículas com tamanho médio de 0,725 mm nas mesmas condições de processo (35,2 MPa e 50 °C).

Outro possível efeito da pressão na extração dos ácidos clorogênicos pode ser relacionado com o grau de auto-associação destes compostos, o que, conforme apresentado anteriormente, influencia no comportamento de solubilidade do composto. À medida que a pressão é elevada, o grau de auto-associação ou complexação é reduzido e o composto é trazido à sua forma molecular, estando mais livre para a formação dos complexos de solvatação. (Bell et al., 2003).

5.5.2 Segunda etapa do processo de extração

A mudança da polaridade do solvente após a extração do óleo de café, conforme mencionado anteriormente, começa após a passagem de 104 kg de CO₂/kg de café através do vaso de extração.

5.5.2.1 Adição de metanol

Os dados apresentados na Figura 5.19a mostram que a adição de metanol ao sistema resultou em um aumento do rendimento da extração de cafeína de 10% para aproximadamente 100%. No cultivar de café utilizado neste trabalho, os ácidos clorogênicos estão presentes no percentual médio de 6%. Desse percentual o isômero 5 CQA representa aproximadamente (75%) do total de ácidos clorogênicos presentes nos grãos de café (Menezes, 1990). Portanto, de acordo com os dados apresentados na Figura 5.19b, para os ácidos clorogênicos os rendimentos de extração obtidos aumentaram de 0,42% para 82% após a adição de metanol.

5.5.2.2 Adição de Etanol.

Os dados apresentados na Figura 5.20a mostram que a adição de etanol ao sistema resultou em um aumento do rendimento da extração de cafeína de 10% para aproximadamente 45%. Os dados de extração apresentados na Figura 5.20b mostram que os rendimentos de extração dos ácidos clorogênicos obtidos aumentaram de 0,42% para aproximadamente 40%. Analisando o formato das curvas de extração dos ácidos clorogênicos e da cafeína após o início da segunda etapa do processo, verifica-se um comportamento linear. Isso indica que a curva de extração foi interrompida ainda no período controlado pela resistência termodinâmica, indicando que maiores rendimentos podem vir a ser obtidos se a extração fosse continuada por mais tempo. Entretanto, a razão de extração seria mais lenta que a observada para os sistemas nos quais metanol foi utilizado como co-solvente.

5.5.2.3 Adição de Isopropanol

Os dados apresentados nas Figuras 5.21a mostram que, entre os três álcoois utilizados como co-solventes na segunda etapa do processo de extração, o isopropanol foi o menos eficiente. O rendimento da extração de cafeína aumentou apenas de 10% para aproximadamente 20% (Figura 5.21 a). Sobre a extração dos ácidos clorogênicos, Clifford (1985) relata que o isopropanol líquido é um excelente solvente para a extração destes compostos. Entretanto, para os sistemas nos quais o isopropanol foi utilizado como co-solvente os rendimentos de extração aumentaram apenas de 0,42 para 5,5% (Figura 5.21 b).

5.5.3 Efeito das Variáveis de Processo

Os dados apresentados nas Figuras 5.19a,b a 5.21a,b mostram que o efeito das variáveis de processo na razão de extração e no rendimento do processo dependem do sistema estudado.

Para o sistema nos quais o isopropanol foi utilizado como co-solvente, a razão de extração (calculada através do período linear da curva de extração) aumenta com a pressão e o mesmo ocorre com o rendimento do processo, tanto para a cafeína como para os ácidos clorogênicos.

O efeito da pressão é associado ao aumento da densidade do solvente. Entretanto, nestes ensaios, o efeito da pressão na concentração de co-solvente também deve ser considerado. O solvente alimentado ao vaso de extração é previamente preparado no vaso de saturação. A concentração de saída deste vaso vai depender da solubilidade do co-solvente no CO₂ supercrítico e é esperado (devido à maior densidade do CO₂) que esta seja maior a 35,2 MPa do que a 31,7 MPa, nas duas temperaturas investigadas. Portanto, uma maior quantidade de moléculas de co-solvente é alimentada ao extrator em relação a uma mesma massa de CO₂.

Em relação à concentração de cada um dos co-solventes, os dados de temperatura de ebulição mostram que o metanol ($T_b = 64,5 \text{ }^\circ\text{C}$) é mais volátil que o etanol ($T_b = 78,3 \text{ }^\circ\text{C}$) e o isopropanol ($T_b = 82,2 \text{ }^\circ\text{C}$) (Reichardt, 1990). Por isso em uma mesma condição de pressão e temperatura, a concentração deste álcool será maior na fase supercrítica do que as concentrações de etanol e isopropanol.

Os resultados mostram que, para a cafeína, o sistema encontra-se na região do retrógrado e, para os ácidos clorogênicos, aparentemente a pressão de cruzamento ocorre a 31,7 MPa. Dados da literatura mostram que a pressão de cruzamento das isotermas de solubilidade ocorrem em valores mais altos à medida que os valores das constantes críticas dos solvente aumentam (Ting et al, 1993a).

Para o sistema nos quais o etanol foi o co-solvente empregado, os mesmos efeitos da pressão e temperatura sobre as razões de extração e rendimentos de processo foram observados, tanto para a cafeína quanto para os ácidos clorogênicos, nos sistemas envolvendo o uso de isopropanol.

Para os sistemas nos quais o metanol foi utilizado como co-solvente, os dados mostram que o aumento da temperatura aumentou a razão de extração e o rendimento de processo nas duas pressões investigadas. Entretanto, o efeito da pressão foi diferenciado, apresentando valores um pouco maiores de rendimento e razões de extração a 31,7 MPa. Os dados de massa total dos extratos secos, obtidos por gravimetria, também mostram que o rendimento global do processo (massa total extraída) foi maior a 31,7 MPa.

Berna et al. (2001b) observaram este comportamento na determinação da solubilidade da catequina utilizando etanol como co-solvente. A solubilidade da catequina aumenta com o aumento da concentração de co-solvente até a concentração de 7,5%, e a partir desta concentração os valores de solubilidade diminuem para aumentos adicionais de concentração. Este fato foi relacionado pelos autores com o aumento do grau de auto-associação entre as moléculas do co-solvente com o aumento da concentração, uma vez que a força de interação entre a molécula do solvente com a molécula do oligômero do co-solvente é menor que a força de interação com o monômero. A medida que a pressão e

concentração de co-solvente aumentam a auto-associação entre as moléculas do co-solvente cresce, pois a baixas pressões e concentrações de co-solvente, estas encontram-se dispersas na fase leve e, a medida que a concentração do co-solvente aumenta, as moléculas do co-solvente encontram-se mais próximas permitindo uma maior interação. Se comparadas as interações entre as moléculas do CO₂ com o etanol, com as interações entre duas moléculas de etanol, verifica-se que as primeiras são interações físicas, mais fracas que as pontes de hidrogênio que podem se formar entre as moléculas do álcool.

Comportamento similar com a pressão foi previamente relatado por Canela et al. (2002) no estudo da extração de ácidos graxos e carotenóides de *Spirullina máxima* utilizando CO₂ supercrítico como solvente. Estes autores verificaram que o rendimento global do processo diminuiu com o aumento da pressão de 15 para 18 MPa nas temperaturas de 30 e 50°C. Os autores associaram este resultado ao efeito combinado da pressão e temperatura sobre o comportamento de solubilidade.

5.5.4 Efeito da polaridade do solvente.

Na segunda etapa do processo de extração seqüenciada são evidentes os aumentos dos rendimentos de processo com a adição dos co-solventes ao CO₂. Nas Figuras 5.22 e 5.23, os rendimentos de extração obtidos para a cafeína e ácidos clorogênicos mostram que o metanol foi o co-solvente mais eficiente, seguido pelo etanol e por fim o isopropanol. Estes resultados podem ser interpretados com base na polaridade da mistura CO₂/co-solvente, que vai depender da concentração do co-solvente e das características físico-químicas dos compostos.

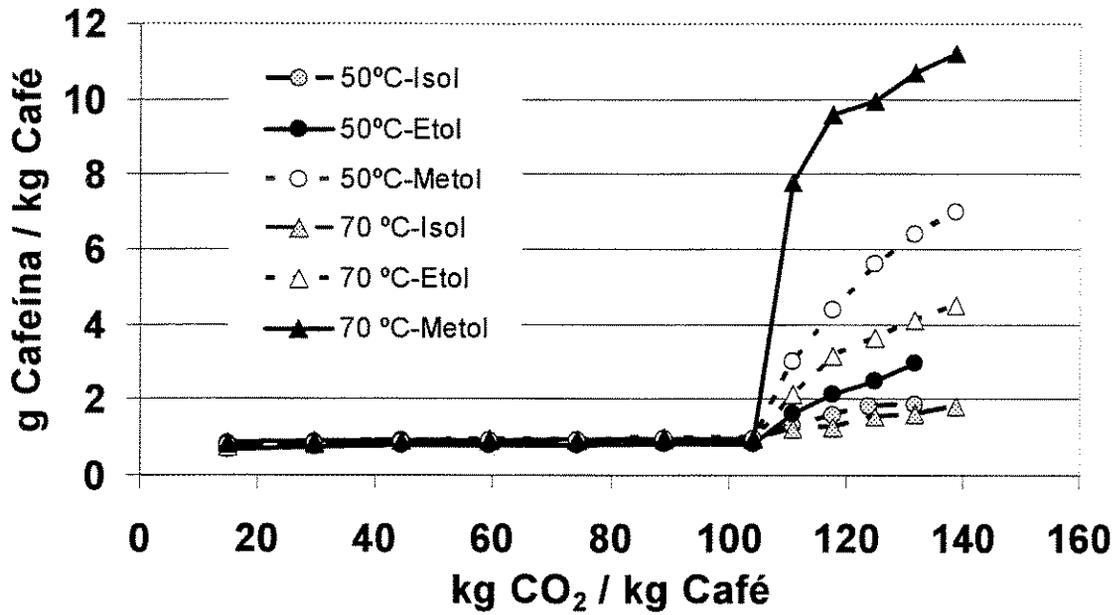


Figura 5.22a. Curvas de extração sequenciada da cafeína obtidas a 35,2 MPa para os diferentes co-solventes.

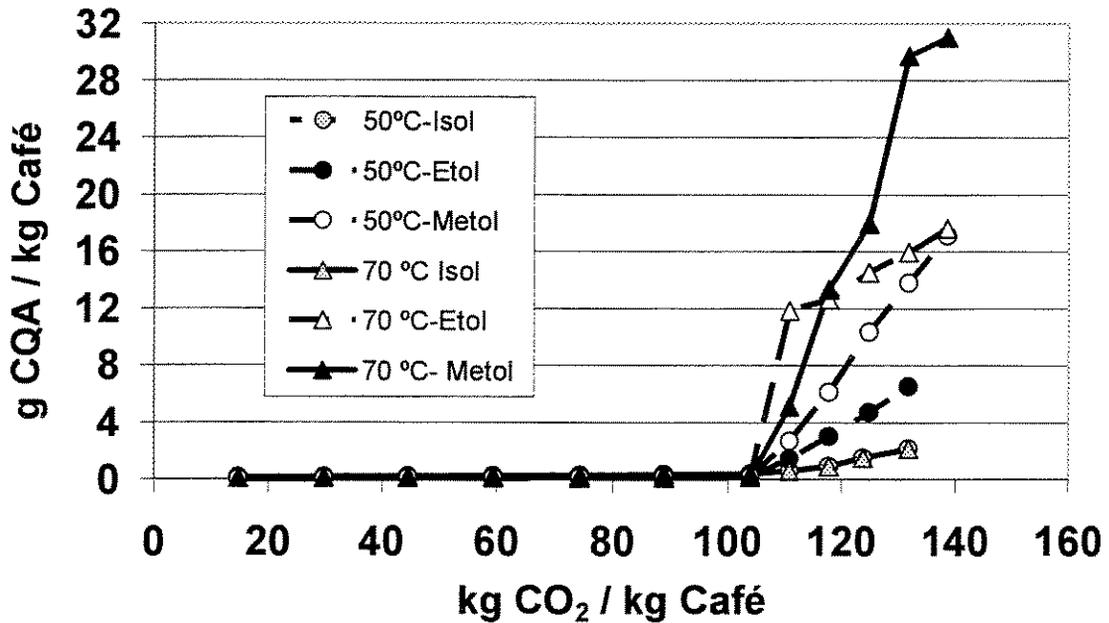


Figura 5.22b. Curvas de extração sequenciada dos ácidos clorogênicos obtidas a 35,2 MPa para os diferentes co-solventes.

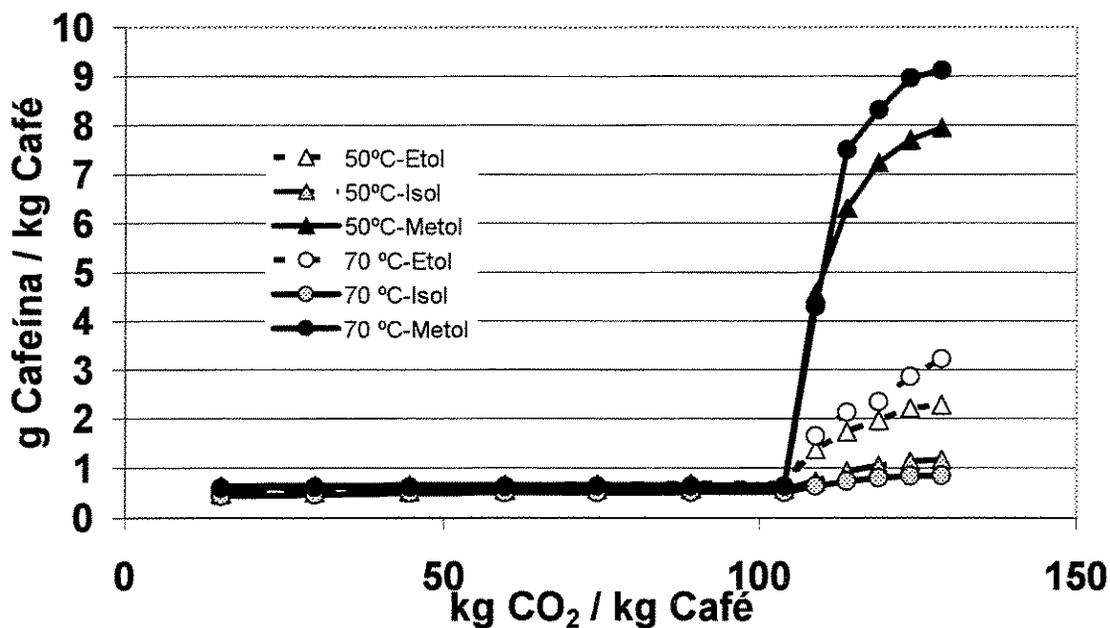


Figura 5.23a. Curvas de extração sequenciada da cafeína obtidas a 31,7 MPa para os diferentes co-solventes.

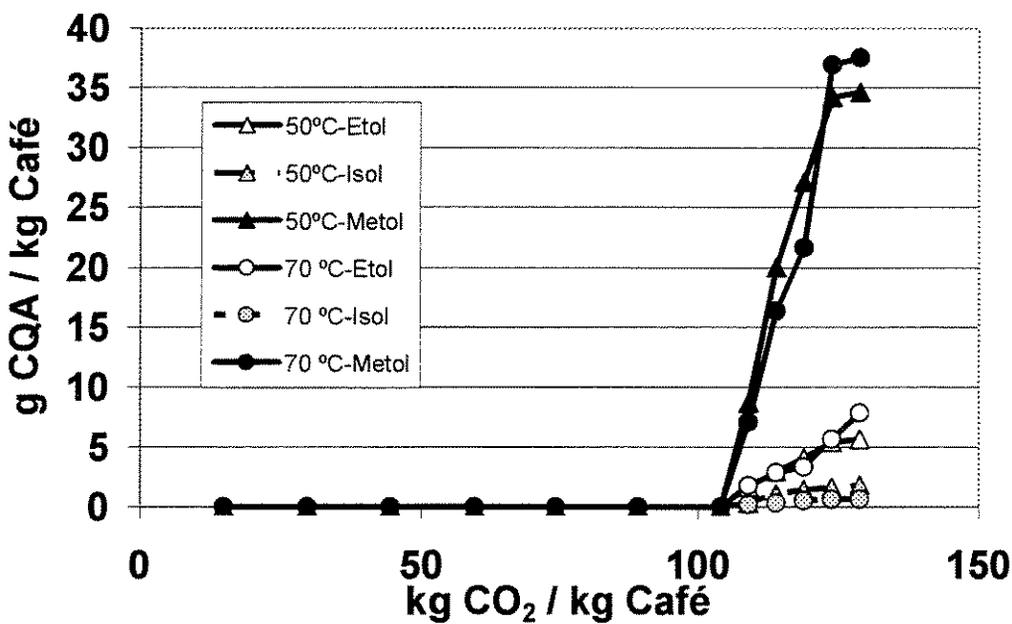


Figura 5.23b. Curvas de extração sequenciada dos ácidos clorogênicos obtidas a 31,7 MPa para os diferentes co-solventes.

Dados disponíveis na literatura sobre a constante dielétrica destes compostos no estado líquido, publicados por Reichardt (1990), definem a seguinte ordem de polaridade: metanol ($\epsilon=32,66$) > etanol ($\epsilon=25,55$) > isopropanol($\epsilon=19,92$). Em sistemas contendo CO₂ supercrítico, a constante dielétrica da mistura aumenta com o aumento da concentração de co-solvente, conforme mostram os resultados apresentados por Brunner (1994) para a mistura CO₂ supercrítico – metanol. Os dados mostram que a constante dielétrica da mistura aumenta com o aumento da concentração de co-solvente e que para concentrações de metanol acima de 20% um crescimento abrupto da constante dielétrica da mistura é observado. Portanto, é razoável esperar o mesmo comportamento para os sistemas nos quais o etanol e o isopropanol foram utilizados como co-solventes.

Em relação às características dos grupamentos presentes nas moléculas de cafeína e ácidos clorogênicos, sabe-se que estes são compostos polares. Essa suposição pode ainda ser verificada com base no comportamento de solubilidade dos compostos que são altamente solúveis em água e alcoois (solventes polares) e imiscíveis em hexano e benzeno (solventes apolares) (Clifford, 1985; Kopcak, 2003).

A adição de um co-solvente polar ao sistema modifica as forças intermoleculares entre os compostos presentes. O co-solvente aumenta o valor das forças de indução, gera o aparecimento de forças eletrostáticas como as forças dipolo-dipolo, e a depender das características das moléculas do co-solvente e do soluto, pode levar à formação de interações específicas, como pontes de hidrogênio (Bulcarevich et al., 2002, Ke et al., 1997). Estas características foram relatadas por Sahle-Demessie et al. (2003) para os sistemas formados por biocidas e CO₂ adicionado de metanol ou acetona como co-solventes. Estes autores observaram um maior efeito de co-solvente para os sistemas nos quais a acetona foi utilizada devido à sua maior polaridade.

Portanto, as maiores razões de extração e rendimentos de processo foram obtidos para os sistemas nos quais o solvente utilizado foi o CO₂ saturado com metanol, seguido do sistema CO₂/ etanol e por fim o sistema CO₂/isopropanol. Esses resultados se devem à maior polaridade do solvente. Entretanto, a maior

polaridade, se reflete negativamente na seletividade do processo, conforme será discutido na seção 5.5.4.1

Estes resultados vêm comprovar a hipótese de que a baixa concentração de co-solvente utilizada nos ensaios experimentais realizados na Seção 5.4 tenha sido a responsável pelos baixos rendimentos de extração verificados. Estes dados também estão de acordo com os de Kopcak et al. (2004) sobre a extração de cafeína das sementes de guaraná utilizando CO₂ adicionado de etanol como co-solvente nos percentuais de 5 e 10%.

5.5.4.1. Efeito do co-solvente na seletividade

Para estudar o efeito da polaridade do co-solvente na seletividade, foram realizadas análises para determinação do percentual de açúcares solúveis totais nos extratos obtidos. De acordo com Taylor (1996), açúcares são compostos altamente polares e insolúveis em CO₂ supercrítico. As Figuras 5.24 a e b mostram as quantidades de açúcares solúveis nos extratos, adotando como padrão de referência a sacarose. Vale ressaltar que os valores apresentados nas figuras são relativos ao padrão, ou seja, mudando o padrão utilizado na construção da curva de calibração, mudam as quantidades relativas de açúcares nos extratos.

Analisando os dados apresentados na Figura 5.24, verifica-se que as maiores quantidades relativas de açúcares foram observadas nos ensaios utilizando metanol. Este é o solvente menos seletivo e, no entanto, foi o que apresentou melhores rendimentos para os compostos de interesse.

O mesmo comportamento observado para os açúcares solúveis totais foi observado na determinação de fenóis totais, utilizando fenol como padrão, conforme mostram os dados apresentados nas Figuras 5.25 a e b.

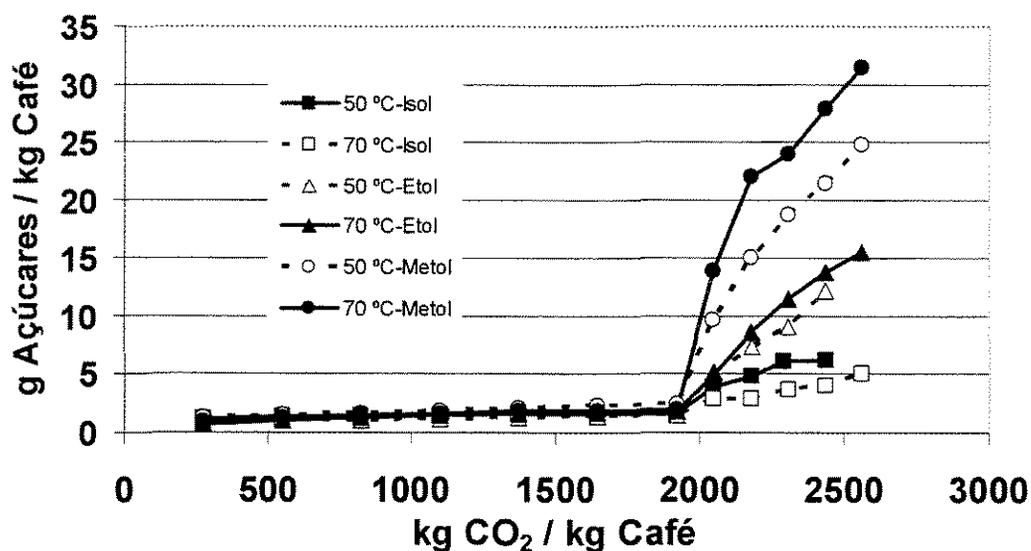


Figura 5.24a Curvas de extração dos açúcares solúveis totais presentes nos extratos, tomando como padrão a sacarose, para diferentes co-solventes a 35,2 MPa.

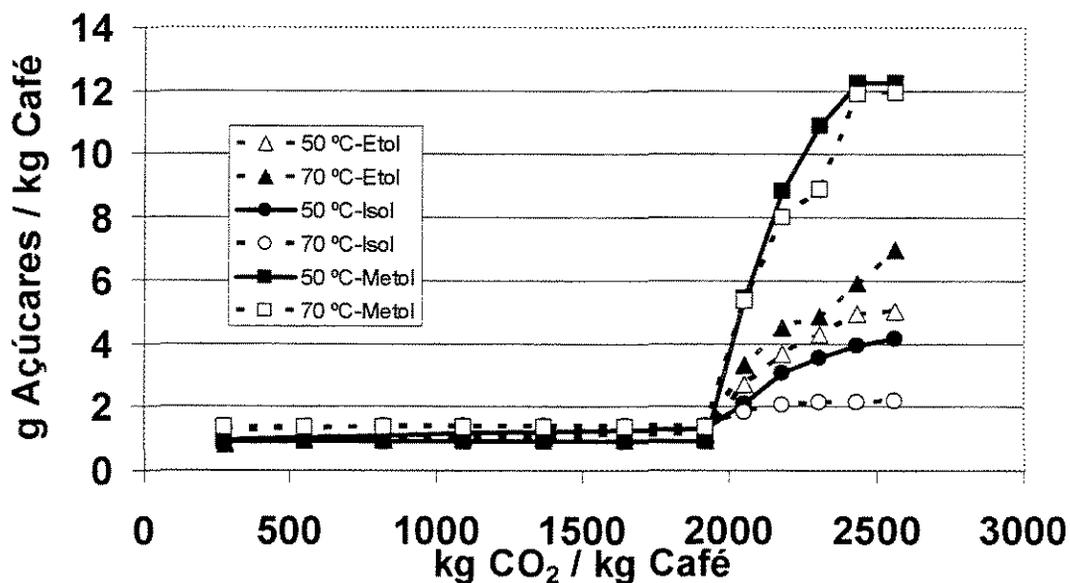


Figura 5.24b Curvas de extração dos açúcares solúveis totais presentes nos extratos, tomando como padrão a sacarose, para diferentes co-solventes a 31,7 MPa.

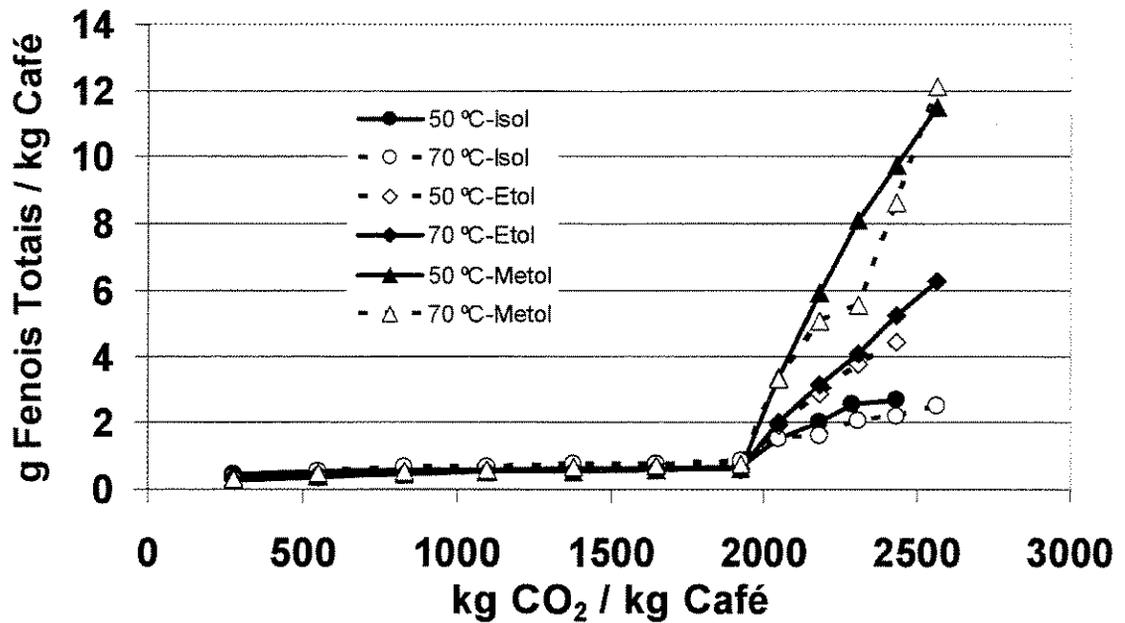


Figura 5.25a Curvas de extração dos fenóis totais presentes nos extratos para os diferentes co-solventes, tomando como padrão fenol a 35,2 MPa.

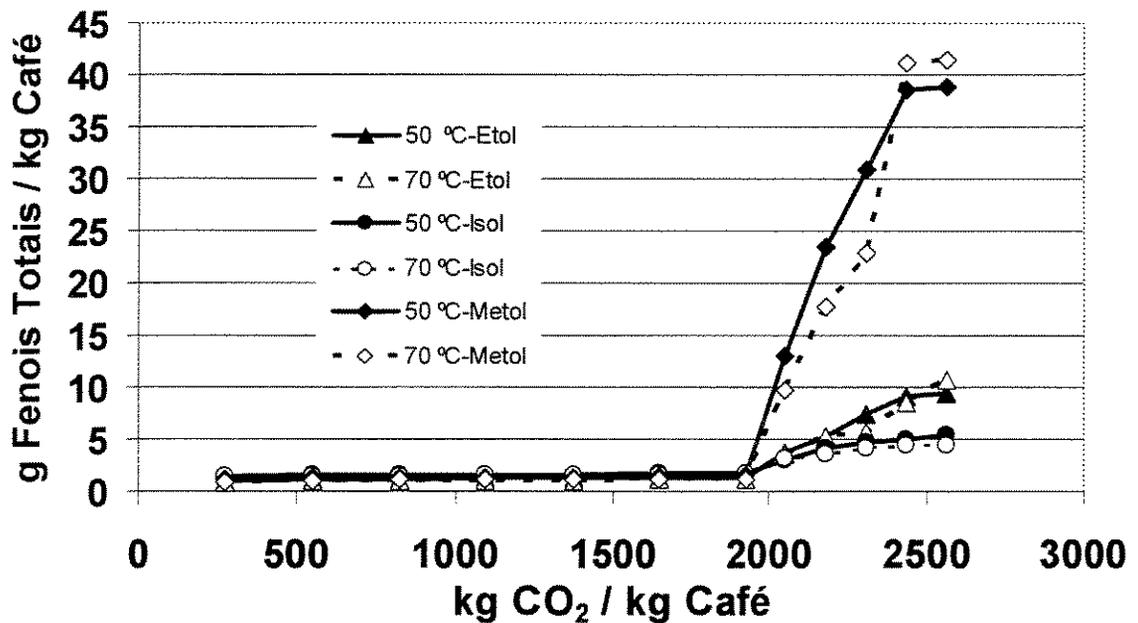


Figura 5.25b Curvas de extração dos fenóis totais presentes nos extratos para os diferentes co-solventes, tomando como padrão fenol a 31,7 MPa.

5.6 Projeto e construção do protótipo de um sistema modular de extração supercrítica

Os bons resultados obtidos nos ensaios sequenciais de extração e purificação dos princípios ativos contidos nos grãos de café verde estimularam o interesse no desenvolvimento de um equipamento mais versátil, para ser utilizado em processamentos mais complexos usando fluidos supercríticos.

O projeto e construção do protótipo da Unidade Modular para Realização de Processos a Alta Pressão foi realizado com apoio FAPESP (2002) no âmbito do projeto de pesquisa 02/07753-0. O equipamento foi concebido e projetado conjuntamente com o Prof. Rahoma Sadeg Mohamed, que até 14/04/2004 foi orientador desta tese de doutorado. A construção e conhecimentos de mecânica contaram com a colaboração de Maurício Perrisnot, diretor da Autic Automação e Instrumentação Industrial Ltda, Campinas, SP, que foi a empresa executora da construção. O equipamento foi entregue em setembro de 2004 e, após períodos de testes e correção de pequenas falhas, tornou-se operacional em fevereiro de 2005. A descrição e fotografias do equipamento encontram-se no relatório técnico de solicitação de patente encaminhado ao INOVA da Unicamp, para posterior submissão ao INPI.

5.6.1. Introdução:

O sistema desenvolvido tem por objetivo operacionalizar um equipamento modular multipropósito para a realização e desenvolvimento de processos a alta pressão, para ser utilizado em universidades, laboratórios, centros de pesquisa e, a depender do produto ou processo, como unidade industrial.

A concepção modular do equipamento permite ao pesquisador contar com uma grande versatilidade e eficiência por parte do sistema e realizar as transformações no arranjo e características do processo, de acordo com a sua

Capítulo V: Resultados e discussões

necessidade, apenas invertendo a ordem dos módulos, realizando arranjos em série ou em paralelo e ainda isolando os módulos do processo quando a sua utilização não for necessária. A incorporação dos módulos ao processo é realizada através de duas conexões e uma entrada de força. Outra característica associada à concepção modular do equipamento é a redução da quantidade de válvulas, conexões e linhas de processo. Dessa forma, o volume morto e possíveis pontos de vazamento são reduzidos. A redução do volume morto do equipamento é uma qualidade importante, pois evita que material fique impregnado nas tubulações e resulta em resultados mais fidedignos.

No caso da necessidade de se acoplar uma operação unitária que não esteja prevista nos módulos básicos que compõem o equipamento, basta que um novo módulo seja fabricado e acoplado da mesma forma ao sistema. Este equipamento permite ainda a integração de sistemas de análise (ex: sistemas de cromatografia em fase líquida e gasosa) e automação das válvulas (ex: sistemas de sensores e válvulas auto-acionadas) por controle via CLP (controlador lógico programável) e IHM (Interface humano máquina) com motor de passo.

Os equipamentos disponíveis no mercado apresentam um arranjo das operações unitárias pré-definido. Os fabricantes (não há fabricantes nacionais para este tipo de equipamento) fornecem equipamentos completos ou apenas os componentes para serem acoplados às unidades. A incorporação de outra operação unitária ao processo, mudança de arranjo ou sentido de fluxo faz com que alterações na parte estrutural, parte elétrica e instrumental do equipamento sejam necessárias. Em muitos casos, uma nova carcaça e um novo quadro elétrico são necessários para incorporar as mudanças. Esses arranjos ou adequações demandam tempo e são onerosos. As unidades mais versáteis apresentam muitas tubulações e válvulas a fim de permitir diferentes arranjos das operações unitárias disponíveis. Este fato gera dois inconvenientes principais: 1- Difícil acesso a determinadas partes do equipamento, tornando a manutenção complicada e trabalhosa. 2- Uma excessiva quantidade de linhas de processo que contribuem para aumentar o volume morto do equipamento e a possibilidade de vazamentos.

Neste caso, a concepção modular evita estes inconvenientes e ainda permite incorporar os módulos a equipamentos de outros fabricantes, apenas necessitando alterar duas conexões de processo e uma entrada de força para o módulo. Cada módulo já conta com a instrumentação necessária para o controle das variáveis de processo.

5.6.2 Descrição do Sistema:

O equipamento foi projetado para o desenvolvimento de processos a alta pressão (até 600 bar). Exemplos de processos que podem ser realizados incluem extração, precipitação e formação de partículas, processos de separação (adsorção, absorção, destilação), etc. Uma fotografia do equipamento completo é apresentada na Figura 5.6.1.

Devido à grande variabilidade dos processos que envolvem fluidos supercríticos (para os quais o equipamento foi idealizado) a unidade foi construída em 5 módulos, que são descritos detalhadamente seguir.

Módulo 1- Módulo de Alimentação de Solvente e Co-solvente. No módulo de alimentação está localizado o quadro geral de força do equipamento. Este módulo é constituído por uma bancada em dois níveis. No nível inferior está localizado o sistema de alimentação de solvente e co-solvente do processo. Este sistema é constituído por: 1- Linha de sucção da bomba de solvente constituída por: a)-tubulação de 1/4 pol, b)-válvula de retenção, c)- filtro de linha, d)- trocador de calor do tipo tubo, e) redução de 1/4 para 1/8 pol. f) tubulação de 1/8 pol até o cabeçote de bombeamento da bomba de solvente. 2- Bombas para HPLC marca Gilson modelos 305 (solvente) e 306 co-solvente (a linha de sucção da bomba de co-solvente é constituída por uma mangueira plástica com um filtro de aço sinterizado na extremidade) 3- Um módulo manométrico marca Gilson modelo 805 para controle da pressão na descarga das bombas. 4-Tubulações de descarga das bombas de 1/16 pol. 5- Expansões de 1/16 para 1/4 pol. 6- Misturador estático, 7-Transdutor de pressão e display digital para indicação de pressão. 8-

Capítulo V: Resultados e discussões

Sistema de pré-aquecimento de solvente localizado à jusante do misturador estático, constituído por a) uma fita de aquecimento, b) um controlador PID. c) Banho termostático para sistema de refrigeração da linha de solvente e cabeçote da bomba de solvente. No nível superior estão localizadas as válvulas que permitem a alimentação dos solventes ao processo. Esta alimentação pode ser realizada no sentido de fluxo do equipamento ou em sentido contrário. A bancada superior constitui o apoio para os demais módulos, como pode ser observado a fotografia.

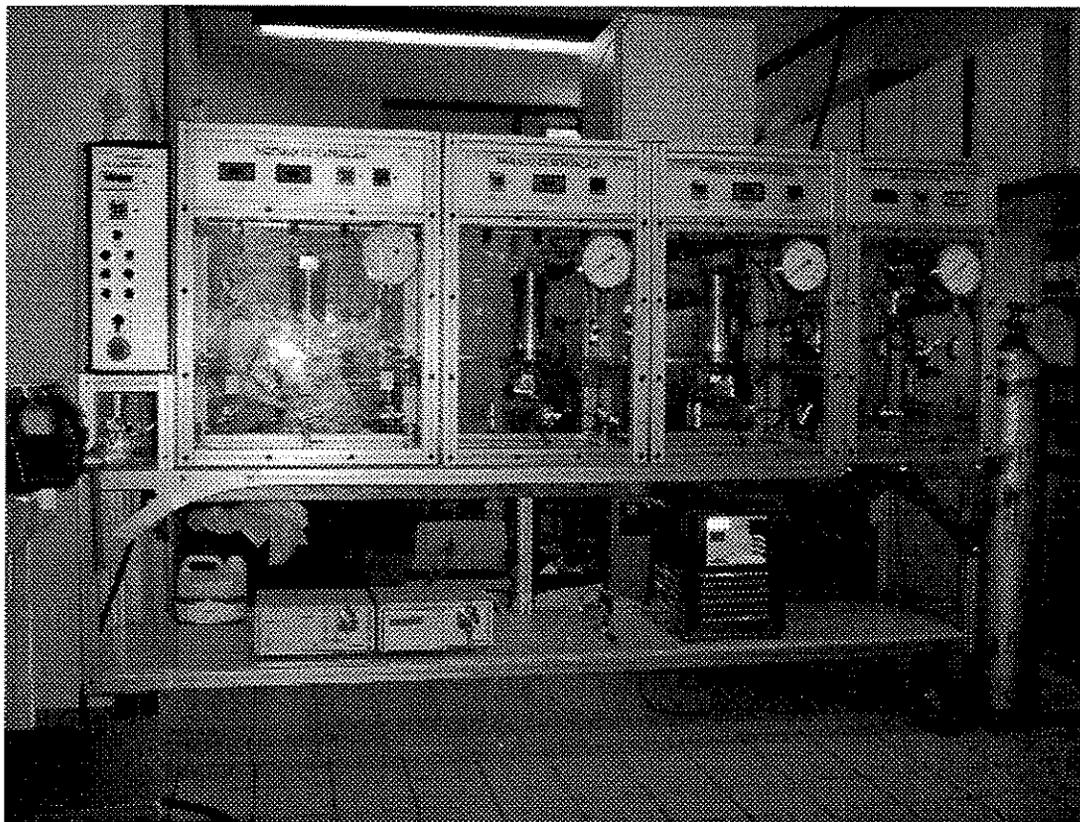


Figura 5.6.1 Equipamento completo

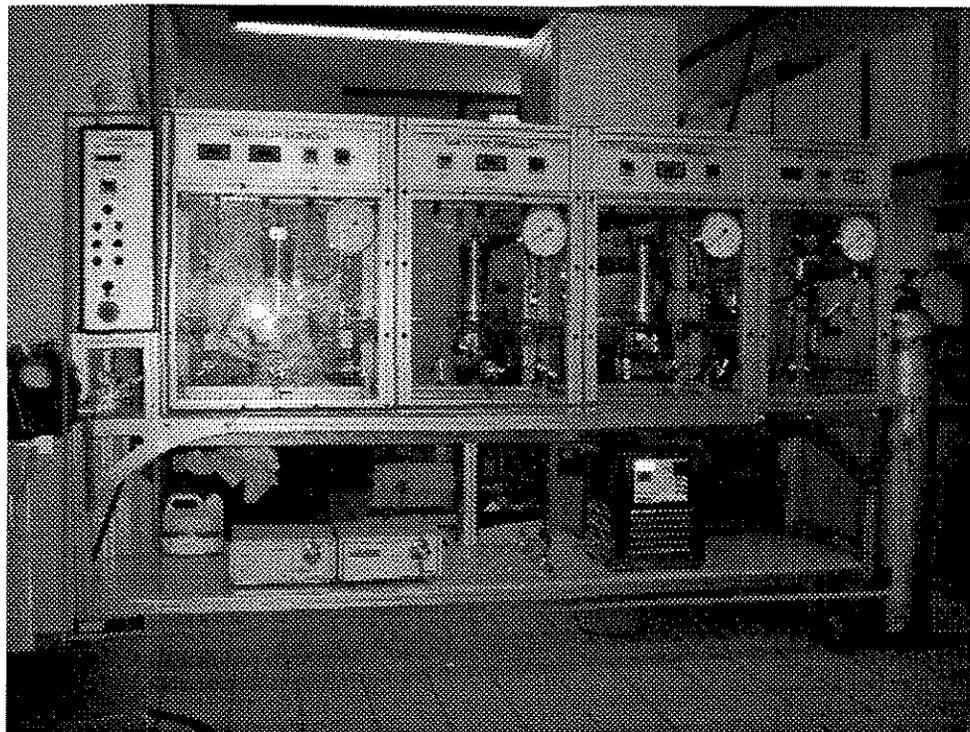


Figura 5.6.2 Módulo de alimentação. Obs. O módulo de alimentação está marcado pelo contorno vermelho.

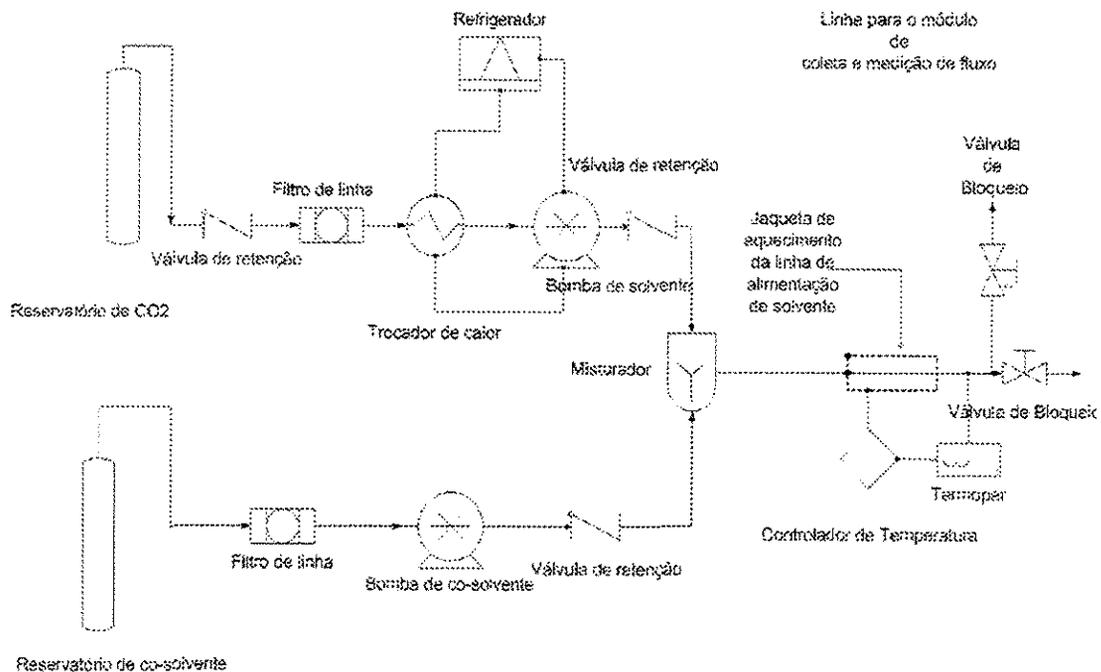


Figura 5.6 3 Diagrama de Processo do Módulo de Alimentação.

Módulo 2- Extração. É constituído por: 1- Válvulas de bloqueio, 2-uma coluna de 500 mL, 3-uma válvula reguladora de fluxo, 4- um manômetro, 5- um controlador de temperatura PID para a camisa de aquecimento da coluna, 6- um controlador P para a camisa de aquecimento da válvula. 7- Indicadores de temperatura.

Este módulo foi projetado para apresentar uma maior versatilidade. O solvente pode ser alimentado à coluna de 3 formas diferentes: 1- Alimentado pelo fundo da coluna misturado com o co-solvente, 2- Alimentado pelo topo da coluna misturado com o co-solvente, 3- Alimentado pelo topo separado do co-solvente. A coluna deste módulo possui um conjunto de tampas e bocais que permite a realização de processos concorrentes e contracorrente e uma válvula de amostragem no fundo. Este módulo foi projetado para servir a diferentes propósitos, como processos de extração, absorção, adsorção formação de partículas por processos RESS, GAS, SEEDS, através de mudanças de configuração nas tampas.

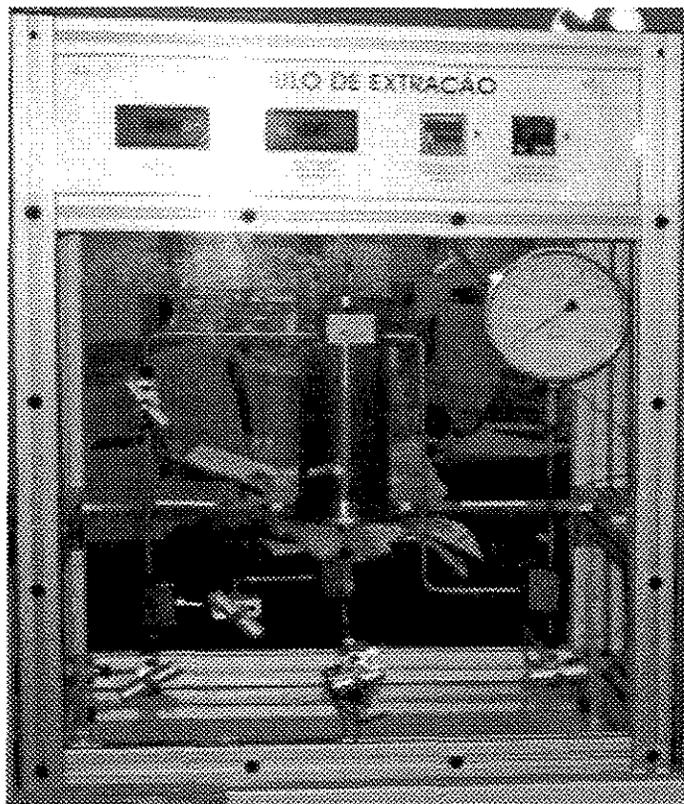


Figura 5.6.4 Módulo de extração.

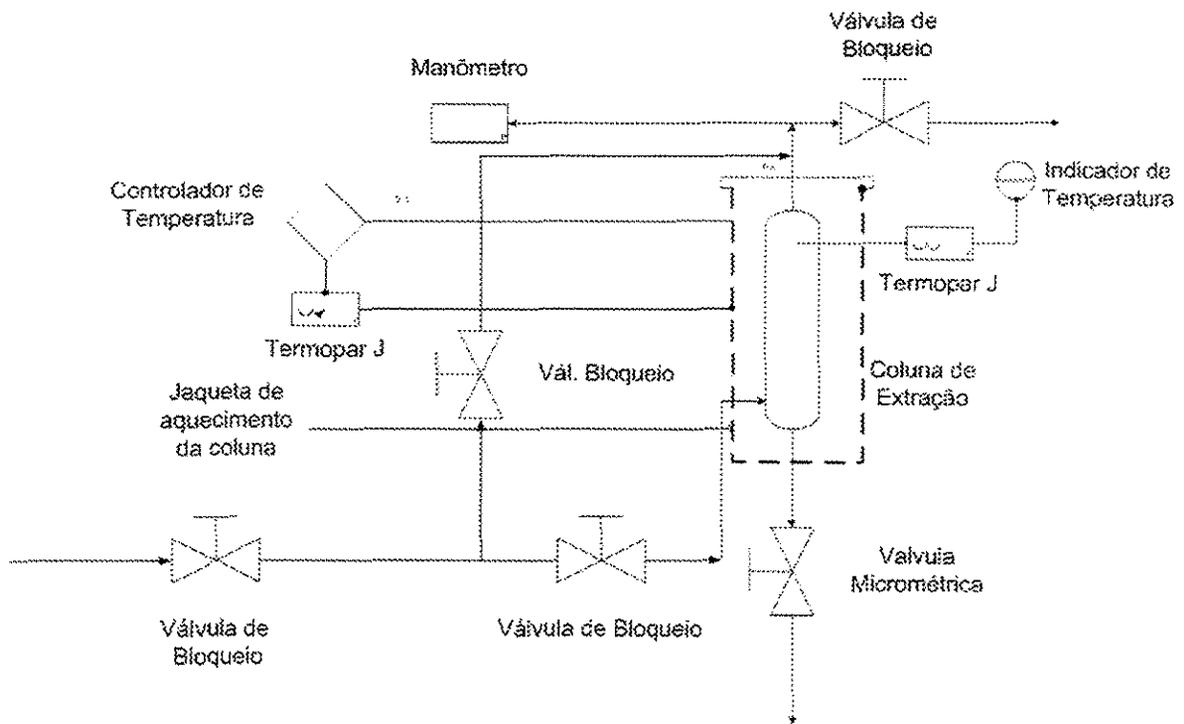


Figura 5.6.5- Diagrama de Processo do Módulo de Extração

Módulo 3- Módulo de Separação. Este módulo é constituído por 1- Válvulas de bloqueio, 2-uma coluna de 300 mL. 3-duas válvulas reguladoras de fluxo, 4- um manômetro, 5- um controlador de temperatura PID para a camisa de aquecimento da coluna, 6- um controlador P para a camisa de aquecimento da válvula. 7- Indicadores de temperatura.

Este módulo conta com uma coluna de 300 mL e um conjunto de instrumentos que permitem a monitoração e controle de pressão e temperatura. Através de um sistema de válvulas reguladoras de vazão, é possível realizar processos nos quais a coluna deste módulo opere a uma pressão inferior à pressão do módulo de extração. Devido à versatilidade do sistema, este módulo pode ser utilizado como módulo de separação por adsorção, adsorção, por exploração de condensação retrógrada e extração.

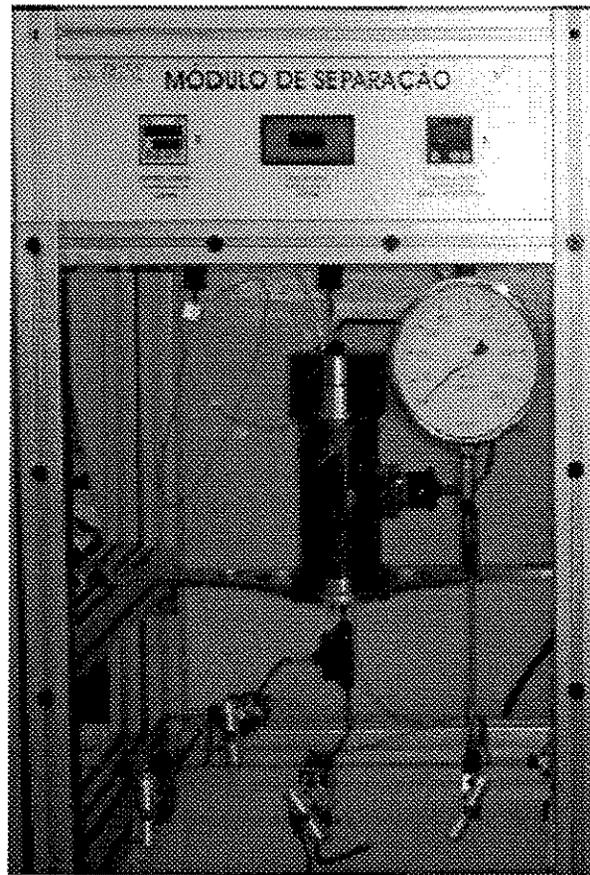


Figura 5.6.6 – Módulo de separação.

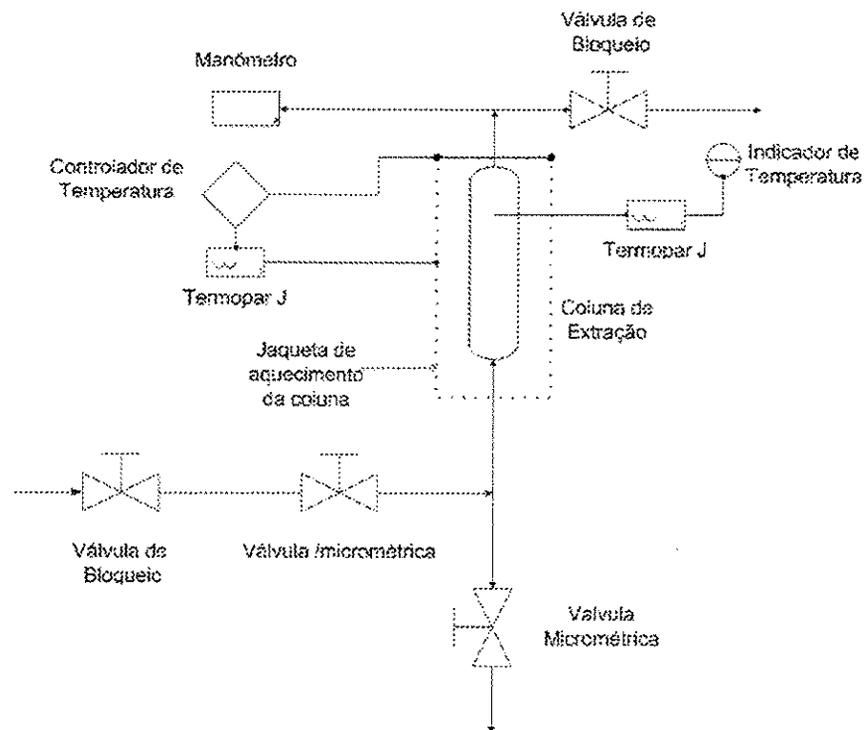


Figura 5.6.7- Diagrama de processo do módulo de separação.

Módulo 4- Módulo de separação, que apresenta a mesma concepção e montagem do Módulo 3.

Módulo 5- Medição e coleta. Este módulo é constituído por: 1- Válvulas de bloqueio, 2- Uma válvula reguladora de fluxo, 3- um manômetro, 4- dois filtros de linha, 5- um medidor totalizador de vazão tipo mássico (Dwyer). 5- Um controlador de temperatura PID, 6- Uma camisa de aquecimento para a válvula reguladora de fluxo. 7- Frascos separadores (kitassatos, tubos em U, etc.).

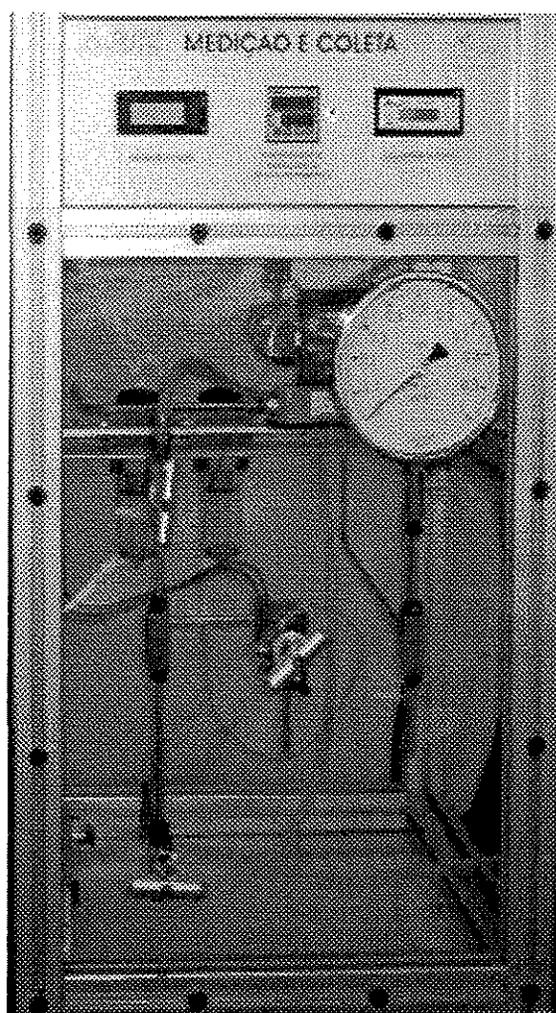


Figura 5.6.8 – Módulo de medição e coleta

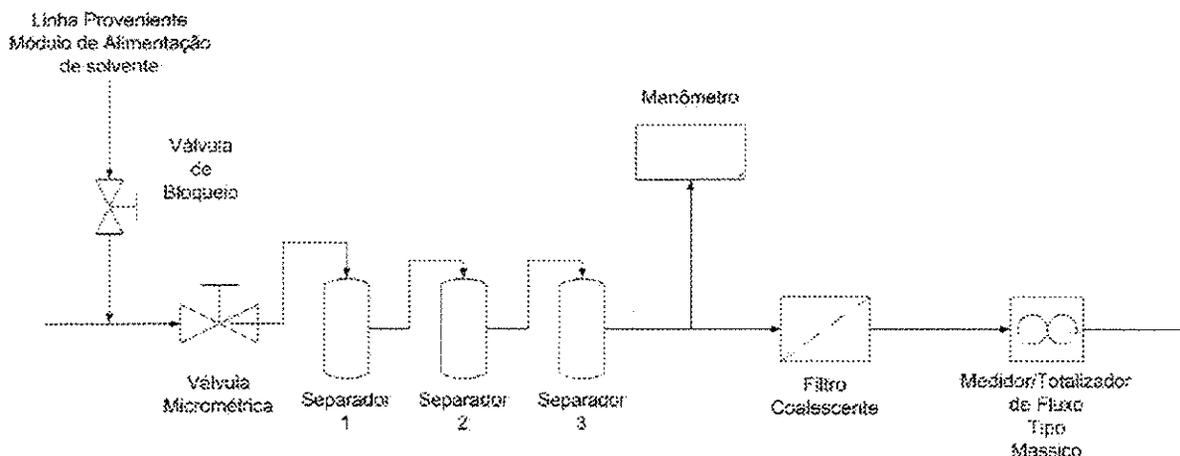


Figura 5.6.9- Diagrama de processo do módulo de medição e coleta

A função deste módulo é reduzir a pressão da corrente de saída de um dos módulos acima descritos e localizados a montante deste. Após a redução da pressão na válvula reguladora de fluxo, o gás expandido passa pelos frascos separadores e segue para o medidor totalizador de vazão. Neste instrumento é medida a vazão do solvente após a expansão e quantificada a massa de solvente que passou pelo sistema.

5.6.3. Funcionamento do sistema.

O equipamento pode operar de diversas maneiras devido a sua grande versatilidade. Aqui é descrita a operação do sistema para realizar uma extração seguida de etapas de separação pelo método dinâmico.

1- Conexão dos módulos: antes de iniciar o experimento, os módulos devem ser conectados através das conexões de ligação de acordo com o arranjo de processo pretendido pelo usuário.

2-Refrigeração da cabeça das bombas: para um funcionamento eficiente das bombas, o cabeçote das mesmas deve estar refrigerado a -2°C . O sistema de refrigeração do solvente e do cabeçote das bombas deve ser ligado antes do início do processo, para que a temperatura de operação do sistema seja alcançada.

3- Alimentação das colunas: antes do início do processo as colunas devem ser alimentadas. A amostra e o material adsorvente ou absorvente devem ser empacotados na coluna. Os parafusos de fixação das tampas devem ser bem apertados com a finalidade de evitar vazamentos.

4- Pressurização inicial do sistema: o solvente e o co-solvente devem ser alimentados lentamente ao sistema, a fim de evitar que o material empacotado dentro das colunas sofra alteração de arranjo. Nesta etapa, as válvulas dos módulos que fazem parte do processo são abertas lentamente até que a pressão do sistema se iguale à pressão do cilindro.

5- Temperatura de operação: a temperatura de operação do sistema, determinada pelo usuário, deve ser marcada como *setpoint* do controlador de temperatura da camisa da coluna. O controlador é ligado e o sistema é deixado em estado de espera até que a temperatura de operação seja alcançada. Este procedimento deve ser realizado em cada módulo que estiver em uso. O sistema de pré-aquecimento do conjunto deve ser ligado. A temperatura de operação do processo deve ser marcada no *setpoint* do controlador. Nesta etapa, a pressão dentro do sistema será elevada, devido ao aumento de temperatura do fluido.

6- Pressurização do sistema-Pressão de operação: após o sistema atingir a temperatura de operação, as bombas devem ser ligadas. Quando se estiver trabalhando com CO_2 puro, a bomba de co-solvente é mantida desligada. A válvula de bloqueio do módulo de alimentação só deve ser aberta quando a pressão indicada no *display* do manômetro for superior à pressão indicada nos manômetros dos outros módulos.

7- Estado de equilíbrio: quando o sistema atingir a pressão de operação as válvulas devem ser fechadas e as bombas desligadas. O sistema é deixado em repouso para que entre em equilíbrio.

8- Partida do sistema: após o amortecimento de possíveis flutuações na pressão e temperatura, as bombas devem ser novamente ligadas e as válvulas que fazem parte do processo devem ser abertas. A válvula reguladora de fluxo do módulo de medição e coleta, previamente aquecida pelo sistema de aquecimento, deve ser lentamente aberta até que a vazão de processo previamente definida pelo usuário se estabeleça.

9- Realização do experimento: o sistema deve ser constantemente monitorado para que o usuário possa intervir corretivamente nos controles, para manter as condições operacionais estáveis. Após a passagem de uma massa de solvente determinada pelo usuário, o sistema deve ser paralisado. 1- Fecha-se a válvula reguladora de fluxo do módulo de medição e coleta. 2- Fecha-se a válvula de alimentação de solvente do módulo de alimentação e param-se as bombas. 3- Fecham-se as válvulas de entrada e saída de cada módulo. 4- O material extraído é coletado e os separadores substituídos. 5- O procedimento de partida é repetido até o final do experimento.

10- Despressurização e limpeza do sistema: após o final do experimento, o sistema deve ser despressurizado lentamente através da válvula reguladora de fluxo localizada no módulo de medição e coleta. Para limpar o sistema, as colunas devem ser abertas e o material empacotado retirado. Em seguida, as colunas devem ser limpas com etanol. Para limpar as tubulações, etanol deve ser bombeado através das tubulações até a limpeza completa do equipamento. Após este procedimento, o sistema deve ser seco pela passagem de CO₂ ou N₂.

Capítulo 6. Principais conclusões e recomendações

Neste capítulo são apresentadas as principais conclusões deste trabalho com base na análise dos resultados obtidos e as sugestões para trabalhos futuros.

6.1 Conclusões.

1-Os dados de solubilidade obtidos mostraram que o CO₂ supercrítico apresenta maior afinidade pelos lipídios presentes no óleo de café do que pela cafeína.

2- Entre as condições de processo estudadas os valores ótimos das condições de processo para a remoção da cafeína do óleo de café foram 15,2 MPa e 70°C, onde a cafeína inicialmente presente no óleo é recuperada enquanto que apenas 6% da massa do óleo foi extraída.

3-Os ensaios realizados utilizando CO₂ para refinar o óleo de café sem o acoplamento da coluna de adsorção mostraram um certo nível de seletividade e refino do óleo pelo CO₂ supercrítico, uma vez que a cafeína é removida nas primeiras frações e que compostos de alta viscosidade que, possivelmente são ceras (poli-álcoois), permanecem no fundo do vaso de extração após o termino da extração. O comportamento de extração do óleo com a variação da temperatura e da pressão observados foram os esperados. Aumento na pressão aumenta a razão de extração e aumento da temperatura inicialmente reduz a razão de extração devido a ocorrência do comportamento retrógrado.

4-O acoplamento de uma coluna de adsorção empacotada com sílica-gel ao processo de extração com CO₂ supercrítico mostrou-se muito eficiente, conforme mostra o cromatograma apresentado na Figuras 12c. A separação entre os

Capítulo VI: Conclusões e sugestões

componentes se dá por diferença de polaridade entre as espécies presentes no sistema. A recuperação do material adsorvido na coluna foi realizada por mudança de polaridade do solvente, obtida através da saturação do CO₂ com etanol, O processo de dessorção, avaliado através da recuperação da cafeína, se mostrou mais eficiente à medida que a pressão e a temperatura do sistema foram aumentadas.

5-Em relação à extração dos princípios ativos dos grãos de café, os ensaios realizados utilizando CO₂ puro e adicionado de etanol e isopropanol nos percentuais de 5% (m/m) mostraram que a polaridade do solvente exerce uma grande influência no rendimento do processo em relação à extração de cafeína e ácidos clorogênicos. Entretanto, a variação da polaridade do solvente com a adição dos co-solventes nesses percentuais não foi suficiente para a extrair a cafeína e os ácidos clorogênicos e, os rendimentos de processo para estes dois compostos não foram expressivos. Os três solventes utilizados nesta etapa do trabalho se mostraram eficientes para a extração do óleo de café com elevados rendimentos.

6-O efeito do tamanho de partícula também se mostrou significativo em relação à extração dos princípios ativos. Os rendimentos de processo aumentaram para todos os componentes nos ensaios realizados com partículas de 0,35 mm em comparação com os verificados nos ensaios em que partículas de 0,725 mm foram utilizadas.

7-O processo de extração seqüencial mostrou-se eficiente na recuperação e separação do óleo, cafeína e ácidos clorogênicos dos grãos de café. O óleo é preferencialmente extraído pelo CO₂ supercrítico devido a sua baixa polaridade. A separação da cafeína do óleo foi realizada através da adsorção em sílica gel e por lavagem do material dessorvido da coluna com etanol.

8- O efeito da polaridade do solvente no rendimento de extração da cafeína e dos ácidos clorogênicos na segunda etapa do processo de extração seqüencial mostrou-se muito significativo. O metanol foi o co-solvente mais eficiente em comparação com o etanol e o isopropanol. Entretanto, os maiores rendimentos de processo verificados para os ensaios realizados utilizando metanol também revelaram uma maior perda de seletividade, representada pelas quantidades de açúcares e fenóis totais presentes nos extratos. Os resultados preliminares mostraram que a recuperação dos ácidos clorogênicos pode ser realizada utilizando-se uma coluna empacotada com resina de troca iônica.

9-Os processos propostos e realizados neste trabalho mostraram a necessidade de se contar com uma planta de extração versátil, que permita ao pesquisador acoplar e retirar operações unitárias do processo de acordo com a necessidade. Os equipamentos montados de acordo com uma concepção modular fornecem ao pesquisador esta característica.

6.2 Recomendações para trabalhos futuros

1-Em continuidade ao estudo do fracionamento do óleo de café verde, recomenda-se realizar análises para a determinação da composição do material retido no fundo do extrator e no material dessorvido da coluna de adsorção a fim de verificar a possível presença de cafestol e caveol nestas frações. Identificada a presença destes compostos nos extratos, deve-se realizar estudo utilizando materiais adsorventes, para concentrá-los.

2-Dar continuidade aos ensaios de recuperação da cafeína do material dessorvido da coluna, explorando a partição deste composto na fase óleo e na fase álcool.

Capítulo VI: Conclusões e sugestões

3-Dar continuidade aos ensaios de extração seqüencial, explorando a técnica através de estudos com composição de co-solvente definidas.

4-Dar continuidade aos ensaios de purificação dos ácidos clorogênicos presentes nos extratos obtidos na segunda etapa da equação seqüencial, utilizando resinas de troca iônica.

5- Realizar modelagem cinética do processo de extração.

6- Estudar o processo em circuito fechado visando a otimização do processo.

7- Estudar de viabilidade técnica e econômica do processo de extração sequencial.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABAROUDI, K., TRABELSI, F., COLLOUD-GABRIEL, B., RECASENS, F., Mass transport enhancement in modified supercritical fluids. *Ind. Eng. Chem. Res.*, V 38, pp 3505-3518. 1999.

ABIC, Diretório virtual de informações sobre café em mercado. Disponível em www.abic.com.br. Acesso em 09/05/2001.

AFRANE, G., CHIMOWITZ, E. H., Adsorption in near critical binary solvents mixtures: thermodynamic analysis and data, *Fluid Phase Equilibria*. V 111, pp 213-238, 1995.

AFRANE, G., CHIMOWITZ, E. H., Experimental investigation of a new supercritical fluid-inorganic membrane separation process. *Journal of Membrane Science*, V 116, pp 293-299, 1996.

AUGUSTINE, R. L., Heterogeneous catalysis for the synthetic chemist, Chapter 9. Marcel Dekker Inc, USA 1996

AZEVEDO, A. B. A., Extração e fracionamento da gordura de cupuaçu das sementes com solventes supercríticos. Campinas: Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, 2001. Tese (Mestrado).

AZEVEDO, A. B. A., MOHAMED, R. S., Supercritical fluid extraction of cupuaçu fat from fermented seeds. Trabalho publicado nos anais do IV EBFS-2001, Salvador, Bahia, Brasil, (2001)

Referências Bibliográficas

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

AZEVEDO, A. B. A, MAZZAFERA, P., MOHAMED, R. S., Extraction and fractionation of green coffee oil using supercritical carbon dioxide, Trabalho publicado nos anais do V EBFS-2004, Florianópolis, Santa Catarina, Brasil., (2004)

BAI, S., CRAIG, M. V., LIU, F., MAYNE, C. L., PUGMIRE, R. J. E., GRANT, D. M., CO₂ clustering of 1-decanol and methanol in supercritical fluids by ¹³C nuclear spin-lattice relaxation. *J. Phys. Chem.*, V 101, pp 2923-2928, 1997.

BALBUENA, P. B., GUBBINS, K. E., Theoretical interpretation of adsorption behavior of simple fluids split pores. *Langmuir*, V 9, pp 1801-1814, 1993.

BELL, P. W., THOTE, A. J., PARK, Y., GUPTA, R. B. E., ROBERTS, C. B., Strong Lewis acid base interactions between supercritical carbon dioxide and carboxylic acids: effects on self-association. *Ind. Eng. Chem. Res.*, V 42, pp 6280-6289, 2003

BERNA, A., CHÁFER, A., MONTÓN, J. B., High-pressure solubility data of the system resveratrol (3) + ethanol (2) + CO₂ (1). *J. of Supercritical Fluids*, V 19, pp133-139, 2001a.

BERNA, A., CHÁFER, A., MONTÓN, J. B., SUBIRATS, S., High-pressure solubility data of the system etanol (1) plus catechin (2) + CO₂ (2). *J.of Supercritical Fluids*, V 20 (2) , pp 157-162, 2001b.

BETES-SAURA, C., ANDRES-LACUEVE, C., LAMUELARA-VENTOS, R. M., Phenolics in white free run juices and wines from penedés by high-performance liquid chromatography, changes during vinification. *J Agr. Food Chem.*, V 44 (10), pp 3040-3046, 1996

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

BOTHE, H. E CAMMENGA, H. K., Phase transition and thermodynamic properties of anhydrous caffeine. *Journal of Thermal Analysis*, V 16, pp267-275, 1979

BRENNECKE, J. F., TOMASKO, D. L., PESHKIN, J., ECKERT, C. A., Fluorescence spectroscopy studies of dilute supercritical solutions. *Ind. Eng. Chem. Res.*, V 29(8), pp1682-1690, 1990.

BRUNAUER, S., The adsorption of gases and vapours, *Oxford University Press*, Oxford, 1945.

BRUNETTI, M. L., DAGHETTA, A., ZANDERIGHI, A., Tecnologie di estrazione com fluidi supercritici. *Industrie Alimentari*; pp.593-603, 1985.

BRUNNER, G., Selectivity of supercritical compounds and entrainers with respect to model substances. *Fluid Phase Equilibria*, V 10, pp 289-298, 1983.

Referências Bibliográficas

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

BULGAREVICH, D. S., SAKO, T., SUJETA, T., OTAKE, K., TAKEBAYASHI, Y., KAMIZAWA, C., HORIKAWA, Y. E., KATO, M., The role of general hydrogen-bonding interaction in the solvation process of organic compounds by supercritical CO₂/n-alcohol mixtures. *Ind. Eng. Chem. Res.*, V 41, pp 2074-2081, 2002

CANELA, A. P. R. F., ROSA, P. T. V., MARQUES, M. O. M. E., MEIRELES, M. A. A., Supercritical fluid extraction of fatty acids and carotenoids from the microalgae spirulina maxima. *Ind. Eng. Chem. Res.*, V 41, pp 3012-3018, 2002

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

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

CHOI, Y. H., KIM, J., KIM, J. Y., JOUNG, S. N., YOO, K. P., CHANG, Y. S., Modifier effects on supercritical extraction efficiency of cephalotaxine from cephalotaxus wilsoniana leaves. *Archieves of Pharmacal Research*, V 23, pp 163-166, 2000.

CHOI, Y. H., CHIN, Y. W., KIM, J. JEON, S. H., YOO, K. P., Strategiers for supercritical fluid extraction of hyscopolamine and scopolamine salts using basified modifiers. *J. Cropatography A*, V 863, pp 47-55, 1999a

CHOI, Y. H., **KIM**, Y. C., **KIM**, J., **YOO**, K. P., Selective extraction of ephedrine from ephedra sinica using mixtures of CO₂, diethylamine, and methanol. *Chromatographia*, V 50, pp 673-679, 1999b.

CLARKE, R. J., **MACRAE**, R., *Coffee Chemistry*. V 1, London, New York, , Elsevier Applied Science Publishers, 1985.

CLIFFORD, M. N., Chemistry. Chlorogenic acid, in *Coffee*. eds Clarke, R. J. and Macrae, R., Croom Elsevier, London, V.1, pp.153-197, 1985.

CLIFFORD, M. N. Coffee beans dicafeoylquinic acids. *Phytochemistry*, V 26, pp 1767-1769, 1986.

CLIFFORD, M. N., **RAMIREZ**, J. R. M., Chlorogenic acid and purine alkaloids contents of maté (*Ilex paraguariensis*) leaf and beverage. *Food Chemistry*, V.35, pp 831-839, 1990.

CLIFFORD, M. N., **MARTINEZ**, J. R. R., Phenols and caffeine in wet-processed coffee beans and coffee pulp. *Food Chemistry*, V 40, pp 35-42, 1991.

COCERO, M. J., **E CALVO**, L., Supercritical fluid extraction of sunflower seed oil with CO₂- ethanol mixtures. *J. American Oil Chemistry Society*, V 73(11), pp 1573-1578, 1996

COELHO, G., **AUGUSTO**, F., **PAWLISZYN**, J., Desorption of ethyl acetate from adsorbent surfaces (organoclays) by supercritical carbon dioxide. *Ind. Eng. Chem. Res.*, V 40, pp 364-368, 2001.

Referências Bibliográficas

CORDELL, G. A., Biodiversity and drug discovery – a symbiotic relationship. *Phytochemistry*, V. 55, pp 463-480, 2000.

CORZO, T.; **KUMARAN**, C. V.; **CHIMOWITZ**, E. H. Experimental study of retrograde adsorption in supercritical fluids. *J. of Supercritical Fluids*, V 17, pp 25-33, 2000

CHRASIL, J., Solubility of solids and liquids in supercritical gases. *J. Phys. Chem*, V 86, pp.3016-3021, 1982.

DEBENEDETTI, P. G., **MOHAMED**, R. S., Attractive, weakly attractive, and repulsive near-critical systems. *J. chem. Phys*, V 90 (8), pp 4528-4536, 1988

DEBENEDETTI, P. G., **PETSCHÉ**, I. B., **MOHAMED**, R. S., Clustering in supercritical mixtures: theory, applications and simulations. *Fluid Phase Equilibria*, V 52, pp 347-356, 1989.

DEFFENSE, E. Tirtiaux fractionation: analitical data of end-products through HPLC. *J. American Oil Chemistry Society*, V 60(2) , pp 474-479, 1983.

DEL VALLE, J. M.; **AGUILERA**, J. M. An improved equation for predicting the solubility of vegetable oils in supercritical CO₂. *Ind. Eng. Chem. Res.*, V.27, pp.1551-1553, 1988.

DELL VALLE, J. M., **LA FUENTE**, J. C., **CARDARELLI**, D. A., Contribution to Supercritical Extraction of Vegetable Oils in Latin America, *J. of Food Science*. V 67 (1-2), pp 35-578 2005

DETAN, E. The microscopic structure of coffee bean in coffee. in *Botany, Biochemistry and Production of Beans and Beverage*. Clifford, M. N. and Willson, K. C. eds Crom Helm, London, 1985.

DEITERS. U. K. , Some comments on the double retrograde vaporization. *The Journal of Chemical Thermodynamics*, V 35 (4), pp 583-589 , 2003

DOBBS, J. M., **WONG**, J. M., **LAHIERE**, R. J., **JOHNSTON**, K. P., Modification of supercritical, fluid behavior using polar co-solvents. *Ind. Eng. Chem. Res.*, V 26, pp 56-65, 1987.

DOMINGO, C., **GARCIA-CARMONA**, J., **FANOVICH**, M. A., **LIBRE**, J. **RODRIGUEZ-CLEMENTE** R., Single or two solute adsorption processes at supercritical conditions: an experimental study. *J. of Supercritical Fluids*, V.21, pp 147-151, 2001

DONOHUE, M. D., **ARANOVICH**, G. L., A new classification of isotherms for Gibbs adsorption of gases on solids. *Fluid Phase Equilibria*, V 158 pp 557-563, 1999.

EGGERS, R. Supercritical fluid extraction (SFE) of oil seeds/lipids in natural products. In: *Supercritical fluid technology in oils and lipids chemistry*. 1st eds, AOCS press, Chapter 3, 1996.

EKART, M. P., **BENNET**, K. L., **EKART**, S. M., **GUARDIAL**, G. S., **LIOTTA**, C. L., **ECKERT**, C. A., Cosolvent interactions in supercritical fluid solutions. *AIChE Journal*, V 39 (2), pp 235-248, 1993.

Referências Bibliográficas

ERIKSON, D. R., PRYDE, E. H., BREKKE, O. L., MOUNTS, T. L., FALB R. A. Handbook of soy oil processing and utilization. American Soybean Association St. Louis, Missouri Fourth Print 1987. Cap.6,7,8,9,11, pp.71-131, 155-192, 1987.

ESSER, A., DAVIS, K., Medical experts: moderate caffeine consumption O.K. for pregnant women. In www.ific.org/proactive/newsroom/release.vtml Acesso em 05/2001.

FACIOLI, N. L. E., GONÇALVES, L. A. G. Modificação por via enzimática do óleo de piqui. *Química Nova*, V.21, pp.16-19, 1998.

FAHYL, L., NKILIZA, J., Preparation of unroasted coffee extracts for use as UV filter in cosmetics and pharmaceuticals- comprises isolating chlorogenic acids by treatment of ground coffee with various solvents. Patent Number FR2734479-A1.

FAPESP, Extração e recuperação de princípios ativos de produtos naturais utilizando fluidos supercríticos, Processo N° 02/07752-0, Coordenador, Paulo Mazzafera (2002)

FILIPPI, R.P., CO₂ as a solvent: applications to fats, oils and other materials. *Chemistry and Industry*, V.19, pp 390-394, 1982.

FOLSTAR, P., Lipids. in *Coffee* V 1 eds Clarke, R. J. and Macrae, R., Croom Elsevier, London, pp.203-221, 1985.

FOSTER, N. R., GURDIAL, G. S., YUN, J. S. L., LIONG, K. K., TILLY, K. D., TING, S. S. T., SING, H., LEE, J. H., Significance of the crossover pressure in solid supercritical fluid phase-equilibria. *Ind. Eng. Chem. Res.*, V 30 , pp 1955-1964, 1991.

FRIEDMAN, M., Chemistry, biochemistry, and dietary role of potato polyphenols: a review. *J. Agric. Food Chem.*, V 45, pp 1523-1540, 1997.

FRIEDRICH, J. P., LIST, G. R., HEAKIN, A. J. Petroleum-Free Extraction of Oil from soybeans with supercritical CO₂. *J. American Oil Chemistry Society*, V 59 (7), pp 288-292, 1982.

FUJII, Y., YAMADA, H., MIZUTA, M., Self-Association of acetic acid in some organic solvents. *J. Phys. Chem.*, V 92, pp 6768-6772, 1998.

FURLAN, L. T., Separação entre p-xileno e o o-xileno por adsorção em fase líquida em leitos fixos de peneira molecular. Tese de doutorado, Unicamp, Campinas, São Paulo, 1990.

GONZÁLEZ, A. G., PABLOS, F., MARTÍN, M. J., LEÓN-CAMACHO, M., VALDENEBRO, M. S., HPLC analysis of tocopherol and triglycerides in coffee and their use as authentication parameters. *Food Chemistry*, V 73, pp 93-101, 2001

GREGG, S. J., SING, K. S. W., Adsorption, Surface and Porosity. Academic Press, INC. London, 1982.

GROSS, G. JACCAUD, E., HUGGETT, A.C., Analysis of the content of the diterpenes cafestol and caueol in coffee brew. *Food and Chemical Toxicology*, V 35(6), pp 547-554, 1997

Referências Bibliográficas

HADOLIN, M., ŠKERGET, M., KNEZ, Ž., BAUMAN, D., High pressure extraction of vitamin e-rich oil from *Silybum marianum*. *Food Chemistry*, V 74, pp 355-364, 2001.

HARTMAN, L., ESTEVES, W. Tecnologia de óleos e gorduras vegetais. Série Tecnologia Agro-industrial. Secr. de Estado da Industria, Comércio, Ciência e Tecnologia, São Paulo, 1982.

HASEGAWA CO LTD (HASE) Purified Chlorogenic acid preparation- Involves contact treatment of extracted product from raw coffee bean using porous polymer resin treated with alkaline aqueous solution. Patent number: JP4145049-A

HASEGAWA, R., CHUJO, T., SAI-KATO, K., UMEMURA, T. TANIMURA, A., KUROKAWA, Y., Preventive effects and green tea against liver oxidative DNA damage and hepatotoxicity in rats treated with 2-nitropropane. *Food. Chem. Toxic*, V 33(11), p.961-970, 1995.

HAUTHAL, W. H., Advances with supercritical fluids: review. *Chemosphere*, V 43, pp 123-125, 2001.

HE, H. P., CORKE, H. E., CAI, J. G., Supercritical carbon dioxide extraction of oil and squalene from *Amaranthus grain*. *J. Agric. Food Chem.*, V 51, pp 7921-7925, 2003.

HEDRICK J. L., MULCAHEY L. J., TAYLOR L. T., Supercritical fluid extraction. *Microchimica Acta*, V. 108, pp.115-132, 1992.

HOFFMANN, G. The chemistry and technology of edible oils and fats and their high fat products. Academic Press Limited 24-28 Oval Road London NW1 7DX. Cap.2, 4, 5, pp.29-111,140-200, 203-264, 1989.

HORMAN, I., AND VIANI, R., The nature and conformation of the caffeine-chlorogenate complex of coffee. *Journal of Food Science*, V. 37, pp 925- 927, 1972

ILLÉS, V., SZALAI, O., THEN, M., DAOOD, H., PERNECZKI, S., Extraction of hiprose fruit by supercritical CO₂ and propane. *J. of Supercritical Fluids*, V 10, pp 209-218, 1997.

IWAI, Y., UCHIDA, H., MORI, Y.,HIGASHI, H., MATSUKI, T., FURUYA, T., ARAI, Y., YAMAMOTO, K., MITO; Y., Separation of isomeric dimethylnaphthalene mixture in supercritical carbon dioxide by using zeolite. *Ind. Eng. Chem. Res.*, V 33(9); pp 2157-2160., 1994.

JARA-MORANTE, E., SULEIMAN, D., ESTEVEZ, L. A., Solubilities of imipramine HCl in supercritical carbon dioxide. *Ind. Eng. Chem. Res.*, V 42(8); pp 1821-1823, 2003

JOHANNSEN, M. E., BRUNNER, G., Solubility of the xantines caffeine, theophylline and theobromine in supercritical carbon dioxide. *Fluid Phase Equilibria*, V. 95, pp 215-226, 1994.

JHONSTON, K. P., BARRY, S. E., READ, N. K., HOLCOMB, T. R., Separation of isomers retrograde crystallization from supercritical fluids. *Ind. Eng Chem. Res.*, V.26, pp.2372-77, 1987.

Referências Bibliográficas

JOHNSTON, K. P.; PECK, D. G. Modeling supercritical mixtures: how predictive is it?., *Ind. Eng. Chem. Res.* V.28(8), pp 1115-1125, 1989.

KAJIMOTO, O., FUTAKAMI, M., KOBAYASHI, T., YAMASAKI, K., Charge-transfer-state formation in supercritical fluid. *J. Phys. Chem.*, V 92, pp 1347-1352, 1988.

KE, J., JIN, S., HAN, B., YAN, H., SHEN, D., Hydrogen bonding of some organic acid in supercritical CO₂ with polar co-solvents. *J. of Supercritical Fluids*, V. 11, pp 53-60, 1997.

KELLEY, F. D., CHIMOWITZ, E. H., Near- critical phenomena and resolution in supercritical fluid chromatography. *AIChE Journal*, V36, pp.1163-74, 1990.

KIKIC, I., ALESSI, P., CORTESI, A., MACNAUGHTIN, S. J., FOSTER, N. R., An experimental study of supercritical adsorption equilibria of salicylic acid on activated carbon. *Fluid Phase Equilibria*, V. 117, pp 304-311, 1996.

KOPCAK, U, AZEVEDO, A. B. A., MOHAMED, R. S., Extraction of caffeine from guaraná (paullinia cupana) seeds using supercritical mixed solvents Trabalho publicado nos anais do V EBFS-2004, Florianópolis, Santa Catarina Brazil. (2004).

KOPCAK, U., MOHAMED, R. S., caffeine solubility in supercritical carbon dioxide/co-solvents mixtures. Trabalho publicado nos Anais do V EBFS-2004, Florianópolis, Santa Catarina Brazil.(2004)

LACK, E., SEIDLITZ, H., Decaffeination commercial scale of coffee and tea using supercritical CO₂. In King, M.B. and Bott, T.R. *Extraction of natural products using*

near-critical solvents. University of Birmingham Bodmin, Grã-Bretanha, pp 101-140, 1993.

LANG, Q., **WAI**, C. M., Supercritical fluid extraction in herbal and natural product studies- A practice Review. *Talanta*, V 53, pp 771-782, 2001.

LEE, C. K., **CHIAND**, A. T., Lattice model for adsorption of benzene in silicate 1, *AIChE Journal*, V38 (1), pp 128-137, 1992.

LI, S., **HARTLAND**, S., A new industrial process for extracting cocoa butter and xantines with supercritical carbon dioxide, *J. American Oil Chemistry Society*, V 73(4), pp 423-429, 1996.

LIM, S., **RIZVI**, S.S.H., Adsorption and desorption of cholesterol in continuous supercritical fluid processing of anhydrous milk fat. *J. of Food Science*, V 61(4), pp 817-820, 1996.

LIMA, D. R., **ANDRADE**, F., **FLORES**, G. B., Can coffee help fighting the drug problem? Preliminary results of a brazilian youth drug study. *Acta Pharmacologica Sinica*, V 21, (12), pp 1059-1060, 2000.

LUCAS, S., **CALVO**, M. P., **PALENCIA**, C., **COCERO**, M. J., Mathematical model of supercritical CO₂ adsorption on activated carbon. effect of operating conditions and adsorption scale-up. *J. of Supercritical Fluids*, V 32, 193-201, 2004a.

LUCAS, S., **COCERO**, M. J., **ZETZL**, C., **BRUNNER**, G., Adsorption isotherms of ethylacetate and furfural on activated carbon from supercritical carbon dioxide. *Fluid Phase Equilibria*, V 219, pp 171-179, 2004b.

Referências Bibliográficas

MAHESHWARI, P., NIKOLOV, Z. L., WHITE, T. M., HALTEL, R., Solubility of fatty acids in supercritical carbon dioxide. *J. American Oil Chemistry Society*, V 69(11), pp.1069-1072, 1992.

MANTELL C., RODRIGUEZ, M., DE LA OSSA, E. M., Estimation of the diffusion coefficient of a model food dye (malvidin 3,5-diglucoside) in a high pressure CO₂ plus methanol system. *J. of Supercritical Fluids*, V 29 (1-2), pp165-173, 2004

MANTELL C., RODRIGUEZ, M., DE LA OSSA, E. M., Kinetics and mathematical modeling of anthocyanin extraction with carbon dioxide and methanol at high pressure. *Separation Science And Technology*, V 38(15): pp 3689-3712, 2003

MARRONE, C., POLETTI, M., REVERCHOM, E., STASSI, A., Almond oil extraction by supercritical CO₂: experiments and modelling. *Chemical Engineering Science*, V 53, pp 3711-3718, 1998.

MANZAN, A. C. C. M., TONIOLO, F. S., BREDOW, E., POVH, N. P., Extraction of Essential Oil and Pigments from *Curcuma longa* [L.] by Steam Distillation and Extraction with Volatile Solvents. *J. Agric. Food Chem.*, V 51, pp 6802-6807, 2003

MAZZAFERA, P., Maté drinking: caffeine and phenolic acid intake. *Food Chemistry*, V 60(1), pp 67-71, 1997.

MAZZAFERA, P., Chemical composition of defective coffee beans. *Food Chemistry*, V 64, pp 547-554, 1999.

MCHUGH, M. A., KRUKONIS, V. J., Supercritical fluid extraction: Principles and practice. Butterworths Publishers; Boston; MA; 1994.

MCKILLOP, A., An introduction to the chemistry of the alkaloids. Butterworths; London, pp.1-41, 1970

MCQUARRIE, D. A., Statistical Mechanics, Harper and Row, New York, 1973.

MENEZES, H. C., Variação dos monoisômeros e diisômeros do ácido cafeoilquínico com maturação de café. Campinas: Universidade Estadual de Campinas, 1990. Tese (Doutorado).

MODELL, M., REID, R., Thermodynamics and its applications. 2.ed., Modar Inc, Natick, USA, Prentice-Hall Inc, 1983.

MOHAMED, R. S., HOLDER, G. D., High pressure phase behavior in systems containing CO₂ and heavier compounds with similar vapor pressures, *Fluid Phase Equilibria*, V 32, pp 295-317, 1987

MOHAMED, R.S., NEVES, G.M., KIECKBUSCH, T.G., Reduction in cholesterol and fractionation butter oil using supercritical carbon dioxide with adsorption on alumina, *International Journal of Food Science Technology*, V 33, pp 245- 252, 1998.

MOHAMED, R.S., SALDAÑA, M.D.A., SOCANTAYPE, F.H., KIECKBUSCH, T.G., Reduction in cholesterol content of butter oil using supercritical ethane extraction and adsorption on alumina. *J. of Supercritical Fluids*, V 16, pp 225-233, 2000.

Referências Bibliográficas

MORITA, A. E., KAJIMOTO, O., Solute–solvent interaction in nonpolar supercritical fluid: A clustering model and size distribution. *J. Phys. Chem.*, V 94, pp 6420-6420, 1990.

MURATA, K., KANEKO, K., The general equation of supercritical gas adsorption isotherm. *J. Phys. Chem B*, V 105 (36), pp 8498-8503, 2001

MURGA, R., SANZ, M. T., BELTRAN, S., CABEZAS, J. L., Solubility of syringic and vanillic acids in supercritical carbon dioxide. *J. Chem. and Eng. Data*, V 49(4), pp 779-782, 2004

MYERS, A. L., PRAUSNITZ, J. M., Thermodynamics of mixed gas adsorption. *AIChE Journal*, V 11, pp 121- 136, 1965.

NEHLIG, A., BOYET, S., Dose-response study of caffeine effects on cerebral function activity with a specific focus dependence. *Brain Research*, V 858, pp.71-77, 2000.

NEVES, G. B., M., Remoção do colesterol e fracionamento do óleo de manteiga com dióxido de carbono supercrítico. Campinas: Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, 1996. Tese (Mestrado).

NIKOLOVA-DAMYANOVA, B., VELIKOVA, R. E., JHAM, G. N., Lipid classes, fatty acid composition and triacylglycerol molecular species in crude coffee beans harvested in Brasil. *Food Research International*, V.31(6), pp.479-486, 1998.

NILSSON, W. B. E., HUDSON, J. K., Solubility of simple and mixed triacylglycerols in supercritical CO₂. *J. American Oil Chemistry Society*, V 70(8), pp.749-754, 1993.

OHIOKPEHAI, O., BRUMEN, G, CLIFFORD, M. N., The clorogenic acids content of some peculiar green beans and the implications for beverage quality. ASIC, 10e Colloque, Salvador, 1982.

OLIVIER, M. G., JADOT, R., Adsorption of light hydrocarbons and carbon dioxide on silica gel. *J. Chem Eng. Data*, V 42, pp 230-233, 1997.

PEKER, H., SRINIVASAN, M. P., SMITH, J. M., MCCOY, B. J., Caffeine extraction rates from coffee beans with supercritical carbom dioxide. *AIChE Journal*, V 38 (5), pp 761-770, 1992.

PENG, D-Y., ROBINSON, D. B., New two-constant equation of state. *Ind. Eng. Chem. Fundam.*, V 15, pp. 59-64, 1976.

PEREIRA, C. G., MARQUES, M. O., BARRETO, A. S.,SIANI, A. C., FERNANDES, E. C., MEIRELES, M. A. A.Extraction of indole alkaloids from *Tabernaemontana catharinensis* using supercritical CO₂+ethanol: an evaluation of the process variables and the raw material origin. *J. of Supercritical Fluids*, V 30(1), pp 51-61, 2004

PERRY, E. S., WEBER, W. H., E DAUBERT B. F., Vapor pressure of phlegmatic liquids I simple and mixed triglycerides, *Latin. Am. Chem. Soc.*, V 71, pp 3720-3726, 1949.

PERRUT, M. Supercritical fluid applications: Industrial developments and economic issues. *Ind. Eng. Chem. Res.*, V 39 (12), pp 4531-4535, 2000

Referências Bibliográficas

PETROVICK, P. R., MARQUES, L. C., DE PAULA, I. C., New rules for phytopharmaceutical drug registration in Brazil. *Journal of Ethnopharmacology*, V 66, pp 51-55, 1999.

PÖKER, H., KIRAN, E., Volumetric properties of carbon dioxide + ethanol at high pressures. *J. Chem. Eng. Data*, V 42, pp 384-388, 1997.

PRAUSNITZ, J. M., LICHTENTHALER, R. N., AZEVEDO, E. G., Molecular thermodynamics of fluid-phase equilibria, 3rd., Upper Sadler River: Prentice Hall, USA, 1999

RAEISSI, S., PETERS, C. J., On the phenomenon of double retrograde vaporization: multi-dew point behavior in the binary system ethane + limonene, *Fluid Phase Equilibria*, V 191 (1-2) , pp 33-40, 2001

RAEISSI, S., PETERS, C. J., Double retrograde vaporization in the binary system ethane+linalool. *J. of Supercritical Fluids*, V 23 (1), pp1-9, 2002

RAVEEDRAN, P., WALLEN, S., Cooperative C-H...O hydrogen bonding in CO₂-lewis base complex: implications for solvation in supercritical CO₂. *J. Am. Chem. Soc.*, V 124, pp 12590-12599, 2002

REICHARDT, C., Solvents and solvent effects in organic chemistry, 2nd Edition, Vchiverlagellschaft, weinhein, Germany, 1990.

REVERCHON E., OSSÉO L. S., Comparison of processes for supercritical carbon dioxide extraction of oil from soybean seeds. *J. American Oil Chemistry Society*, V 71(9), pp 1007-1012, 1994.

REVERCHON, E., Supercritical desorption of limonene and linalool from silica gel: experiments and modeling. *Chemical Engineering Science*, V. 56,(2), pp 1019-1027, 1997

REVERCHON, E., DAGHERO, J., MARRONE, C., MATTEA, M. E., POLETTO, M., Supercritical fractional extraction of fennel seed oil and essential oil, experiments and mathematical modeling. *Ind Eng. Chem. Res.* V 38, pp 3069-3075, 1999.

REVERCHON, E., KAZIUNAS, A., MARRONE, C., Supercritical CO₂-extraction of hipoese seed oil: experiments and mathematical modeling. *Chemical Engineering Science*, V 55, pp 2195-2201, 2000.

RITTER, J. A., YANG, R. T., Equilibrium adsorption of multicomponent gas mixtures at elevated pressures. *Ind. Eng. Chem. Res.*, V 26(8), pp 1679-1686, 1987

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

RODRIGUES, R. F. , TASHIMA, A. K. , AZEVEDO, A. B. A., PESSÔA FILHO, P. A. , PEREIRA, R. M., MOHAMED, R. S. , Solubilidade de cumarina em dióxido de carbono supercrítico. Trabalho publicado nos anais do XV COBEQ- 2004 Curitiba, Paraná, Brasil.

Referências Bibliográficas

ROGERS, P. J., DERNONCOURT, C., Regular caffeine consumption : A balance of adverse and beneficial effects of mood and psychomotor performance. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, V 59 (4), pp 1039-1045, 1998.

ROMANIELO, L. L., Modelagem matemática e termodinâmica da adsorção gasosa. Tese de doutorado, Faculdade de Engenharia Química, Unicamp, Campinas, São Paulo, 1999.

RÓNYAI, E., SIMÁNDI, B., TÖMÖSKÖZI, S., DEÁK, A. VIGH, L., WEINBRENNER, Z.S., Supercritical fluid extraction of corn germ with supercritical carbon dioxide ethyl alcohol mixture. *J. of Supercritical Fluids*, V 14, pp 75-81, 1998.

ROUQUEROL, F., ROUQUEROL, J., SING, K., Adsorption by powders & porous solids: Principles Methodology and applications, Academic Press, 1999.

RUTHVEN, D. M., Principles of Adsorption and Adsorption Processes, John Wiley & Sons Inc., New York, USA, 1984

SAHLE-DEMESSIE, E., PILLAI, U. R., JUNSOPHONSRI, S., LEVIEN, K. L., Solubility of organic biocides in supercritical CO₂ and CO₂ + cosolvent mixtures, *J. Chem. Eng. Data*, V 48, pp 541-547, 2003.

SALDAÑA, M. D. A., Extração de cafeína, trigonelina e ácido clorogênico de café com CO₂ supercrítico. Campinas: Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, 1997. Tese (Mestrado).

SALDAÑA, M. D. A., MAZZAFERA, P., MOHAMED, R. S., Extraction of purine alkaloids from maté plant *Ilex paraguariensis* using supercritical CO₂. *J. of Agric. Food Chem.*, V 47(9), pp.3804-3808, 1999.

SALDAÑA M. D. A., MOHAMED, R. S., MAZZAFERA, P. Extraction of cocoa butter from Brazilian cocoa beans using supercritical CO₂ and ethane. *Fluid Phase Equilibria*. V.194, pp 885-894 , 2002

SALDANA, M. D. A., ZETZL C., MOHAMED, R.S., G. BRUNNER, Extraction of methylxanthines from guarana seeds, mate leaves, and cocoa beans using supercritical carbon dioxide and ethanol. *J Agric. Food Chem.*, V 50 (17), pp 4820-4826, 2002 b

SANTOS, F. L. S., TASHIMA, A., K., PESSÔA FILHO, P. A., MOHAMED, R. S., Incorporação da abordagem química à equação de estado de Peng-Robinson para modelagem de compostos associativos. Trabalho publicado nos anais do XV COBEQ, Realizado em Curitiba, Paraná, 2004.

SCHERCK, J. O., Organic chemistry components and applications. The C. V. Mosby Company Copyright, p p259- 327. 1975

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

SCHAEFFER, S. T., ZALKOW, L. H., TEJA, A. S., Supercritical fluid Isolation from *Crotalaria spectabilis* using ion exchange resins. *Ind. Eng. Chem. Res.* V. 28, pp 1017-1020, 1989.

Referências Bibliográficas

SCHVARTZMAN, M. M. A. M., Metodologia para separação de adsorventes de zeólita para separação de gases pelo processo PSA Tese de Doutorado, Unicamp, Campinas, São Paulo., 1999.

SHEN, Z., MISHIRA, V., IMISON, B., PALMER, M., FAIRCLOUGH, R., Use of adsorbent and supercritical carbon dioxide to concentrate flavor compounds from orange oil, *L. Agric. And Food. Chem*, V 50, pp 154-160, 2002.

SILVA, G. F., Extração de pigmentos do urucum com CO₂ supercrítico. Campinas: Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, 1999. Tese (Doutorado).

SING, K. S. W., EVERETT, D. H., HAUL, R. A. W., MOSCOU, L., PIEROTTI, R. A., ROUQUÉROL, J., SIEMIENIEWSKA, T., Reporting physisorption data for gas/solid systems. *Pure and Applied Chemistry*, V 57 (4), pp 603-619, 1985.

SILVAROLLA, M. B., MAZZAFERA, P., FAZUOLI, L. C., A natural decaffeinated Arabica Coffee, *Nature*, V 429, pp 826, 2004

ŠKERGET, M., NOVAK-PINTARIČ, Z., KNEZ, Z., KRAVANJA, Z. Estimation of solid solubilities in supercritical carbon dioxide: Peng–Robinson adjustable binary parameters in the near critical region, *Fluid Phase Equilibria*, V 203, pp 111–132, 2002

SOCANTAYPE, F. V. H., Remoção de colesterol e fracionamento de óleo de manteiga com etano supercrítico. Campinas: Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, 1996. Tese (Mestrado).

SOVOVÁ, H., KUČERA, J., JEŽ, J., Rate of the vegetable oil extraction with supercritical CO₂ – II extraction of grape seed. *Chemical Engineering Science*, V 49(3), pp 415-420, 1994.

SOVOVÁ, H., Solubility of ferrulic acid in supercritical carbon dioxide with ethanol as co-solvent. *J. Chem. Eng. Data.*, V 46, pp 1255-1257, 2001a

SOVOVÁ, H., ZAREVÚCKA, M., VACEK, M., STRÁNSKÝ, K, Solubility of two vegetable oils in supercritical CO₂, *J. of Supercritical Fluids*, V 20(1), pp 15-28, 2001b

STRAIN E. C., MUNDFORD, G. K., SILVERMAN, K., GRIFFITHS, R. R., Caffeine dependence syndrome. Evidence from case histories and experimental evaluation. *JAMA*, V 272, pp 1043-1048, 1994.

SUBRA, P., VEGA-BANCEL., A. REVERCHON, E., Breakthrough curves and adsorption isotherms of terpene mixtures in supercritical carbon dioxide, *J of Supercritical Fluids*, V 12, pp 43-57, 1998.

SWAIN, T., HILLIS, W. E., The phenolic constituents of prunus domestica i the quantitative analysis of phenolic constituents, *J. Sci. Food, Agric*, V 10, pp 63-68, 1959

TAN, C. E, LIOU, D., Adsorption equilibrium of toluene from supercritical carbon dioxide on activated carbon. *Ind. Eng. Chem Res.*, V 29, pp 1412-1418, 1990.

TAN, C. S., LIEN, H. C., LIN, S. R., CHENG, H. L., CHAO, K. J., Separation of supercritical carbon dioxide and caffeine with mesoporous silica and microporous silicalite membranes. *J. of Supercritical Fluids*, V 26, pp 55-62, 2003.

Referências Bibliográficas

TÁPIA-CORZO, C., KURAMAN, V. E., CHIMOWITZ, E. H., Experimental study of retrograde adsorption in supercritical fluids. *J. of Supercritical Fluids* , V 17, pp 25-53, 2000.

TAYLOR, L. Supercritical Fluid Extraction, John Wiley & Sons Inc., New York, USA, 1996

TEJA, S., SCHAEFFER, S. T., ZALKOW, L. H., Supercritical extraction of *Crotalaria spectrabilis* in the cross-over region, *AIChE Journal*, V 34 (10), pp 1740-1742, 1988.

TERPSTRA, A. H. M., The hypercholesterolemia effect of cafestol in coffee oil in gerbils and rats. *J. Nutr. Biochem.*, V11, pp 311-317, 2000.

TING, S. S. T., MACNAUGHTON, S.J ., TOMASKO, D. L., FOSTER, N. R., Solubility of naproxen in supercritical carbon dioxide with and without cosolvents. *Ind. Eng. Chem. Res.*, V 32, pp 1471-1481, 1993a.

TING, S.S.T., TOMASKO, D.L., MACNAUGHTON, S. J., FOSTER, N. R., chemical-physical interpretation of cosolvents effects in supercritical fluids. *Ind. Eng. Chem. Res.* V 32, pp 1482-1487, 1993b.

UCHIDA, H., IWAI, Y., AMIYA, M., ARAI, Y., Adsorption behaviors of 2,6- and 2,7-dimethylnaphthalenes in supercritical carbon dioxide using NaY-type zeolite. *Ind. Eng. Chem. Res.* V 36(2); pp 424-429, 1997

VASCONCELLOS, V. R. Contribuição de grupos na estimativa de solubilidade de ácidos graxos e ésteres de ácidos graxos em CO₂ supercrítico. Campinas:

Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, 2000. Tese (Mestrado).

VASAPOLLO, G., LONGO, L., RESCIO, L., CIURLIA, L., Inovative supercritical co₂ extraction of lycopene from tomato in the presence of vegetable oil as co-solvent. *J. of Supercritical Fluids*, V 29, pp 87-96, 2004

VIEIRA DE MELO, S. A. B., Cálculo de propriedades termodinâmicas em sistemas contendo produtos naturais e fluido supercrítico. Rio de Janeiro: Tese Mestrado, COPPE –UFRJ. 1994

VIEIRA DE MELO, S. A. B., ULLER, A. M. C., PESSOA, F. L. P., COSTA, G. M. N., Vapor-liquid equilibrium of orange peel oil components + SC-CO₂ systems using cubic equations of state - excess Gibbs free energy models. In Fourth Italian Conference on Supercritical Fluids and their Applications; Capri, Italy, Edited by E. Reverchon, p.465-472, 7/10 september 1997.

VISSON, J. A., DABBAGH, Y. A., Tea phenols: antioxidant effectiveness of teas, teas components, tea fractions and their binding with lipoproteins. *Nutrition Resersh*, V18 (6), pp 1067-1075, 1998.

WAKSMUNDZKA-HAJNOS, M., Chromatographic separations of aromatic carboxylic acids. *Journal of Chromatography B*, V 717, pp. 93-118, 1998.

WALSH, J. M., IKONOMOU, G. D., DONOHUE, M. C., Supercritical phase behavior: the entrainer effect. *Fluid Phase Equilibria*, V.33, pp. 295-314, 1987.

Referências Bibliográficas

WANG, H.T., GOTO, M., SASAKI, M., HIROSE, T., Separation of alpha-tocopherol and squalene by pressure swing adsorption in supercritical carbon dioxide. *V* 43(11), pp 2753-2758, 2004.

WINGROVE, A. S., Caret, R. L., Química Orgânica. Editorial Harla, 2.ed. 1992

YONKER, C. R., SMITH, R. D. Solvatochromic behavior of binary supercritical fluids: the carbon dioxide/2-propanol system. *J. Phys. Chem.*, *V* 92, pp 2374-2378, 1988.

ZHONG, M., HAN, B., YAN, H., PENG, D., Effect of ethanol and n-octane on solubility of stearic acid in the supercritical CO₂. *Fluid Phase Equilibria*, *V* 134, pp 175-183, 1997.

ZÚÑIGA-MORENO, A., GALICIA-LUNA, L. A., HORSTMANN, S., IHMELS, C., FISCHER, K., Compressed liquid densities and excess volumes for binary systems carbon dioxide + 1-propanol and carbon dioxide + 2- propanol using a vibrating tube densimeter up 25 MPa. *J. Chem. Eng. Data*, *V* 47, pp 1418, 1424, 2002.

Apêndice

A1- Modelagem termodinâmica

A1.1- Correlação de solubilidade do óleo de café

Duas grandes dificuldades estão presentes nos estudos de modelagem termodinâmica de sistemas de extração de produtos naturais com fluidos supercríticos (FSC): a primeira está associada à dificuldade dos modelos em representar o comportamento dos sistemas na proximidade do ponto crítico e a segunda é a assimetria das misturas devido às grandes diferenças de tamanho e às forças atrativas entre as moléculas do soluto e do fluido supercrítico (Vieira de Melo et al. 1997).

Johnston e Peck (1989) publicaram uma revisão dos vários modelos utilizados na modelagem do equilíbrio de fases dos sistemas contendo fluidos supercríticos (FSCs). As dificuldades apontadas são quase sempre a ausência de dados de pressão de vapor dos componentes sólidos não voláteis, a incapacidade das equações de estado de representação adequada da região próxima ao ponto crítico, a assimetria e as altas compressibilidades das soluções com FSC que causam a formação de clusters em torno da molécula do soluto. No equilíbrio sólido- FSC duas possíveis abordagens para a fugacidade do soluto na fase supercrítica são possíveis. Na primeira, a fase fluida é considerada um gás comprimido, sendo necessária a utilização de uma equação de estado para a determinação do coeficiente de fugacidade, e na segunda a fase fluida é tratada como um líquido expandido. Nesta abordagem, faz-se necessária à utilização de um modelo para o cálculo do coeficiente de atividade no estado de referência. O modelo geralmente utilizado, segundo publicações da literatura, assume a fase supercrítica como um gás comprimido. Model e Reid (1983) relatam que para o

Apêndice

sucesso na modelagem de um sistema necessita-se de um método adequado, uma boa equação de estado e regras de mistura apropriadas.

Neves (1996) realizou a modelagem do fracionamento do óleo de manteiga com CO₂ supercrítico utilizando a equação de Peng-Robinson, com as regras de mistura clássicas. Foi desenvolvida uma nova expressão para o cálculo do parâmetro de interação binário em função da pressão. Socantaype (1996) modelou o fracionamento de óleo de manteiga de leite com etano supercrítico, considerando o fluido supercrítico como um líquido expandido.

Vasconcellos (2000) desenvolveu uma metodologia para predição da solubilidade de ácidos graxos, ésteres de ácidos graxos e lipídios em CO₂ supercrítico, por contribuição de grupos, através da predição dos parâmetros da equação de Chrastil (1982) e dos parâmetros de interação binária da equação de Peng-Robinson, obtendo melhores resultados para as correlações no caso da equação de Chrastil.

Chrastil (1982) desenvolveu uma equação para correlacionar solubilidades de compostos em função da densidade do solvente. Essa equação baseou-se nas leis de associação e da entropia dos compostos. Este modelo mostrou-se muito eficiente na predição da solubilidade de triglicerídios em dióxido de carbono supercrítico. Neste modelo parte-se do princípio que n moléculas do solvente (B) se associam com uma molécula do soluto (A), formando um complexo de solvatação (AB _{n}). No equilíbrio tem-se:



onde:

$$K = \frac{[AB_n]}{[A][B]^n} \quad (\text{A.2})$$

ou na forma logarítmica

$$\ln(K) + \ln[A] + n \ln[B] = \ln[AB_n] \quad (\text{A.3})$$

onde [A] é a concentração molar de vapor do soluto, [B] é a concentração molar do solvente, [AB_n] é a concentração molar do soluto no solvente, e K é a constante de equilíbrio, que pode ser expressa como:

$$\ln K = \frac{\Delta H_{\text{sov}}}{RT} + q_s \quad (\text{A.4})$$

onde ΔH_{sov} é a entalpia de solvatação e q_s é uma constante. A concentração do soluto na fase vapor pode ser expressa pela equação de Clausius-Clayperon.

$$\ln[A] = \frac{\Delta H_{\text{vap}}}{RT} + q_v \quad (\text{A.5})$$

onde ΔH_{vap} é o calor de vaporização e q_v é uma constante. Assumindo que o equilíbrio é atingido e que a [A] << [AB_n], e combinando as Equações A3, A.4 e A.5 tem-se:

$$\frac{\Delta H}{RT} + q + n \ln[B] = \ln[AB_n] \quad (\text{A.6})$$

onde ΔH é a entalpia total da reação e q é uma constante global. Definindo a concentração do soluto no vapor como:

$$[AB_n] = \frac{C}{MA + MB} \quad (\text{A.7})$$

Apêndice

e

$$[B] = \frac{d}{MB} \quad (\text{A.8})$$

onde C é a concentração do soluto no solvente (g/L) e d é a densidade do solvente em (g/L), MA e MB são as massas moleculares do soluto e do solvente respectivamente. Substituindo as equações A.7 e A.8 na equação A.6 tem-se :

$$\frac{\Delta H}{RT} + q + n \ln(d) - n \ln(MB) = \ln(C) - \ln(MA + nMB) \quad (\text{A.9})$$

e finalmente:

$$C = d^n \exp\left(\frac{a}{T} + b\right) \quad (\text{A.10})$$

onde $a = \Delta H/R$ e $b = \ln(MA + nMB) + q - n \ln(MB)$. Para a determinação dos parâmetros a, b e n, são necessário dois conjuntos de dados experimentais de solubilidade a diferentes temperatura. Traçando-se o gráfico do $\log(C) \times \log(d)$ os parâmetros são obtidos como segue:

$$n = \frac{1}{\text{Inclinação}} \quad (\text{A.11})$$

$$a = \frac{nT_1T_2 \ln\left(\frac{I_1}{I_2}\right)}{T_2 - T_1} \quad (\text{A.12})$$

$$b = -n \ln(I_1) - \frac{a}{T_1} = n \ln(I_2) - \frac{a}{T_2} \quad (\text{A.13})$$

onde I_1 e I_2 são as interseções das retas como o eixo das abscissas para $C=1$.

Este modelo foi validado para pressões compreendidas na faixa de 8,1 a 25,3MPa. O n é característico de cada sistema (soluto-solvente), é esperado que este parâmetro seja independente da temperatura. Entretanto, Silva (1999) correlacionou a solubilidade da bixina e do óleo de urucum através da equação de Chrastil e da equação de Peng-Robinson. Este autor verificou que o parâmetro n para o sistema em estudo mostrou-se dependente da temperatura segundo uma função quadrática.

Del Valle e Aguilera (1988) propuseram uma modificação na equação de Chrastil para a predição da solubilidade de óleos vegetais. Estes autores introduziram uma correção empírica para a variação do ΔH_{vap} com a temperatura. O modelo foi validado com dados disponíveis na literatura para óleos de girassol, soja e algodão numa faixa global de temperatura de 313 a 353K e pressões na faixa de 15,1 a 103,3 MPa. As solubilidades dos óleos vegetais comportam-se linearmente até concentrações de 100 g/l. O modelo gerado por estes autores através de uma regressão linear multivariável é da forma:

$$\ln(C) = 40,361 - \frac{18078}{T} + \frac{2186840}{T^2} + 10,724 \ln(d) \quad (\text{A.14})$$

onde d é a densidade do solvente em (g/ml), T é a temperatura em (K) e C é a solubilidade em (g/l)

Maheshwari et al. (1992) determinaram a solubilidade de ácidos graxos em CO_2 supercrítico. Estes autores reescreveram a equação de Chrastil em uma forma mais conveniente, pela facilidade de determinação dos parâmetros.

$$\ln(C) = (n-1)\ln(d) + \left(\frac{a}{T} + b\right) \quad (\text{A.15})$$

onde C é a solubilidade do soluto (kg/ Kg CO₂), d é a densidade do CO₂ em (kg/m³), T é a temperatura em (K) e n é o parâmetro de associação.

A2 Correlação da solubilidade da cafeína

Qualquer modelo matemático usado para descrever o comportamento de fases de um soluto em um fluido supercrítico precisa satisfazer as relações termodinâmicas de equilíbrio de fases. O equilíbrio de fases parte da igualdade dos potenciais (térmico, mecânico e químico) entre duas fases quaisquer. No caso do sistema bifásico sólido-fluido supercrítico, isso se traduz pela igualdade da temperatura, da pressão e do potencial químico nas duas fases (Prausnitz *et al.*, 1999).

Os potenciais químicos das fases supercrítica e sólida podem ser relacionados às respectivas fugacidades e aos coeficientes de fugacidade de cada espécie, ϕ_i . Na abordagem que considera a fase supercrítica como um gás denso e que fluido supercrítico não se dissolve no sólido, a fase sólida é tratada como uma substância pura e, a expressão para o cálculo da solubilidade de um sólido em uma fase supercrítica é dada por (McHugh e Krukonis, 1994):

$$y_i = \frac{P_i^{sub}(T) \exp\left[\frac{P v_i^s}{RT}\right]}{\phi_i^{SC} P} \quad (\text{A.16})$$

sendo $P_i^{sub}(T)$ a pressão de sublimação do sólido puro à temperatura T , P é a pressão de equilíbrio, v_i^s o volume molar do sólido puro, R é a constante universal dos gases e ϕ_i^{SC} o coeficiente de fugacidade do soluto na fase leve. O coeficiente ϕ_i^{SC} pode ser calculado através de equações de estado. A exponencial representa

o fator de correção de Poynting. Equações de estado cúbicas, como a de Peng-Robinson (Peng e Robinson, 1976), são amplamente utilizadas em cálculos de equilíbrio de fases tanto para fluidos puros quanto para misturas. A equação é dada pela seguinte expressão:

$$P = \frac{RT}{v-b} - \frac{a}{v(v+b) + b(v-b)} \quad (\text{A.17})$$

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

Quando aplicada a sistemas multicomponentes em sua forma clássica, a regra de mistura de van der Waals de um parâmetro é utilizada. Os parâmetros atrativo e repulsivo são obtidos pelas expressões A.18 e A.20:

$$a = \sum_i \sum_j x_i x_j a_{ij} \quad (\text{A.18})$$

$$a_{ij} = \sqrt{a_i a_j} (1 - \delta_{ij}) \quad (\text{A.19})$$

$$b = \sum_i x_i b_i \quad (\text{A.20})$$

onde δ_{ij} é o parâmetro de interação, ajustável a partir de dados experimentais de equilíbrio de misturas binárias. A correlação do equilíbrio de fases utilizando esta regra de misturas é qualitativamente boa, apresentando porém, limitações na descrição quantitativa do comportamento de sistemas envolvendo fluidos supercríticos. Além disso, é preciso ajustar o parâmetro de interação para cada temperatura avaliada.

Uma variação da regra de van der Waals considera dois parâmetros de interação, um para o termo atrativo e um para o termo repulsivo sendo dadas

Apêndice

pelas equações (Mchugh e Krukoni, 1994). Onde o termo atrativo, mantém a forma clássica e, o termo repulsivo é descrito pelas equações:

$$b_{mix} = \sum_i \sum_j x_i x_j b_{ij} \quad (A.21)$$

e

$$b_{ij} = \frac{b_{ii} + b_{jj}}{2} (1 - \eta_{ij}) \quad (A.22)$$

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

$$\delta_{ij} = \alpha_{ij} + \beta_{ij} \rho \quad (A.22)$$

Combinando-se as equações A.19 e A.21 e substituindo-se na equação A.18 obtém-se:

$$a = a' - c - d / v \quad (A.23)$$

Onde:

$$a' = \sum_i \sum_j x_i x_j \sqrt{a_i a_j} \quad (A.24)$$

$$c = \sum_i \sum_j x_i x_j \sqrt{a_i a_j} \alpha_{ij} \quad (A.25)$$

$$d = \sum_i \sum_j x_i x_j \sqrt{a_i a_j} \beta_{ij} \quad (\text{A.26})$$

Com o parâmetro de interação binária dependente da densidade, a equação de Peng-Robinson se torna de quarta ordem no volume.

Um estudo sistemático para testar as aplicações das diferentes regras de mistura disponíveis na literatura, para correlação de dados de solubilidade de compostos em sistemas binários contendo fluidos supercríticos, foi realizada por Škerget et al. (2002). Os autores reportaram que para todos os compostos estudados os parâmetros de interação binários são bastante influenciados pela pressão na faixa correspondida entre 7,5 e 15 MPa. Para pressões maiores os parâmetros praticamente são independentes da pressão. Os valores dos parâmetros de interação K_{ij} aumentam linearmente com a densidade e assumem valores praticamente constantes para densidades da ordem de 700 a 800 kg/m³, a depender do sistema investigado. De acordo com os dados apresentados pelos autores, as melhores regressões foram obtidas utilizando a regra de Mohamed e Holder (1987). Este modelo também foi utilizado com sucesso por Saldaña (1997) na correlação dos dados de solubilidade de cafeína.

A3. Correlação de solubilidade do óleo de café e da cafeína

Nesta seção do trabalho foram utilizados os modelos de Chrastil (1982) e de Peng e Robinson (1996) para a correlação dos dados de solubilidade de óleo de café e cafeína, respectivamente. Os dados foram previamente reportados nas Seções 5,1 e 5,2.

A3.1 Correlação de solubilidade do óleo de café.

A equação de Chrastil (1982) foi utilizada para correlacionar os dados de solubilidade do óleo de café verde em CO₂ supercrítico. Para determinação dos parâmetros da equação (n , a e b) são necessários dois conjuntos de dados de

Apêndice

solubilidade a temperaturas diferentes. Os parâmetros podem ser obtidos através da regressão linear dos logaritmos da densidade e da solubilidade.

A Figura A.1 mostra o gráfico da concentração vs. a densidade do solvente em escala logarítmica para o sistema CO₂/óleo de café verde nas temperaturas de 50, 60 e 70°C, as linhas cheias representam a regressão linear de cada conjunto de dados separadamente. Os parâmetros da equação de Chrastil obtidos a partir dos dados experimentais são: $n = 7,90$, $a = -2869,1849$ e $b = -42,6291$. O erro percentual no ajuste dos valores preditos foi de 6,28% para a temperatura de 50°C, de 6,72 para a temperatura de 60°C e de 9,89% para a temperatura de 70°C. Estes valores são muito próximos aos obtidos por Azevedo et al. (2003) para o sistema CO₂/gordura de cupuaçu, indicando que os óleos vegetais compostos de triglicerídios de mesma faixa de peso molecular apresentam comportamentos de solubilidade em CO₂ supercrítico muito similares.

A equação de Chrastil tem-se mostrado muito satisfatória na correlação dos dados experimentais de solubilidade de óleos em CO₂ supercrítico. Como foi verificado por outros autores (Nilson e Hundson, 1993; Maheshwari et al., 1992; Silva, 1999) e também neste trabalho, observando-se que o erro do ajuste em ambos os casos foi muito próximo ao erro experimental (5,4%).

Entretanto, apesar da boa correlação dos dados de solubilidade obtidos com o uso da equação de Chrastil, extrapolações fora da faixa de condições experimentais exploradas neste trabalho não são recomendáveis, devido ao fato da equação de Chrastil falhar na predição do máximo de solubilidade, sabidamente existente nos sistemas soluto-fluidos supercríticos (Sovová, 2001b)

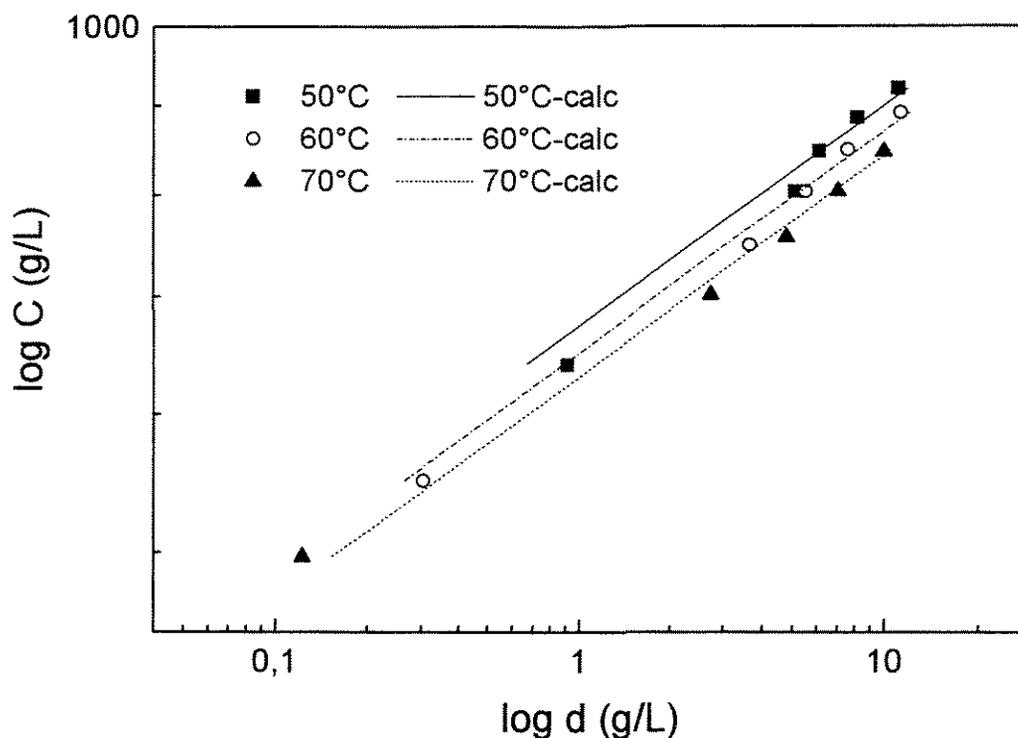


Figura A.1 Ajuste da solubilidade do óleo de café verde em CO₂ supercrítico à equação de Chrastil

O parâmetro n da equação, que representa o número médio de moléculas do solvente presentes na formação do complexo de solvatação, não permaneceu constante para os dados experimentais obtidos neste trabalho no caso onde o Etano foi utilizado como solvente. O valor de n apresentado representa a média aritmética dos valores individuais obtidos por regressão linear de cada conjunto de dados. Este procedimento foi adotado por dispormos de dados experimentais suficientes para a determinação de uma correlação para o parâmetro n em função da temperatura.

Silva (1999) verificou na extração do óleo de urucum utilizando CO₂ supercrítico como solvente, na faixa de temperatura de 304 a 325 K, que o parâmetro n comporta-se como uma função quadrática da temperatura, mostrando que à medida que a temperatura é elevada mais moléculas incorporam-se ao

Apêndice

complexo. Chrastil (1982) relaciona o valor fracionário do parâmetro n com a estabilidade dos diferentes complexos de solvatação formados, uns mais estáveis outros menos, com diferentes números de moléculas do solvente incorporadas ao complexo. Para o sistema estudado neste trabalho (CO_2 /óleo de café) verificou-se que nas condições de temperatura estudadas, o número médio de moléculas não sofre influência da temperatura.

A.4 Correlação dos dados de solubilidade da cafeína.

Nesta etapa do trabalho, os dados de solubilidade de cafeína obtidos foram correlacionados utilizando a equação de Peng e Robinson (1976) com a regra de mistura de van der Waals de dois parâmetros e a regra de mistura proposta por Mohamed e Holder (1987). Para a regressão dos parâmetros foi empregado o *software* em linguagem FORTRAN, desenvolvido por Alexandre Keiji Tashima e utilizado por Rodrigues *et al.* (2004) para a correlação dos dados de solubilidade de cumarina em CO_2 supercrítico.

Os dados de pressão de sublimação da cafeína, nas condições de processo empregadas foram obtidos utilizando a correlação proposta por Bothe e Cammenga (1979) que pode ser considerada como uma modificação da equação Antoine:

$$\text{Log}P^{sub}(Pa) = -\left(\frac{A}{T}\right) + B \quad (\text{A.27})$$

cujos parâmetros são $A = 5781\text{K}$ e $B = 15,031$. Para a regressão destes parâmetros os autores determinaram a pressão de sublimação da cafeína na faixa de temperatura compreendida entre 77 e 236°C

Os dados das constantes críticas da cafeína foram obtidos utilizando as correlações de Joback para obtenção de T_c , P_c e V_c e, o valor de temperatura de

ebulição ($T_b = 628,2\text{K}$) experimental reportado na literatura e previamente utilizado por Saldaña (1997). Esta e outras correlações, para a predição de constantes críticas de compostos, foram previamente testadas por Vieira de Melo (1994) e, os resultados reportados pelo autor mostraram que a correlação de Joback é a que apresenta melhores predições para compostos multifuncionais. O fator acêntrico da cafeína e do CO_2 foram calculados utilizando a correlação de Pitzer

Nas Figuras A2 e A3 são mostrados os dados experimentais ao lado das simulações considerando equilíbrio (S-FS). Os parâmetros de interação binária que compõem as regras de mistura foram encontrados através de regressão de dados de solubilidade experimentais da cafeína, utilizando a equação de estado de Peng-Robinson e as regra de mistura de van de Waals de dois parâmetros e, Mohamed e Holder (1987) considerando equilíbrio S-FS. Os desvios médios entre os valores de solubilidade calculados e os experimentais são apresentados na Tabela A.1.

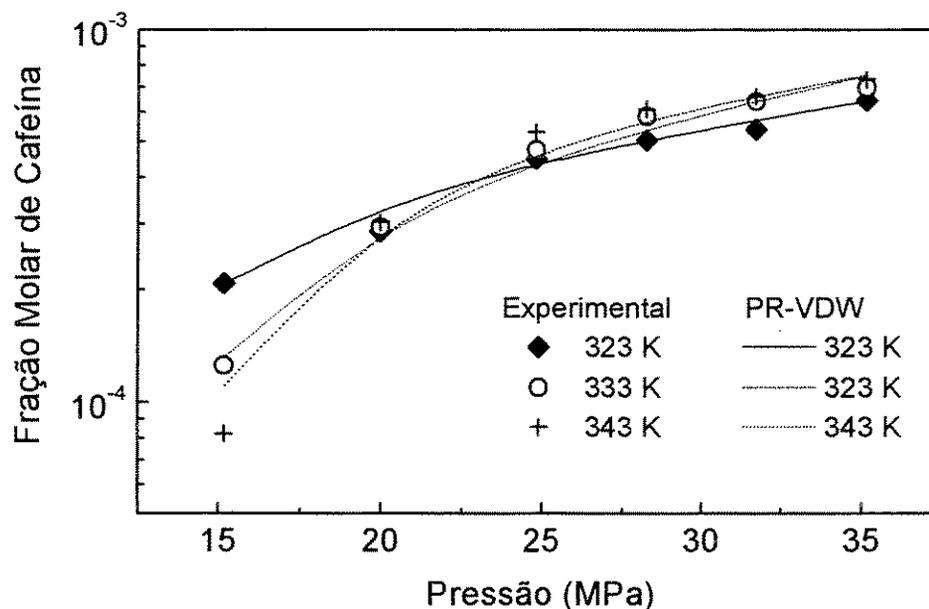


Figura A2 Correlação das solubilidades para o sistema binário cafeína- CO_2 supercrítico utilizando a regra de mistura de van der Waals de dois parâmetros.

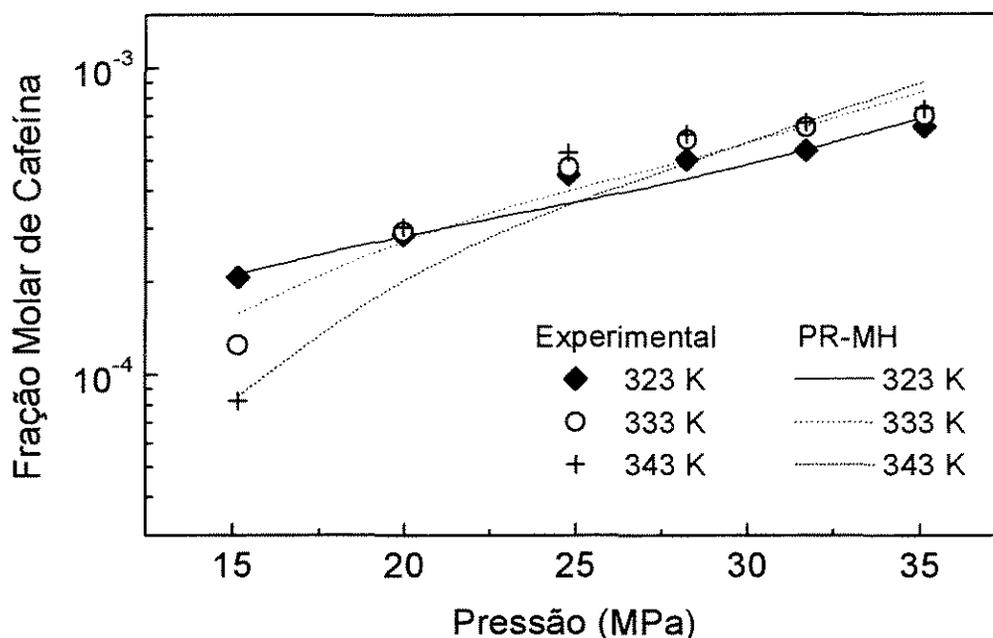


Figura A3 Correlação das solubilidades para o sistema binário cafeína- CO₂ supercrítico utilizando a regra de mistura de Mohamed e Holder (1987).

A Figura A2 mostra os dados experimentais obtidos e calculados utilizando a regra de mistura de van der Waals de dois parâmetros. Os parâmetros de interação binária do termo atrativo (δ_{ij}), para as isotermas a 323, 333, e 343 K foram -0,834, -0,744 e -0,771, respectivamente. Os parâmetros de interação binária para o termo repulsivo (η_{ij}) seguindo a ordem acima empregada, foram -1,803, -1,6703 e -1,805, respectivamente. Os erros médios avaliados para cada uma das isotermas foram 4,4%, 4,7% e 9,2%, respectivamente.

Observando a Figura A2 pode-se constatar que os dados experimentais são melhores correlacionados a valores de pressão mais altos, em que a densidade do CO₂ supercrítico encontra-se na faixa de 700 a 900 kg/m³, onde, de acordo com Škerget et al. (2002), os valores dos parâmetros de interação praticamente independem da pressão.

Na Figura A.3 estão apresentados os dados experimentais obtidos e os dados de solubilidade calculados pelo modelo utilizando a regra de mistura de

Mohamed e Holder (1987). O termo α_{ij} , que compõe a equação do parâmetro de interação binária (δ_{ij}), para as isotermas obtidas a 323, 333, e 343 K foram -0,825, -0,712 e -0,555, respectivamente. O termo β_{ij} para as isotermas, seguindo a ordem acima empregada são 92,028, 84,574 e 71,808 respectivamente. Os erros médios avaliados para cada uma das isotermas foram 7,2%, 13,5% e 17,6%.

Comparando os erros médios obtidos utilizando as regras de mistura de van der Waals e Mohamed e Holder (1987) observa-se o ajuste obtido utilizando a regra de mistura de van der Waals foi melhor para os dados de solubilidade da cafeína em CO₂ supercrítico. Este melhor ajuste verificado utilizando a regra de mistura de van der Waals em relação ao ajuste obtido utilizando a regra de mistura de Mohamed e Holder (1987) pode ser atribuído ao fato de que na regra de mistura de Mohamed e Holder (1987) os dois parâmetros ajustáveis encontrarem-se no termo atrativo, enquanto que na regra de mistura de van der Waals de dois parâmetros um está no termo atrativo da equação e o outro no termo repulsivo.

Em continuação a regressão dos dados experimentais foi realizada a regressão dos dados de solubilidade utilizando a regra de mistura de Mohamed e Holder (1987) para o termo atrativo e, para o termo repulsivo foi adotada a equação que descreve o termo repulsivo da regra de mistura de van der Waals de dois parâmetros.

Uma sensível melhora no ajuste do modelo aos relação aos dados experimentais pôde ser observada na Figura A.4. Os valores dos parâmetros regredidos para as isotermas obtidas a 323, 333 e 343 K foram: -0,827, -0,798 e 0,824 para o parâmetro α_{ij} , respectivamente. Para o parâmetro β_{ij} os valores foram 63,584, 46,551 e 63,266 seguindo a mesma ordem para as isotermas. Os valores parâmetro de interação binária η_{ij} para o termo repulsivo foram -0,553, -0,273 e -0,313, respectivamente. A utilização de mais um parâmetro, inserido no termo repulsivo melhorou significativamente o ajuste do modelo. Os desvios médios entre os valores de solubilidade calculados e os experimentais são apresentados na Tabela A.1.

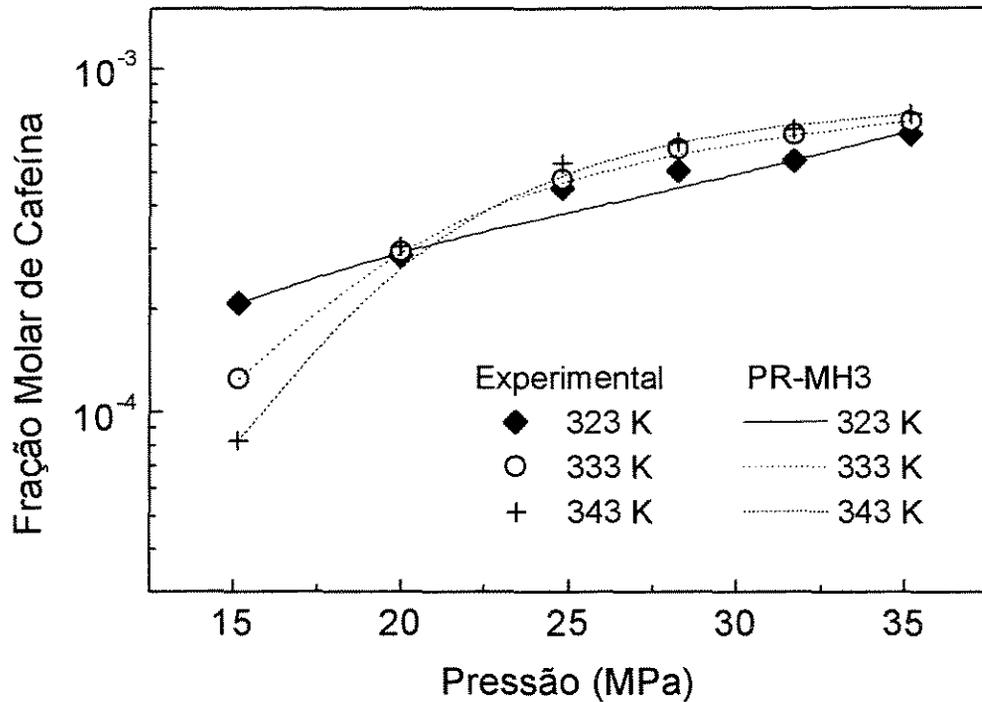


Figura A4 Correlação das solubilidades para o sistema binário cafeína- CO₂ supercrítico utilizando a regra de mistura de Mohamed e Holder (1987) e a regra de mistura de van der Waals de 2 parâmetros para o termo repulsivo.

Tabela A.1 Erros médios para as simulações de solubilidade de cafeína considerando o equilíbrio sólido fluido supercrítico (S-FSC) para as regras de misturas de van der Waals (1) , Mohamed e Holder (1987) (2) e Mohamed e Holder de três parâmetros (3).

Regra de Mistura	Erro Médio (%)		
	Temperatura (K)		
	323	333	343
1	4,4	4,7	9,2
2	7,2	13,5	17,6
3	5,3	2	1,9