



PUCRS

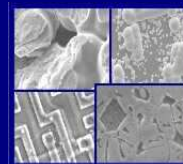
PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO RIO GRANDE DO SUL
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA E
TECNOLOGIA DE MATERIAIS**

Faculdade de Engenharia

Faculdade de Física

Faculdade de Química



PGETEMA

**PROCESSO DE PRODUÇÃO DE ERVA-MATE DESCAFEINADA E DE
MICRO/NANOPARTÍCULAS DE CAFEÍNA USANDO DIÓXIDO DE
CARBONO SUPERCRÍTICO**

GERTI WEBER BRUN

ENGENHEIRA QUÍMICA

MESTRE EM ENGENHARIA

**TESE PARA A OBTENÇÃO DO TÍTULO DE DOUTOR EM
ENGENHARIA E TECNOLOGIA DE MATERIAIS**

Porto Alegre

Março, 2012

“Morre lentamente quem não vira a mesa quando está infeliz com o seu trabalho, quem não arrisca o certo pelo incerto para ir atrás de um sonho, quem não se permite, pelo menos uma vez na vida, fugir dos conselhos sensatos. Morre lentamente quem passa os dias queixando-se da má sorte ou da chuva que cai incessante.”

(Pablo Neruda)

DEDICATÓRIA

“A família não é você, está junto de você, compõe o seu mundo, mas não é a sua própria identidade.” (George Ivanovich Gurdjieff)

Dedico este trabalho à minha família que sempre esteve e está comigo nesta caminhada e em especial ao meu filho Tiago.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a todos que nestes últimos anos se fizeram presentes com palavras de apoio, incentivo e principalmente pela paciência para conviver com uma doutoranda.

À minha família e em especial ao meu filho Tiago. Sem palavras!

Aos orientadores Eduardo Cassel e Rubem Mário Figueiró Vargas pela orientação, exigência e incentivo para desenvolver este trabalho. E pelos muitos momentos de alegria e discussões que me incentivaram a seguir sempre em frente.

À professora Eleani M. da Costa que com sua dedicação e cuidado com os alunos do PGETEMA faz com que nos sintamos seguros e com a certeza que tudo vai dar certo.

Aos ombros amigos da PUCRS: Jeanine, Berenice, Maria Regina, Nicoletti e Gláucia. E aos da vida: Andréa, Carla, Roberto e Mariângela. Muito obrigada por me ouvir!

Ao colega Fernando Torres, pela amizade, pela disponibilidade em ajudar sempre que necessário e principalmente, pelos momentos de descontração com sua alegria e modo particular de ver os fatos.

Aos colegas do LOPE por todo apoio durante a realização dos experimentos.

Ao Centro de Microscopia da PUCRS.

À PUCRS pela concessão do afastamento das atividades durante um semestre para desenvolver parte deste trabalho no exterior. Aos colegas do curso que abraçaram as disciplinas durante este período.

Aos professores Maria José Cocero e Ángel Martín pela disponibilidade, atenção e apoio durante o doutorado sanduíche na Universidad de Valladolid em que me acolheram como membro efetivo do grupo de pesquisa. Aos colegas do grupo, pela colaboração tornando minha estada em outro país tão produtiva e muito agradável.

À CAPES, pela oportunidade e concessão de bolsa do Programa de Bolsas no Exterior, na modalidade Doutorando no Brasil com Estágio no Exterior.

Sumário

DEDICATÓRIA	3
AGRADECIMENTOS	4
LISTA DE FIGURAS	8
LISTA DE TABELAS	10
LISTA DE QUADROS	12
LISTA DE SÍMBOLOS	13
RESUMO	15
ABSTRACT	16
1. INTRODUÇÃO	17
2. OBJETIVOS	19
2.1. Objetivos Específicos	19
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	20
3.1. Extração Supercrítica	20
3.1.1 Fluido Supercrítico	21
3.1.2. O Processo	24
3.1.3. Modelagem Matemática.....	27
3.2. Obtenção de Micro e Nanopartículas	35
3.2.1. Processos de Obtenção de Partículas.....	36
3.2.1.1. Expansão Rápida em Meio Supercrítico	36
3.2.1.2. Anti-solvente Supercrítico e Processos Correlatos.....	38
3.2.2 Aplicações Industriais	46
3.3 Erva-Mate (<i>Ilex Paraguariensis</i> St. Hill)	50
4. METODOLOGIA.....	57
4.1. Extração Supercrítica	57
4.1.1. Equipamento e Procedimento.....	57
4.1.2. Primeira Etapa de Experimentos de Extração Supercrítica	59
4.1.3. Planejamento de Experimentos	60
4.2. Análise do Teor de Cafeína na Erva-mate e no Extrato	61

4.3. Purificação da Cafeína.....	62
4.4. Obtenção de Nanopartículas de Cafeína.....	64
4.4.1 Equipamento e Procedimento.....	66
4.4.2 Análise das Partículas Obtidas	68
5. RESULTADOS OBTIDOS	70
5.1. Resultados da Primeira Etapa de Extração Supercrítica.....	70
5.2. Resultados da Segunda Etapa de Extração Supercrítica.....	76
5.2.1. Rendimentos da Extração Supercrítica.....	76
5.2.2 Quantificação da cafeína	77
5.3. Resultados do Processo de Micronização (SAS).....	81
5.3.1. Rendimento.....	81
5.3.2. Tamanho de Partículas.....	86
5.3.3. Morfologia	90
5.3.4. Pureza.....	93
5.3.5. Comportamento térmico	95
6. CONCLUSÕES	101
7. PROPOSTAS PARA TRABALHOS FUTUROS.....	103
8. REFERÊNCIAS	105

LISTA DE FIGURAS

Figura 3.1. Diagrama de fases destacando a região de fluido supercrítico.....	21
Figura 3.2. Diagrama do processo de extração supercrítica.....	25
Figura 3.3. Unidade piloto de extração supercrítica.....	26
Figura 3.4 Representação esquemática do modelo matemático de extração.....	34
Figura 3.5. Diagrama conceitual do processo RESS.....	37
Figura 3.6. Diagrama conceitual do processo com anti-solvente.....	40
Figura 3.7. Estrutura molecular: (a) cafeína, (b) teofilina, (c) teobromina.....	54
Figura 3.8. Diagrama esquemático das fases da cafeína à pressão atmosférica.....	56
Figura 4.1. Diagrama esquemático do dispositivo experimental.....	58
Figura 4.2. Esquema do planejamento de experimentos.....	60
Figura 4.3. Tubo duplo para sublimação.....	62
Figura 4.4. Arranjo experimental para sublimação.....	64
Figura 4.5. Esquema do processo.....	67
Figura 5.1. Rendimento da extração supercrítica com <i>I. paraguariensis</i> com CO ₂ a 12,0 MPa.....	74
Figura 5.2. Rendimento da extração supercrítica com <i>I. paraguariensis</i> com CO ₂ a 15,0 MPa.....	75
Figura 5.3. Rendimento da extração supercrítica com <i>I. paraguariensis</i> com CO ₂ a 17,0 MPa.....	75
Figura 5.4. Rendimento da extração supercrítica com <i>I. paraguariensis</i> com CO ₂ a 20,0 MPa.....	76

Figura 5.5. Cromatograma da solução de erva-mate antes da extração supercrítica.....	78
Figura 5.6. Cromatograma da solução de erva-mate depois da extração supercrítica.	78
Figura 5.7. Cromatograma da solução de extrato da extração supercrítica.....	79
Figura 5.8. Cafeína após processamento no vaso de precipitação.....	81
Figura 5.9. Diagrama P-xy dos sistemas: CO ₂ -etanol, CO ₂ -acetato de etila, CO ₂ -diclorometano a 313,15 K.....	83
Figura 5.10. Diagrama P-xy para o sistema CO ₂ -diclorometano a 303,15, 313,15 K e 333,15	84
Figura 5.11. Análise granulométrica da cafeína não processada.....	89
Figura 5.12 Análise granulométrica da cafeína processada (P=10 MPa e T =313,15 K).....	89
Figura 5.13. Imagem das partículas de cafeína não processada.....	90
Figura 5.14. Imagens das partículas da cafeína obtidas por precipitação (SAS).....	91
Figura 5.15. Imagens das partículas da cafeína obtidas por precipitação (SAS).....	92
Figura 5.16. Aspecto físico da cafeína antes (a) e depois do processamento (b) por SAS.....	93
Figura 5.17. Curvas de calorimetria por varredura da cafeína obtida a diferentes temperaturas.....	98
Figura 5.18. Difratoograma das amostras SAS6 e SAS12.....	99

LISTA DE TABELAS

Tabela 3.1. Ordem de grandeza de propriedades termofísicas dos fluidos supercríticos.....	22
Tabela 3.2. Solventes utilizados em processos de extração supercrítica.....	23
Tabela 3.3. Solubilidade da cafeína em CO ₂ (313,15 K).....	55
Tabela 4.1. Solvente X Concentrações utilizadas (g/mL).....	65
Tabela 4.2. Resumo dos experimentos realizados.....	66
Tabela 5.1. Composição da cafeína e teobromina no extrato supercrítico de erva-mate.....	70
Tabela 5.2. Composição das amostras analisadas.....	71
Tabela 5.3. Rendimento total de extrato supercrítico de erva-mate.....	72
Tabela 5.4. Parâmetros da curva de extração de erva-mate obtidos pelo ajuste dos dados experimentais 12,0 MPa.....	73
Tabela 5.5. Parâmetros da curva de extração de erva-mate obtidos pelo ajuste dos dados experimentais 15,0 MPa.....	73
Tabela 5.6. Parâmetros da curva de extração de erva-mate obtidos pelo ajuste dos dados experimentais 17,0 MPa.....	73
Tabela 5.7. Parâmetros da curva de extração de erva-mate obtidos pelo ajuste dos dados experimentais 20,0 MPa.....	73
Tabela 5.8. Rendimento total de extrato supercrítico de erva-mate.....	77
Tabela 5.9. Massa e Composição de cafeína.....	80
Tabela 5.10. Rendimento de precipitação em massa.....	82
Tabela 5.11. Fração molar da cafeína no sistema solvente/antisolvente e solubilidade da cafeína em fração molar.....	85
Tabela 5.12. Tamanho médio das partículas.....	87

Tabela 5.13. Pureza da cafeína.....94

Tabela 5.14. Transição de fase e de fusão para cafeína determinados por calorimetria diferencial de varredura (DSC).....96

LISTA DE QUADROS

Quadro 3.1. Plantas comerciais de extração com dióxido de carbono supercrítico..	47
Quadro 3.2. Vantagens do uso dióxido de carbono supercrítico.....	49
Quadro 3.3. Subprodutos da erva-mate, de acordo com sua industrialização.....	51

LISTA DE SÍMBOLOS

A_p	Superfície total da partícula.....	m^2
c_i	Concentração molar do elemento i.....	$gmol.m^{-3}$
CR	Cristalinidade Relativa.....	%
D	Massa de soluto de difícil acesso na fase sólida.....	kg
D_{mi}	Difusividade mássica de m em i.....	m^2/s
d_{50}	Tamanho médio volumétrico	μm
e	Massa de extrato em relação à N.....	kg/kg
e	Rendimento da extração	kg/kg
e_1	Rendimento da extração no final do 1º período	kg/kg
e_∞	Rendimento assintótico	kg/kg
F	Parâmetro do período rápido de extração.....	kg/kg
h	Coordenada espacial ao longo do leito	m
J	Taxa de massa.....	kg/s
K	Coeficiente de partição.....	kg/kg
k_p	Coeficiente de partição volumétrica	m^3/m^3
k_{tm}	Coeficiente de transferência de massa	m^2/s
l	Característica dimensional	m
N	Massa isenta de soluto.....	Kg
O	Massa de óleo inicial contida na fase sólida	kg
P	Massa de soluto de fácil acesso.....	kg
Q	Massa de solvente.....	kg
q	Quantidade específica de solvente	$(kg/s)/(kg/s)$
q^*	Concentração junto à interface sólido-líquido	$gmol.m^{-3}$
q_1	Quantidade específica de solvente no final do 1º período	$(kg/s)/(kg/s)$
q_e	Concentração do extrato na fase sólida.....	$gmol.m^{-3}$
q_m	Quantidade específica de solvente no início da extração	$(kg/s)/(kg/s)$
q_n	Quantidade específica de solvente no final do período de extração do soluto de fácil acesso	$(kg/s)/(kg/s)$
\dot{q}	Taxa de massa de solvente em relação à N	s^{-1}
S	Supersaturação	mol/mol
S	Parâmetro do período lento de extração	$(kg/s)/(kg/s)$

S_1	Solubilidade	(kg/s)/(kg/s)
S_2	Concentração de equilíbrio do soluto na matriz vegetal.....	(kg/s)/(kg/s)
T	Temperatura.....	K
T_f	Temperatura de fusão	K
T_t	Temperatura de transição	K
t	Tempo	s
t_i	Tempo de difusão interna.....	s
U	Velocidade superficial do solvente	$m.s^{-1}$
u	Velocidade superficial do solvente	m/s
V	Volume de extrator	m^{-3}
W	Parâmetro do período lento de extração	(kg/s)/(kg/s)
x	Concentração em relação à fase sólida isenta de soluto	(kg/s)/(kg/s)
x_0	Concentração inicial em relação à fase sólida isenta de soluto	(kg/s)/(kg/s)
x_k	Concentração do soluto de acesso fácil em relação à fase sólida isenta de soluto	(kg/s)/(kg/s)
y	Concentração na fase solvente em relação ao solvente isento de soluto....	(kg/s)/(kg/s)
y_r	Solubilidade.....	(kg/s)/(kg/s)
Z	Parâmetro do período rápido de extração	(kg/s)/(kg/s)
z_w	Coordenada de contorno entre fase rápida e lenta	m/m
ΔH_f	Entalpia de fusão.....	J/g
ΔH_t	Entalpia de transformação polimórfica	J/g
ε	Porosidade	adimensional
μ	Coeficiente de difusão interna.....	m
ρ	Densidade do solvente	kg/m^3
ρ_s	Densidade absoluta da fase sólida.....	kg/m^3

RESUMO

BRUN, Gerti Weber. **Processo de produção de erva-mate descafeinada e de micro/nanopartículas de cafeína usando dióxido de carbono supercrítico**. Porto Alegre. 2012. Tese. Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Tecnologia de Materiais, PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO RIO GRANDE DO SUL.

A descafeinização de folhas de erva-mate é economicamente atrativa, pois possibilita a obtenção de produtos descafeinados de interesse comercial e cafeína, um bioproduto utilizado na indústria alimentícia e farmacêutica. Neste trabalho utilizaram-se a extração e a precipitação supercrítica com dióxido de carbono para obtenção da erva mate descafeinada e de micro/nanopartículas de cafeína. A erva-mate descafeinada e o extrato foram obtidos a partir da erva-mate seca em uma planta piloto automatizada. Com as curvas de extração procedeu-se a modelagem matemática definindo qual a condição de pressão e temperatura de extração para maior rendimento e menor teor de cafeína na erva-mate. O processo de micronização baseou-se no uso do dióxido de carbono supercrítico como anti-solvente (processo SAS–*Supercritical Antisolvent*) em uma planta piloto semi-contínua. A influência da concentração inicial, temperatura e pressão no rendimento, tamanho de partícula, morfologia e polimorfismo foram analisados. Os resultados demonstraram que o dióxido de carbono é seletivo para a cafeína e que a condição em que se obtém o maior rendimento de extrato e menor quantidade em massa de cafeína na erva-mate extraída é a de 15,0 MPa e 323,15 K. A redução média da cafeína na erva-mate foi de 40%. As partículas de cafeína foram micronizadas a partir de soluções com diclorometano. A análise do produto apresentou uma faixa mais estreita de tamanhos (2,5 a 6,5 μm) em comparação com a cafeína não processada (12,2 μm), com aumento de pureza da cafeína. Foi encontrado também que com adequada seleção dos parâmetros do processo como temperatura, pressão e concentração inicial, é possível produzir partículas de cafeína com distintos graus de cristalinidade e diferentes quantidades dos polimórficos.

Palavras-chave: *Ilex Paraguariensis* St. Hill, cafeína, fluido supercrítico, SAS.

ABSTRACT

BRUN, Gerti Weber. **Production of micro/nanoparticles caffeine from the extract obtained with supercritical carbon dioxide.** Porto Alegre. 2012. PhD Thesis. Graduation Program in Materials Engineering and Technology, PONTIFICAL CATHOLIC UNIVERSITY OF RIO GRANDE DO SUL.

The decaffeination of leaves of yerba mate is economically attractive, since it allows to obtain products of commercial interest and caffeine, a byproduct used in food and pharmaceutical industries. In this work we used the extraction and precipitation with supercritical carbon dioxide to obtain the decaffeinated yerba mate and micro/nanoparticles of the caffeine. The decaffeinated yerba mate and extract were obtained from the dry leaves on automated pilot plant. The mathematical modeling was realized with the extraction curves defining the condition of the pressure and temperature for higher yield and lower caffeine content in yerba mate. For the micronization process based on the use of supercritical carbon dioxide as antisolvent (SAS process, Supercritical AntiSolvent) it was used a semi-continuous pilot plant. The influence of the initial concentration, the temperature and the pressure in the yield, in the particle size, in the morphology and polymorphism were analyzed. The results demonstrated that carbon dioxide is selective for caffeine and the condition which obtains higher yields of extract and less content of the caffeine in the extracted yerba mate was 15.0 MPa and 323,15 K . The average reduction of caffeine in yerba mate was 40%. The particles were micronized from caffeine solution with dichloromethane and the analysis of the product showed a narrower range of sizes (2.5 to 6.5 μm) in comparison to unprocessed caffeine (12.2 μm) with an increment of the purity of caffeine. We also found that with proper selection of process parameters such as temperature, pressure and initial concentration, it is possible to produce particles of caffeine with different degrees of crystallinity and distinct quantities of polymorphics.

Key-words: *Ilex paraguariensis* St. Hill, caffeine, supercritical fluids, SAS.

1. INTRODUÇÃO

A erva-mate é um produto símbolo do Estado do Rio Grande do Sul e sua industrialização tem sido alvo de diferentes atividades relacionadas à inovação tecnológica. A descafeinização de grãos e folhas pode ser economicamente atrativa, pois possibilita a obtenção de produtos descafeinados e cafeína, um bioproduto de valor agregado utilizado em refrigerantes tipo cola e produtos farmacêuticos e cosméticos (Mazzafera,1997). Seguindo esta tendência, a proposta do trabalho engloba a obtenção de novos produtos: erva-mate descafeinada e micro/nanopartículas de cafeína de origem natural. A erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hill.) contém metilxantinas, mais especificamente, uma concentração em massa de aproximadamente 0,5 – 2,0 % de cafeína, 0,01 - 0,08 % de teofilina e 0,03 % de teobromina (Filip et al.,1998; Saldaña et al.,1999, 2002). A presença destes compostos é responsável por uma limitação do consumo de erva-mate por parte de uma parcela da população, justificando, assim, a remoção parcial destes compostos a fim de atingirem-se níveis especificados, segundo a legislação existente que regulamenta a produção de erva-mate descafeinada (Brasil, 2002). Ao mesmo tempo os subprodutos da descafeinização da erva-mate apresentam interesse comercial, pois a cafeína é uma substância importante em diversos processos industriais. A principal ação da cafeína no organismo humano é caracterizada pela propriedade diurética. A cafeína excita o sistema nervoso central, age sobre o sistema muscular circular, principalmente sobre o músculo cardíaco (Alikardis, 1987; Gnoatto et al., 2005) . Em pequenas doses, diminui a fadiga, sendo prejudicial se for ingerida em excesso. Uma concentração elevada de cafeína pode afetar rins, fígado e sistema nervoso (Lieberman et al., 2002). É uma substância com aplicações na composição de suplementos alimentares funcionais, na composição de medicamentos de interesse da indústria farmacêutica, assim como na composição

de produtos cosméticos que têm como objetivo o rejuvenescimento, conforme EMBRAPA (1995).

As tecnologias mais usadas para a descafeinização de grãos são os processos de extração por solventes orgânicos (particularmente acetato de etila e diclorometano) e de extração supercrítica, um método de separação e purificação, que utiliza como solvente o dióxido de carbono (Cassel et al., 2008b; Cassel et al., 2010). Através da extração supercrítica, um produto mais qualificado pode ser obtido porque não é exposto a solventes orgânicos tóxicos, sendo considerada uma tecnologia limpa.

O processamento da cafeína extraída envolve a purificação do extrato e a cristalização do produto. Cafeína pode ser cristalizada por uma evaporação convencional do solvente, porém este método não oferece a possibilidade de purificação do material e controle sobre as propriedades das partículas. O método utilizando um anti-solvente supercrítico é uma alternativa interessante, cujo princípio é colocar em contato uma solução contendo o sólido de interesse solubilizado em solvente orgânico com dióxido de carbono supercrítico favorecendo, em determinadas condições, a precipitação das partículas e extração do solvente (Martín e Cocero, 2008, Brun et al., 2012). Comparativamente ao processo convencional de evaporação, a precipitação por este método possui como vantagens a diminuição ou a eliminação da quantidade de solvente no produto, assim como partículas menores e com uma faixa de distribuição de tamanhos mais estreita. Além destas vantagens, a possibilidade de controlar o polimorfismo pode ser de interesse para aplicações farmacêuticas e cosméticas (Park et al., 2010).

O desenvolvimento de um processo que permita a produção de erva-mate descafeinada em escala piloto e de micro/nanopartículas de cafeína de origem natural associados à operação unitária de extração e precipitação com fluidos supercríticos é o enfoque deste trabalho.

2. OBJETIVOS

O objetivo geral deste trabalho é o desenvolvimento de um processo baseado no uso do dióxido de carbono supercrítico para obtenção de erva-mate descafeinada em escala piloto e de micro/nanopartículas de cafeína.

2.1. Objetivos Específicos

Os objetivos específicos são:

- Determinação das variáveis de processo associadas ao rendimento máximo de extrato e ao teor mínimo de cafeína na erva-mate obtidos na operação de extração supercrítica.
- Modelagem do processo de extração supercrítica utilizando modelo de transferência de massa existente na literatura.
- Obtenção de micro/nanopartículas de cafeína utilizando o processo de precipitação em meio supercrítico (*Supercritical Antisolvent - SAS*).

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. Extração Supercrítica

A extração supercrítica pode ser definida como uma operação de solubilização de determinados compostos de uma matriz sólida ou líquida em um solvente nas condições supercríticas. A extração supercrítica é um método de separação e purificação que apresenta vantagens quando comparada aos métodos tradicionais entre elas a não produção de resíduos, quando se utiliza como solvente o dióxido de carbono, e a possibilidade de processamento em temperaturas mais baixas, o que tem despertado o interesse industrial por esta operação unitária, classificada como uma tecnologia mais limpa. Em relação a temperaturas elevadas, existe o problema de danos causados aos componentes termolábeis e com respeito aos solventes, o fato de ser praticamente impossível remover todo o solvente residual sem um grande dispêndio de operações adicionais, energia e custos (Perrut, 2008).

Este processo tem sido amplamente utilizado na extração de princípios ativos presentes em plantas, visto que o solvente universal no caso da extração supercrítica, dióxido de carbono, apresenta inúmeras vantagens em relação aos solventes orgânicos tradicionais usados em processos de extração, sendo que sua não toxicidade é uma propriedade fundamental quando se trata de produtos naturais.

Entre as vantagens que o fluido supercrítico apresenta, podem-se destacar as seguintes (Taylor, 1996):

- O potencial de solubilização de compostos orgânicos de médios e elevados pesos moleculares;
- Baixas temperaturas críticas de determinados solventes supercríticos, que permitem a extração de produtos termolábeis, sem que ocorra a alteração nas propriedades dos compostos extraídos;
- Facilidade de separação solvente/extrato.

3.1.1 Fluido Supercrítico

Um fluido supercrítico (FSC) é qualquer substância que se encontra acima da temperatura e da pressão críticas, como uma única fase. Normalmente as substâncias são levadas a este estado pela variação de pressão e/ou temperatura. A Figura 3.1 apresenta a região de estado supercrítico para o dióxido de carbono no diagrama pressão *versus* temperatura.

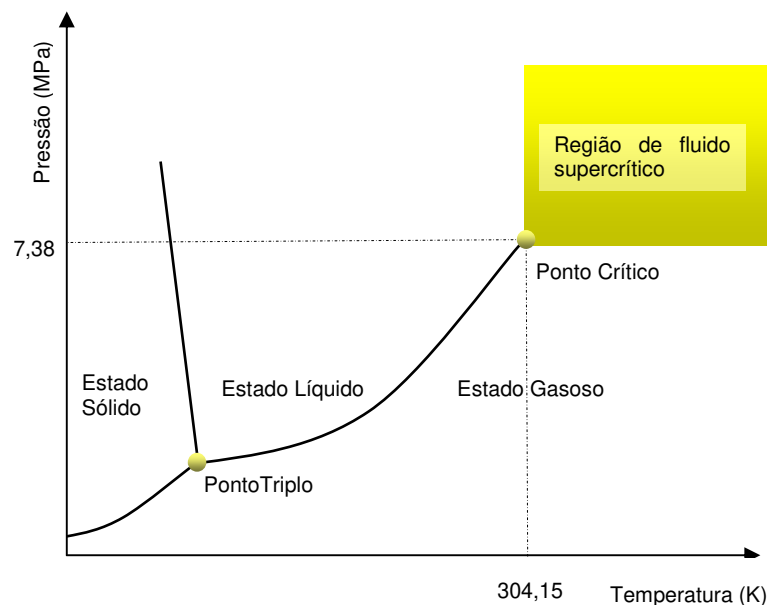


Figura 3.1. Diagrama de fases destacando a região de fluido supercrítico.

O que torna o uso de um FSC atrativo são suas propriedades que facilitam o processamento de materiais. As propriedades dos fluidos no estado supercrítico englobam as vantagens dos fluidos nas fases líquida e vapor, simultaneamente, no que se refere à solubilidade e aos aspectos relacionados às propriedades de transporte (Brennecke e Eckert, 1989).

A solubilidade de um soluto num solvente é governada pelas forças intermoleculares entre moléculas envolvidas. Esta interação soluto/solvente é fortemente promovida pela proximidade entre as moléculas e, portanto, pela densidade da fase fluida. A densidade pode ser alterada pela variação da pressão e/ou temperatura, passando de valores típicos da densidade de um gás para valores

característicos de líquido. Perto do ponto crítico, um pequeno acréscimo na pressão aumenta substancialmente a densidade e conseqüentemente, o fluido apresenta uma nova característica como solvente. Conforme Sun et al. (2002), variações expressivas das propriedades do solvente têm sido obtidas para um único FSC somente com alterações na densidade.

Por outro lado, um FSC possui propriedades características relacionadas à transferência de massa (alta difusividade) e momento com valores próximos a de um gás (baixa viscosidade), o que faz com que se comporte como uma fase extremamente móvel, capaz de se misturar rapidamente com outras substâncias, reduzindo os tempos de processamento como mostra a Tabela 3.1.

Tabela 3.1. Ordens de grandeza de propriedades termofísicas dos fluidos supercríticos

Estado	Densidade (kg. m⁻³)	Viscosidade (N. s. m⁻²)	Coefficiente de difusão (m². s⁻¹)
Gasoso	1 – 100	10 ⁻⁵ – 10 ⁻⁴	10 ⁻⁵ – 10 ⁻⁴
Fluido Supercrítico	250 – 800	10 ⁻⁴ – 10 ⁻³	10 ⁻⁸ – 10 ⁻⁷
Líquido	800 – 1200	10 ⁻³ – 10 ⁻²	10 ⁻⁹ – 10 ⁻⁸

Fonte: Taylor (1996)

Além disso, como não possuem tensão superficial, facilitam a molhabilidade completa de substratos de geometrias complexas, incluindo substratos microporosos e a superfície de nanopartículas (García-Carmona et al., 2002). Os solventes líquidos, em função de sua viscosidade e tensão superficial, podem danificar as superfícies das partículas durante o processamento.

Os solventes mais utilizados pelos processos de extração supercrítica são apresentados na Tabela 3.2, destacando o dióxido de carbono entre os demais, devido às suas propriedades quando em estado supercrítico.

Tabela 3.2. Solventes utilizados em processos de extração supercrítica.

Solvente	T _c (°C)	P _c (bar)
Xenônio	16,6	57,6
Trifluormetano	25,9	46,9
Clorotrifluormetano	29,0	38,7
Dióxido de Carbono	31,0	73,8
Monóxido de Nitrogênio	36,5	71,7
Sulfeto de Hexafluor	45,5	37,1
Clorodifluormetano	96,4	48,5
Propano	96,8	42,4
Amônia	132,4	111,3
Tricloro fluor metano	198,0	43,5
Água	374,0	217,7

Fonte: Taylor (1996)

O FSC mais utilizado é dióxido de carbono (CO₂) devido ao baixo custo, quando comparado aos demais solventes usados em processos de extração supercrítica, não toxicidade, não inflamabilidade para o manuseio e processamento, encontrado no mercado em estado de alta pureza, facilidade para ser reciclado, e seus parâmetros críticos são acessíveis à escala industrial (304 K e 7,38 MPa). A baixa temperatura crítica possibilita o tratamento de produtos que podem sofrer alterações indesejadas com altas temperaturas. O dióxido de carbono é um gás a temperatura ambiente e as substâncias obtidas no processamento podem ser separadas por uma despressurização gerando um produto seco e o reaproveitamento do solvente. Além disto, pode ser obtido de fontes naturais ou como um sub-produto de um processo industrial (Beckman, 2004).

Embora este FSC seja atraente para diferentes aplicações, existe uma barreira técnica em função de sua baixa força como solvente em relação a compostos de alto peso molecular. Com o avanço tecnológico na área de novos materiais e a utilização de co-solventes há uma mudança neste cenário como apresentam Wood et al. (2007) com o recente desenvolvimento de polímeros solúveis em dióxido de carbono mais co-solventes.

Alguns dos aspectos que restringem o uso dos demais solventes presentes na Tabela 3.1 (Taylor, 1996) em processos de extração supercrítica são apresentados a seguir:

- Os solventes contendo clorofluorcarbono causam destruição da camada de ozônio;

- O óxido de nitrogênio apresenta tendência à decomposição espontânea sob certas condições, tornando sua aplicação em processos industriais pouco recomendável;
- O propano pode formar misturas explosivas com o ar sob certas condições;
- O custo do xenônio é proibitivo em escala industrial;
- Os fluidos altamente polares como NH_3 , HCl , SO_2 são tóxicos e reativos, limitando seus usos na condição de co-solventes;
- A água tem as propriedades críticas muito elevadas e em condições supercríticas é altamente oxidante.

3.1.2. O Processo

A extração supercrítica é um método de separação e purificação que em função da não produção de resíduos (Reverchon, 1997; Gaspar et al., 2003) quando se utiliza como solvente o dióxido de carbono, tem despertado o interesse industrial por esta operação unitária, classificada como uma tecnologia mais limpa. Um esquema de uma unidade industrial do processo é apresentado na Figura 3.2.

Os equipamentos básicos de um processo de extração supercrítica consistem em: vaso de extração, compressor ou uma bomba de alta pressão, dois trocadores de calor, válvula de expansão e vaso separador. O processo industrial funciona com recirculação de solvente, ao contrário do que ocorre normalmente em processos em escalas laboratorial e piloto, quando o solvente não recircula. No caso de processos com recirculação são colocados filtros na saída do vaso separador com o objetivo de remover as impurezas do solvente. A alimentação de solvente, quando o processo encontra-se em estado estacionário, ocorre somente para regular a quantidade devido a pequenas perdas durante a operação. A alimentação de solvente, quando o processo encontra-se em estado estacionário, ocorre somente para regular a quantidade devido a pequenas perdas durante a operação. O solvente é pressurizado no compressor (solvente no estado gasoso) ou em uma bomba de alta pressão (solvente no estado líquido). Posteriormente este fluido pressurizado percorre o pré-aquecedor, elevando sua temperatura e promovendo assim a sua passagem do estado líquido para estado supercrítico. Nesta condição, o fluido é introduzido no vaso de extração.

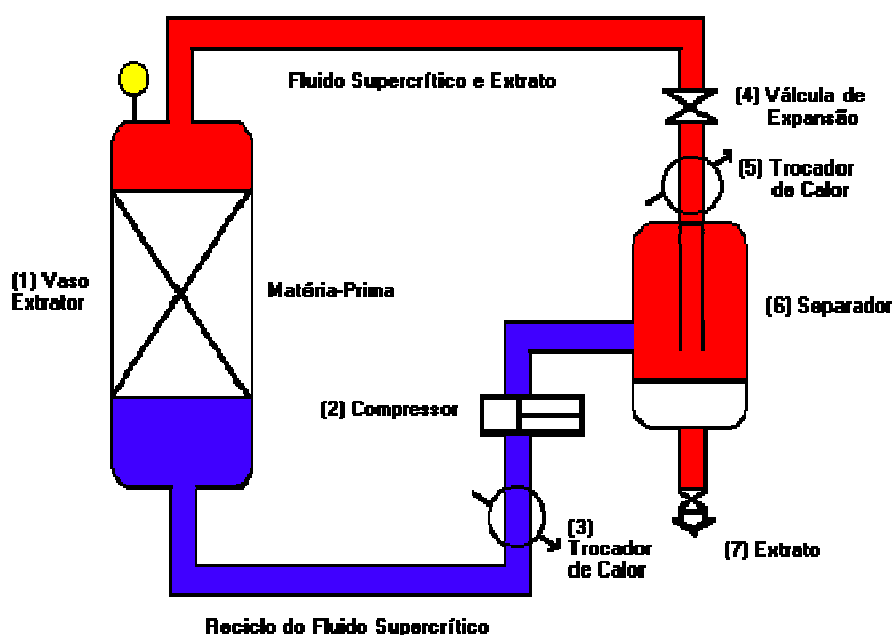


Figura 3.2. Diagrama do processo de extração supercrítica. (Cassel et al., 2008b).

É importante o ajuste da pressão e da temperatura do vaso extrator de modo a garantir uma alta seletividade e um bom rendimento em relação ao soluto de interesse, decorrentes da alteração da densidade do fluido como mencionado anteriormente. Quando se trabalha com co-solvente, o mesmo é alimentado em um reservatório, que é ligado a um vaso de mistura, antes do pré-aquecedor, promovendo homogeneização entre o solvente e o co-solvente. Terminada a fase de extração, o solvente (ou solvente + co-solvente) e o extrato deixam o extrator e passam pela válvula de expansão, quando ocorre uma redução brusca de pressão, assim como uma redução de temperatura devido ao efeito *Joule-Thompson* ocorrido com a expansão na válvula, quando se trabalha com dióxido de carbono. Destaca-se que a parte da segurança do processo é uma atividade prioritária devido ao alto risco de se trabalhar em condições de elevadas pressões. Alarmes devem fazer parte do sistema, acusando valores excedentes de temperatura e pressão. Normalmente são usados discos de ruptura no extrator, no separador, no pré-aquecedor e no reservatório de co-solvente, que suportem condições mais elevadas que os alarmes.

Tradicionalmente, os processos de extração supercrítica encontram-se divididos em três escalas: laboratorial, piloto e industrial (Figura 3.2), sendo que os objetivos de cada uma das escalas são bem definidos quanto aos seus usos. Os equipamentos em escala laboratorial são empregados diretamente na preparação de amostras para a química analítica.

Os processos de extração supercrítica em escala piloto (Figura 3.3) são empregados basicamente no desenvolvimento de processo, visando o *scale-up* para processos industriais e também na produção de extratos de elevado valor agregado que necessitam de quantidades não muito grandes. Entre as aplicações mais comuns se encontram as extrações de aromas e fragrâncias de alto valor agregado como são os casos dos óleos essenciais de rosas e jasmim. Em relação aos processos em grande escala, destacam-se a extração de nicotina do cigarro e na indústria de alimentos os processos de descafeinização de café e chá, assim como, a produção de lúpulo para a produção de cervejas.



Figura 3.3. Unidade piloto de extração supercrítica. (Cassel et al., 2011).

3.1.3. Modelagem Matemática

Diferentes abordagens do problema físico associado ao processo de extração com fluido supercrítico, reguladas por equações, que buscam descrever o que acontece na realidade a partir de um conjunto de hipóteses dão origem a modelos matemáticos. Existem modelos simples e modelos que se complexificam à medida que se tenta incorporar mais informações da realidade em sua concepção. Modelos com diferentes características têm sido usados para representar a extração supercrítica: aqueles que são representados por equações com origem na observação empírica, modelos com origem na equação diferencial de transferência de massa em uma única fase do processo extrativo, modelos estabelecidos via analogia da transferência de massa com fenômenos de transporte de calor, modelos com origem em balanços de massa nas duas fases que constituem o leito de extração, além de combinações entre eles. As diferentes abordagens compõem a literatura em diferentes cenários, tendo em vista as condições de extração, o tipo de produto obtido, o tipo de matéria prima e (ou) solvente utilizado, a forma geométrica do extrator bem como da estrutura vegetal do material usado na extração. Ressalta-se que a habilidade de prever o curso de um processo de extração, conhecendo os parâmetros do processo, é uma poderosa ferramenta no projeto e na otimização de uma planta industrial que faz uso de fluido supercrítico. Portanto a modelagem matemática do sistema é, provavelmente, a mais desafiadora ferramenta preditiva com relação a informações vinculadas ao processo.

Segundo Reverchon (1997), modelos com enfoque empírico são úteis quando a informação sobre os mecanismos de transferência de massa e relações de equilíbrio não está disponível, entretanto tais modelos são pouco mais que uma técnica de interpolação para os dados experimentais. Modelos sustentados pela analogia entre o fenômeno da transferência de calor e a representação do processo de extração também têm sido usados. Estes modelos assumem que a segunda lei de Fick para a difusão (Equação 3.1) descreve o processo de extração supercrítica.

$$\frac{1}{D_{mi}} \frac{\partial}{\partial t} c_i = \nabla^2 c_i \quad (3.1)$$

onde D_{mi} é a difusividade mássica de m em i , t é o tempo e c_i é a concentração molar do componente i .

Reverchon et al. (1993) utilizam o modelo de esfera única, com variação da concentração apenas na direção radial da esfera, para modelar a extração a partir de várias matrizes herbáceas, com dados obtidos em escala laboratorial. Os autores também assumem que uma condição de contorno convectiva se estabelece na superfície da esfera em contato com o fluido, sendo o coeficiente de transferência de massa avaliado a partir de uma correlação disponível na literatura.

Outra classe de modelos matemáticos vem sustentada por equações diferenciais, deduzidas de acordo com os fundamentos da transferência de massa para as duas fases, solvente e matriz sólida, que constituem o leito do extrator. Pode-se dizer que, estes são os modelos mais usados atualmente para representar os processos de extração com fluido supercrítico. Reverchon e Pallado (1996) apresentam um modelo, onde o óleo essencial é considerado um único elemento, sem efeitos de dispersão axial ao longo do leito, supondo que a massa específica e a taxa de escoamento do solvente ao longo do leito são constantes. Com estas hipóteses o balanço de massa em um elemento infinitesimal de altura do leito, gera equações diferenciais parciais que descrevem o fenômeno da transferência de massa nas fases que constituem o extrator, sendo estas escritas da forma da Equação 3.2 para fase fluida e Equação 3 para a fase sólida.

$$uV \frac{\partial c}{\partial h} + \varepsilon V \frac{\partial c}{\partial t} + (1 - \varepsilon)V \frac{\partial q_e}{\partial t} = 0 \quad (3.2)$$

Onde u é a velocidade superficial do solvente, V é o volume do extrator, ε é a porosidade do leito, c é a concentração de extrato na fase fluida (solvente), h é a coordenada espacial ao longo do leito, t é o tempo de extração e q_e é a concentração de extrato na fase sólida.

$$(1 - \varepsilon)V \frac{\partial q_e}{\partial t} = -A_p K_{tm} (q_e - q^*) \quad (3.3)$$

Onde A_p é a superfície total da partícula, K_{tm} é o coeficiente de transferência de massa e q^* é a concentração junto à interface sólido-fluido que de acordo com o

modelo de resistência interna controladora supostamente se encontra em equilíbrio com a fase fluida.

As condições iniciais são: em $t=0$, $c(h,0)=0$ e $q(h,0)=q_0$, onde q_0 é a concentração inicial do soluto na fase sólida e a condição de contorno é: $h=0$, $c(0,t)=0$. O balanço de massa pode ser solucionado se uma relação de equilíbrio para descrever o fenômeno na interface sólido-fluido $q^*(q)$ for conhecida. Frequentemente uma relação linear é assumida devido à falta de informações experimentais disponíveis na literatura, conforme equação 3.4,

$$c = K_p q^* \quad (3.4)$$

onde K_p é o coeficiente de partição volumétrica para a relação de equilíbrio.

Reverchon e Pallado (1996) definem uma quantidade dimensional dada pela Equação 3.5:

$$t_i = (1 - \varepsilon)V / (A_p K_{tm}) \quad (3.5)$$

sendo t_i o tempo de difusão interna. A Equação 3.3 pode então ser escrita como

$$\frac{\partial q}{\partial t} = -\frac{1}{t_i}(q_e - q^*) \quad (3.6)$$

Assumindo a hipótese de Villiermaux (1987), o tempo de difusão interna pode ser escrito em termos do coeficiente de difusão interna conforme Equação 7,

$$t_i = \mu \frac{l^2}{D_i} \quad (3.7)$$

onde μ é um coeficiente que depende da geometria da partícula, sendo igual a 3/4 para esferas, 1/3 para placas e 1/2 para cilindros. A letra l indica a dimensão característica, que é determinada pela razão entre o volume e a superfície da partícula.

Vargas et al. (2006) estudaram a obtenção de óleo essencial a partir da extração supercrítica de carqueja (*Baccharis trimera*) usando CO₂ supercrítico em escala laboratorial e empregaram o modelo apresentado anteriormente para produzir a simulação dos dados mediante o ajuste dos parâmetros desconhecidos do modelo. As extrações foram realizadas a 9 MPa (90 bar) com temperatura variando entre 313,5 K e 343,15 K. Os principais componentes identificados na amostra de óleo essencial foram d-limoneno; trans- β -ocimeno; germacreno; acetato de carquejila; β -elemeno; δ -cadineno; palustrol e β -eudesmol.

Outro modelo de extração, onde o balanço de massa é realizado no leito do extrator, foi abordado por Sovová (1994). O modelo consiste em um leito fixo para os sólidos com o solvente escoando continuamente. Admite-se que o perfil de velocidade do fluido seja plano, onde o solvente escoar com velocidade U através do leito de plantas depositadas em um extrator cilíndrico. A operação é considerada isotérmica e isobárica. O leito de sólidos é considerado homogêneo tanto com relação ao tamanho da partícula como em relação à distribuição inicial de soluto no material que constitui o leito. Admite-se que o soluto depositado nas células das plantas é protegido pelas paredes destas células. Entretanto, algumas destas paredes são quebradas após a moagem, de modo que o soluto fica diretamente exposto ao solvente que passa pelo extrator. Desconsideram-se os efeitos da difusão na direção axial do extrator e admite-se que a transferência de massa na fase fluida ocorra apenas por convecção. A massa de óleo inicialmente contida na fase sólida consiste na massa de soluto facilmente acessível e na massa de soluto de difícil acesso por se encontrar ainda protegido por paredes celulares não rompidas e localizadas em posições mais internas da estrutura vegetal. Com base nestas hipóteses a autora constrói um modelo matemático e apresenta uma solução analítica (Sovová, 1994).

A massa de óleo contida inicialmente na fase sólida, O , consiste da massa de soluto facilmente acessível, P , e da massa de soluto de difícil acesso internamente na fase sólida, D . A massa de sólido isenta de soluto, N , mantém-se constante durante a extração. As quantidades de soluto são relacionadas a esta quantidade através das concentrações iniciais pela Equação 3.8.

$$x(t=0) = x_0 = O/N = x_p + x_k = P/N + D/N \quad (3.8)$$

O balanço material em um elemento de volume do leito é dado por:

$$-\rho_s(1-\varepsilon)\frac{\partial x}{\partial t} = J(x, y) \quad (3.9)$$

e

$$\rho\varepsilon\frac{\partial y}{\partial t} + \rho U\frac{\partial y}{\partial h} = J(x, y) \quad (3.10)$$

onde ε é a porosidade do leito, ρ_s é a densidade absoluta da fase sólida, ρ é a densidade do leito, h é a direção axial, J é a taxa de massa, x é a concentração em relação à fase sólida isenta de soluto e y is a concentração na fase solvente em relação ao solvente isento de soluto. Sovová (1994) resolve o conjunto de equações desprezando o primeiro termo no balanço de massa da fase líquida (na Equação 3.10), assumindo como condição inicial e de contorno:

$$x(h, t=0) = x_0$$

e

$$y(h=0, t) = 0$$

e ainda $J(x, y)$ como uma função da diferença de concentração utilizando o coeficiente de transferência de massa local para ambas fases.

Devido à hipótese do soluto acessível e inacessível nas plantas, a solução obtida contempla três períodos distintos (Ferreira et al., 1999), conforme indicam as Equações 3.11, 3.12 e 3.13. O primeiro período contempla a extração do soluto acessível, no segundo período, o soluto acessível começa a diminuir e o terceiro período tende-se a um valor assintótico:

$$e = qy_r[1 - \exp(-Z)] \quad (3.11)$$

$$e = y_r [q - q_m \exp(z_w - Z)] \quad (3.12)$$

$$e = x_0 - \frac{y_r}{W} \ln \{1 + [\exp(Wx_0 / y_r) - 1] \exp[W(q_m - q)] x_k / x_0\} \quad (3.13)$$

e

$$W = \frac{k_s a_0}{\dot{q}(1 - \varepsilon)} = \frac{S}{\dot{q}} \quad (3.14)$$

$$Z = \frac{k_f a_0 \rho}{(1 - \varepsilon) \dot{q} \rho_s} = \frac{F}{\dot{q}} \quad (3.15)$$

$$z_w = \frac{Z y_r}{W x_0} \ln \frac{x_0 \exp[W(q - q_m)] - x_k}{x_0 - x_k} \quad (3.16)$$

$$q_m = \frac{(x_0 - x_k)}{y_r Z} \quad (3.17)$$

$$q_n = q_m + \frac{1}{W} \ln \frac{x_k + (x_0 - x_k) \exp[Wx_0 / y_r]}{x_0} \quad (3.18)$$

onde e é a massa do extrato em relação à N , q ($= Q/M$) é a quantidade específica de solvente e é obtido multiplicando o tempo pela taxa de massa de solvente em relação a N (\dot{q}), Q é a massa de solvente, N é a massa de sólido isento de soluto, Z e F são os parâmetros do período rápido de extração, z_w é a coordenada adimensional de contorno entre a extração rápida e lenta, y_r é a solubilidade, x_0 é a concentração inicial em relação à fase sólida isenta de soluto, W e S são os parâmetros da fase

lenta de extração. O m subscrito refere-se ao início da extração no interior das partículas e o n subscrito refere-se ao fim da extração do soluto de fácil acesso. A Equação 3.11 é válida para $q < q_m$; durante o período em que o soluto de fácil acesso é extraído. A Equação 3.12 é válida para $q_m \leq q < q_n$; durante o período em que o soluto acessível e inacessível é extraído em diferentes regiões do leito. A Equação 3.13 é válida para $q \geq q_n$, que se refere ao último período quando somente o soluto inacessível é extraído.

Sob diferentes hipóteses, outros modelos têm sido desenvolvidos, como os publicados por Sovová (1994) e Reverchon e Pallado (1996). Frequentemente, modelos deste tipo exigem que seus parâmetros sejam ajustados a partir de informações experimentais (Sovová et al., 1994; Reis-Vasco et al., 2000; Vargas et al., 2006). Os dados experimentais resultantes de processos de extração supercrítica mostram a existência de dois períodos significativos distintos durante o curso da extração. Este fato permite o uso de um modelo matemático mais simples que os apresentados anteriormente para representar os dados experimentais, empregando duas linhas retas. A primeira etapa consiste na retirada do soluto livre nas cavidades abertas da matriz vegetal e sua concentração de equilíbrio com a fase fluida corresponde à solubilidade do soluto puro no solvente (Sovová et al., 2007). No segundo período, o soluto livre já foi extraído, restando o soluto mais internalizado na estrutura vegetal, definido como soluto de difícil acesso que é solubilizado pelo solvente na condição supercrítica, nesta etapa da extração a concentração de equilíbrio com a fase fluida é menor. Esta situação foi observada em vários estudos envolvendo processos desta natureza (Perrut et al., 1997; Sovová et al., 2007; Cassel et al., 2010). Este fato permite o uso deste modelo matemático, onde a concentração de equilíbrio na fase fluida pode ser estimada a partir da declividade das curvas de extração nos dois períodos.

Sovová et al. (2007) apresentaram a seguinte formulação matemática para descrever o processo de extração:

$$e = S_1 q, \quad \text{para } q \leq q_1 = \frac{e_1}{S_1} \quad (3.18)$$

$$e = e_1 + S_2(q - q_1), \text{ para } q_1 < q \leq q_1 + \frac{(e_\infty - e_1)}{S_2} \quad (3.19)$$

onde e é o rendimento da extração, q é a razão acumulada de solvente alimentado ao sistema, e_1 é o rendimento da extração ao final do primeiro período, q_1 é a razão acumulada de solvente alimentado ao sistema ao final do primeiro período, S_1 é a solubilidade do soluto no solvente, S_2 é a concentração de equilíbrio do soluto internalizado na matriz vegetal e e_∞ é o rendimento assintótico para um teor inicial de soluto existente na planta. A interação entre o soluto e a matriz vegetal é descrita por um comportamento linear caracterizada por um coeficiente de partição K representado pela Equação 3.20. A modelagem matemática requer dois parâmetros a serem ajustados como mostra a Figura 3.4. Este modelo matemático foi utilizado neste trabalho para representar a curva de extração.

$$K = \frac{S_2}{x_1} = \frac{S_2}{(e_\infty - e_1)} \quad (3.20)$$

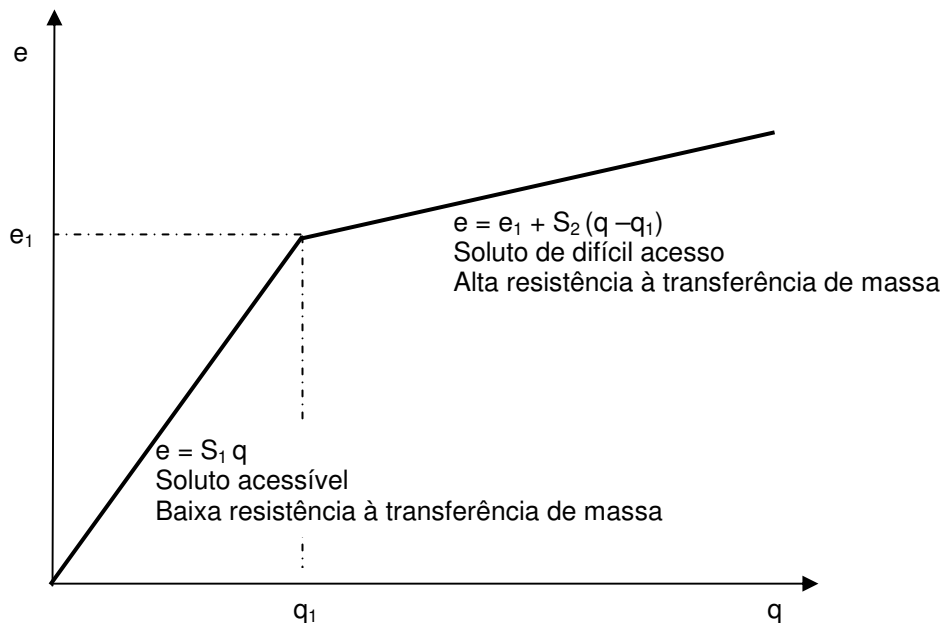


Figura 3.4 Representação esquemática do modelo matemático de extração.

3.2. Obtenção de Micro/Nanopartículas

Micro e nanopartículas têm sido alvos do interesse industrial em função das propriedades diferenciadas relacionadas à razão superfície e volume. Por exemplo, produtos farmacêuticos podem apresentar desempenho superior se utilizados na forma de nanopartículas. A definição de nanopartículas tem sido muito debatida e dependendo do campo de aplicação as restrições são propostas. Reverchon e Adami (2006) realizaram uma revisão sobre aplicação de fluidos supercríticos em nanotecnologia, discutindo definições de nanopartículas e selecionaram o valor de 200 nm como dimensão máxima para sua caracterização.

As propriedades físico-químicas dos fluidos supercríticos oferecem alternativas de estratégias na obtenção de partículas. Algumas etapas posteriores nos processos convencionais (por exemplo, moagem e remoção de solventes por evaporação ou extração) podem ser evitadas com o uso deste tipo de tecnologia. Muitas técnicas foram propostas para sua obtenção baseadas na diminuição do diâmetro original (*top down*) bem como na síntese ou produção de novas partículas (*bottom up*). Na literatura existem revisões sobre as técnicas utilizadas em obtenção de materiais com fluidos supercríticos nas mais variadas formas e faixas de distribuição granulométrica como partículas, micro-esferas, fibras, dentre outras (Jung e Perrut, 2001; Hakuta et al., 2003; Shariati e Peters, 2003; Vemavarapu et al., 2005; Reverchon e Adami, 2006). Bahrami e Ranjbarian (2007) sistematizaram os processos para a produção de compósitos em função do papel do FSC (no caso, CO₂) no processo: solvente, anti-solvente, soluto e meio de reação. A utilização de uma ou outra estratégia do papel desempenhado pelo fluido supercrítico depende fundamentalmente da solubilidade do soluto na mistura soluto/solvente.

O método ideal deve ser versátil, aplicável à larga faixa de materiais, facilmente implementável e de baixo custo. Mas o mais importante é que permita o controle do tamanho, distribuição granulométrica, forma, cristalinidade e propriedades superficiais das partículas, além de possibilitar o *scale-up*.

3.2.1. Processos de Obtenção de Partículas

Fluidos supercríticos têm sido utilizados como meio de obtenção de micro e nanopartículas em função de suas propriedades anteriormente descritas. De uma forma geral, quando uma solução supercrítica com um soluto dissolvido é expandida, a densidade do solvente decresce e o soluto torna-se insolúvel no gás em condições não-supercríticas formando pequenas partículas.

3.2.1.1. Expansão Rápida em Meio Supercrítico

A expansão rápida em meio supercrítico, denominado na literatura por RESS (*Rapid Expansion of Supercritical Solutions*) consiste na saturação de um fluido supercrítico com um substrato e posterior despressurização desta solução através de um bocal ou capilar aquecido numa câmara de baixa pressão. Esta despressurização produz uma rápida nucleação do substrato na forma de partículas muito pequenas que são coletadas em um vaso de expansão. A Figura 3.5 apresenta um esquema conceitual do processo.

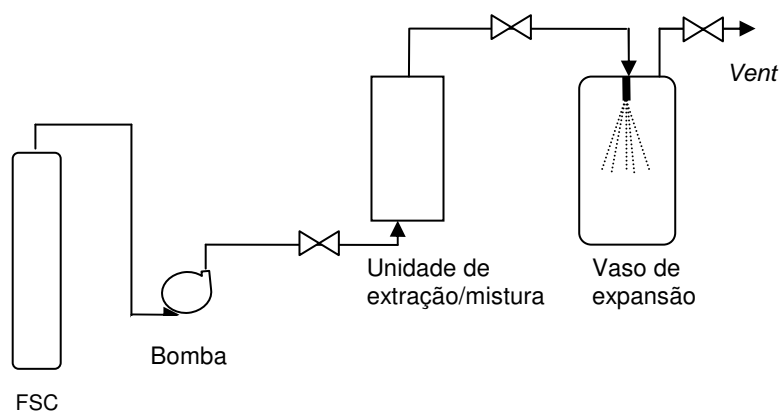


Figura 3.5. Diagrama conceitual do processo RESS.

Weber e Thies (2002) descrevem o processo em quatro etapas: preparação da solução supercrítica, ajuste das condições da pré-expansão, expansão rápida através de um orifício ou capilar, recuperação do produto na câmara de expansão.

A preparação da solução depende das propriedades do soluto e do solvente. Se o fluido supercrítico for líquido na temperatura ambiente, a preparação exige tão somente uma operação de mistura. Caso contrário deve-se comprimir o gás e fazê-lo passar por uma coluna recheada pelo sólido de interesse. As condições de operação, temperatura e pressão, devem ser ajustadas: a pressão do fluido é definida pela bomba e mantida constante e a temperatura pelo aquecimento do equipamento de expansão. O aquecimento do equipamento aumenta a solubilidade do soluto no solvente e assegura que não haja precipitação em seção anterior à de expansão rápida (antes do bocal). Taylor (1996) descreve o equipamento e acessórios sugerindo formatos, instrumentação necessária e material para a construção dos mesmos. Vemavarapu et al. (2005) fornecem informações e recursos necessários para iniciar pesquisa, em escala laboratorial, utilizando fluidos supercríticos.

Após o ajuste das condições de pré-expansão, ocorre a expansão da solução através de um orifício ou capilar. O decréscimo brusco da pressão resulta na diminuição da densidade do fluido e conseqüente nucleação do soluto. O processo de despressurização transfere alta energia cinética às partículas, necessitando de espaço para que não ocorra aglomeração.

A morfologia do material resultante depende da estrutura química inicial, de variáveis do processo como temperatura e queda de pressão e da geometria do equipamento como forma do bocal de expansão (Lele e Shine, 1992). A formação dos sólidos ocorre através de dois mecanismos: nucleação e crescimento dos grãos. A taxa dos dois mecanismos é função da concentração do soluto ou grau de supersaturação. Sabe-se que com o aumento do grau de saturação, o tamanho da partícula resultante diminui, pois a nucleação é dominante. Se o grau de saturação é menor, o mecanismo de crescimento do grão é dominante fazendo com que o tamanho da partícula seja maior. Arai et al. (2002) apresentam dados comparativos da taxa de crescimento de partículas de naftaleno utilizando distintos métodos com FSCs. Domingo et al. (1999) estudaram a distribuição de tamanho das partículas obtidas pela expansão de misturas ternárias com o emprego de um co-soluto, já que modifica a solubilidade do soluto na fase supercrítica. Thakur e Gupta (2006), com o intuito de aumentar a solubilidade do soluto em CO₂, utilizaram um co-soluto sólido e verificaram que além de atingir seu objetivo também diminuiu a faixa de tamanho das partículas obtidas.

O equipamento necessário para o RESS é relativamente simples apesar da coleta das partículas não ser fácil. Mas a aplicação é limitada pela baixa solubilidade dos extratos mais atrativos comercialmente. O dióxido de carbono supercrítico pode solubilizar compostos orgânicos de baixo peso molecular como éteres, ésteres, epóxidos, hidrocarboneto e aromáticos (Sun et al., 2002). A utilização de pequenas quantidades (5 a 10 % em massa) de um co-solvente (etanol, acetona) pode ser considerada para aumentar a solubilidade de moléculas polares, ainda que dificulte as condições do processo, pois há a necessidade de separá-lo no produto final, além de tornar o processo mais caro (Ting et al., 1993). Yildiz et al. (2007) compararam o tamanho das partículas de ácido salicílico obtidas com a utilização de CO₂ e de uma mistura de CO₂-etanol e, neste caso, verificou-se o aumento do tamanho médio com a utilização do co-solvente.

Segundo Jung e Perrut (2001), RESS deve sempre ser considerado como primeira opção por ser de menor custo. Para a extrapolação em termos de produção é sugerida a utilização de múltiplos bocais, o que dificultaria o controle da distribuição granulométrica das partículas. Em relação ao *scale-up* do processo, Vemavarapu et al. (2005) indicam como limitação dos compostos em FSC o caso da baixa solubilidade.

Algumas modificações no processo convencional foram propostas. Bahrami e Ranjbarian (2007) descrevem o processo RESS em modos semi-contínuo e batelada, além de apresentar o RESS acoplado a uma coluna de fluidização para evitar a aglomeração de partículas. Chiou et al. (2007) desenvolveram um processo em que é realizada uma pré-filtração da solução supercrítica com resultados positivos em relação à diminuição do tamanho da partícula e consequente aumento na solubilidade da substância e do tempo de solubilização.

3.2.1.2. Anti-solvente Supercrítico e Processos Correlatos

A baixa solubilidade de certos solutos no dióxido de carbono supercrítico pode ser explorada para o processamento destes materiais utilizando o fluido supercrítico como antisolvente adicionando-o a uma solução líquida convencional contendo o soluto. Neste conceito de processo para obtenção de partículas, o fluido supercrítico é utilizado para causar a precipitação de um substrato previamente dissolvido em

solvente líquido. Tai e Cheng (1998) apresentam como critério fundamental para a ocorrência do processo que o anti-solvente deva ser muito solúvel no solvente enquanto o soluto deve ser insolúvel ou pouco solúvel no anti-solvente (no caso, o FSC). Sob estas condições, uma transferência de massa simultânea ocorre em dois sentidos: a rápida difusão do fluido supercrítico na solução líquida e do solvente na fase supercrítica. A difusão do fluido supercrítico na solução reduz o poder do solvente líquido polar, no qual o substrato está dissolvido, pela saturação com um fluido supercrítico causando a precipitação ou recristalização. Segundo Reverchon et al. (2003a), a formação de uma única fase supercrítica é a chave para a formação de partículas.

Em traços gerais, a nucleação tem início quando agregados de moléculas presentes em solução atingem uma determinada dimensão crítica. Quando esta dimensão é atingida, a partícula cresce. À partícula de dimensão crítica, dá-se o nome de núcleo e a etapa de formação destes núcleos é designada de nucleação. A segunda etapa deste processo é o crescimento, durante o qual não se formam mais núcleos e o que ocorre é o crescimento dos que se formaram na etapa anterior (Shekunov e York, 2000). A força motriz para que se dê a precipitação do soluto é a supersaturação. E esta ocorre devido à difusão do anti-solvente nas gotas atomizadas do solvente contendo o soluto. A supersaturação é definida como a relação entre a fração molar da substância no sistema solvente/antisolvente e a fração molar de equilíbrio da substância no mesmo sistema e nas mesmas condições de pressão e temperatura (Equação 3.21).

$$S = \frac{X_{\text{substância}}}{X_{\text{substância}}^{\text{equilíbrio}}} \quad (3.21)$$

Assim que a supersaturação se torna suficientemente elevada num determinado elemento de volume, a nucleação tem início e a sua velocidade aumenta com o aumento da supersaturação. Assim, para maior grau de supersaturação, formam-se mais núcleos e menores partículas por unidade de tempo.

Jung e Perrut (2001) descrevem três caminhos para a obtenção das partículas: GAS/SAS (*Gas anti-solvent/supercritical anti-solvent*), ASES (*aerosol solvent extraction system*), também conhecido como PCA (*Precipitation with a compressed*

anti-solvent) e SEDS (*Solution enhanced dispersion by supercritical fluids*). Reverchon e Adami (2006) citam ainda um quarto caminho que é SAS-EM (*Supercritical anti-solvent with enhanced mass transfer*). Os processos GAS e SAS diferem somente pela forma como é conduzido o processo, em batelada ou semi-contínuo, respectivamente. A diferença principal entre os vários tipos de processos é o equipamento e o modo de injeção da solução no vaso de precipitação. A Figura 3.6 apresenta um esquema conceitual do processo com anti-solvente.

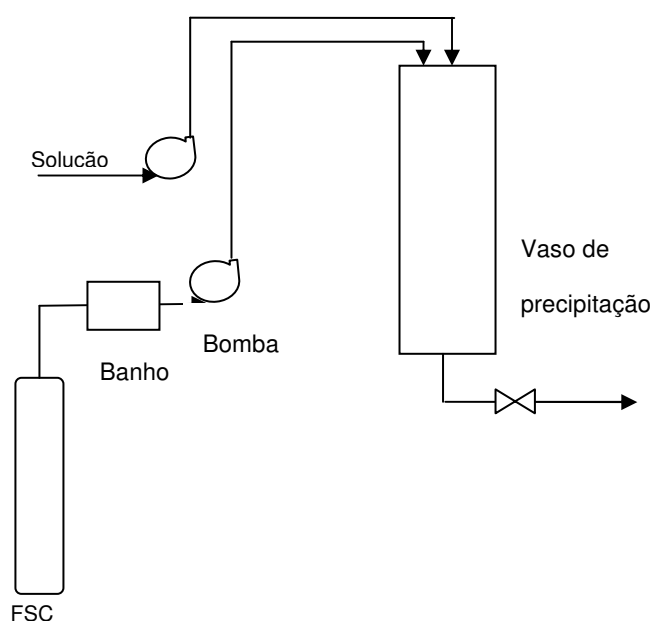


Figura 3.6. Diagrama conceitual do processo com anti-solvente.

No processo em batelada (GAS) o vaso é carregado com uma dada quantidade da solução líquida e o anti-solvente supercrítico é adicionado até atingir a pressão pré-estabelecida. Esta dissolução é acompanhada com uma expansão do volume e decréscimo da densidade e poder de solvência do solvente causando a supersaturação da solução e conseqüentemente a precipitação do soluto. No processo semi-contínuo (SAS), a solução líquida e o anti-solvente são continuamente adicionados (em paralelo ou contracorrente). A mistura das duas correntes causa a precipitação do soluto devida ao efeito de antisolvente do CO_2 . Para não usar um equipamento de mistura, a operação se dá a pressões maiores (9-15 MPa) garantindo a mescla entre soluto/solvente/anti-solvente. Após um determinado tempo de residência, a solução é drenada e as partículas precipitadas são separadas.

Adami et al. (2007) propuseram uma modificação no vaso de precipitação com a inserção de duas janelas de quartzo que permitem visualizar a evolução do processo de precipitação.

O processo ASES consiste na injeção da solução através de um bocal de parede muito fina com a formação de pequenas gotículas no vaso de precipitação com FSC comprimido. Isto resulta na supersaturação das gotas de líquido e ocorre uma instantânea precipitação do soluto como partículas finas.

No caso do SEDS, o injetor é coaxial permitindo introduzir a solução com o substrato de interesse e o anti-solvente (fluido supercrítico) simultaneamente no vaso de precipitação onde a temperatura e a pressão são controladas. A alta velocidade do fluido supercrítico leva à formação de pequenas partículas em função da extração do solvente da solução pelo FSC.

O diferencial do processo SAS-EM está na utilização de um defletor que vibra a frequências ultra-sônicas propiciando a atomização da solução. Shariati e Peters (2003) afirmam que o campo ultra-sônico aumenta a turbulência e a mistura entre as gotas da solução e o anti-solvente o que resulta numa alta transferência de massa entre as fases líquida e gasosa.

Segundo Sun et al. (2002) o tamanho e a distribuição granulométrica das partículas dependem: da seleção do sistema solução/anti-solvente, da concentração do soluto, da quantidade relativa de solvente e anti-solvente, da taxa de adição de anti-solvente e do grau de mistura. O tamanho das partículas pode ser controlado pelo ajuste da pressão ou da temperatura do anti-solvente ou variação do tamanho do bocal de expansão.

A taxa de cristalização pode ser controlada pela pressurização do anti-solvente. Arai et al. (2002) afirmam que neste método é essencial o caminho da pressurização, pois determina a mudança no grau de supersaturação que é a força motriz da nucleação e cristalização. Com taxa de pressurização alta e instantânea obtêm-se partículas menores, sendo o tamanho das partículas é $1/3$ ou $1/2$ das partículas obtidas por pressurização lenta. Com pressurização lenta em degraus, sempre aguardando atingir o estado estacionário para aumentar mais um delta da pressão, ocorre uma taxa lenta de supersaturação e, conseqüentemente tamanho maior da partícula. Analisando a pressurização, duas condições extremas podem ser selecionadas para o processamento: lenta e rápida. Pode-se ter, ainda, uma condição

mista. Park e Yeo (2008) utilizaram três taxas de injeção de fluido supercrítico denominadas de baixa (0,4 bar/min), média (1,7 bar/min) e alta (10,3 bar/min) para estudar as modificações decorrentes nas propriedades físicas da cafeína. Encontraram que a taxas de injeção mais altas o tamanho resultante da partícula é menor em concordância com o estudo de Arai et al. (2002). Neste caso, é possível separar e controlar os processos de nucleação e de crescimento, levando a uma vantagem no controle de tamanho da partícula. Sob este ponto de vista, pressão alta é imposta instantaneamente para acelerar a nucleação e como segundo passo, a pressão é reduzida para controlar a taxa de crescimento dos cristais.

Segundo Reverchon e Adami (2006), o injetor da solução líquida é muito importante, pois produz o jato e a formação de pequenas gotas para proporcionar grande transferência de massa na superfície entre líquido e fase gasosa. O equilíbrio líquido-vapor a altas pressões e a taxa de transferência de massa são variáveis relevantes. O equilíbrio líquido-vapor do sistema ternário soluto/solvente/anti-solvente supercrítico e a posição do ponto de operação no processo podem ser decisivos para o sucesso do processo. O limite do processo é a dificuldade de prever modificações no equilíbrio induzidas pela presença do soluto no sistema binário líquido-FSC. Um comportamento complexo de fases pode ser gerado e no caso mais simples, o ponto crítico da mistura pode alcançar pressões altas. Desta forma pressões muito elevadas são requeridas para obter uma fase única para produzir com sucesso nanopartículas. A presença do soluto pode induzir modificações no diagrama de equilíbrio do sistema binário solvente-fluido supercrítico e, portanto modifica o mecanismo de injeção. Estas modificações raramente têm sido medidas e são dificilmente mensuráveis. Entretanto quando o soluto tem poucas interações e baixa solubilidade no fluido supercrítico, a influência no diagrama de fases pode ser pequena. Em sistemas com interações fortes entre o soluto e o fluido supercrítico podem acontecer modificações drásticas no diagrama de fases.

De acordo com Reverchon (1999) quando duas fases (fluido supercrítico e solução solvente mais soluto) estão simultaneamente presentes diferentes morfologias podem ser observadas: cristais provenientes da fase líquida e sólidos amorfos da fase rica em FSC. Gokhale et al. (2007) analisaram o processo de transferência de massa em experimentos que foram conduzidos utilizando uma mistura de solventes com alto e baixo poder de solvência, diferentes comprimentos e

diâmetros de bocais e velocidades do fluido no jato. Verificaram que, com o decréscimo do diâmetro do bocal e acréscimo na velocidade do jato, ocorre a redução do tamanho da partícula, mas possui como limite a velocidade em que o jato se aproxima de um *spray*.

Reverchon e De Marco (2011b) utilizaram o processo SAS para obter partículas (nano, micro, micro-expandidas) a partir de uma droga modelo, acetato de gadolínio, com o solvente dimetilsulfóxido para estudar a dependência do diâmetro das partículas e morfologia com alguns parâmetros do processo (pressão, temperatura e concentração da solução inicial). O trabalho mostra a formação de micro e nanopartículas dependendo de valores específicos de cada um dos parâmetros. Uma explicação para os resultados é proposta em termos da competição entre duas fases características do processo SAS que podem controlar o processo de precipitação:

1. A fase em que o jato se dispersa e forma gotas do líquido, responsável pela formação de micropartículas.

2. A fase em que a tensão superficial desaparece antes da dispersão do jato, o que induz a mistura do fluido supercrítico com a solução e a precipitação das nanopartículas.

Os mecanismos de precipitação podem ser modulados variando um dos parâmetros por vez, selecionando assim o diâmetro requerido para uma determinada aplicação.

Martín e Cocero (2008) apresentam uma revisão sobre os fundamentos e mecanismos dos processos com fluidos supercríticos onde apontam que a maioria dos estudos sobre mecânica dos fluidos do SAS considera que o jato do solvente orgânico se comporta como um jato líquido num gás em condições subcríticas. Mas, em condições de miscibilidade (acima do ponto crítico da mistura solvente orgânico+fluido supercrítico) a tensão superficial decresce a zero em distâncias menores que os comprimentos característicos da dispersão do jato. Assim gotas discretas nunca são formadas em condições supercríticas e o jato dispersa como uma pluma gasosa. Em concordância com a descrição destes dois mecanismos de mecânica dos fluidos, Reverchon et al. (2003a) encontraram que quando a operação se dá acima da pressão do ponto crítico da mistura, os parâmetros que afetam a mistura entre as duas correntes como o design do bocal e do precipitador ou o

número de Reynolds no bocal tem um efeito negligenciável na precipitação. Isto indica que nestas condições a mistura entre a solução e o fluido supercrítico ocorre mais rápida que a precipitação. Mas a pressões mais baixas do ponto crítico da mistura, há uma influência significativa destes efeitos. Além do mais, em pressões mais baixas que a do ponto crítico, mudanças na morfologia da partícula são observadas e às vezes as partículas são aglomeradas formando esferas vazias indicando que a atomização e precipitação ocorrem através da formação de gotas.

A distinção entre os dois regimes de operação deve ser considerada para o *scale-up* do processo: em condições de miscibilidade, o parâmetro que mais influencia é a concentração inicial em detrimento aos parâmetros de mecânica dos fluidos (design do bocal e tempo de residência) e em condições de miscibilidade parcial, o *scale-up* do bocal é muito importante (Reverchon et al., 2003b).

Além da micronização das partículas, o processo SAS tem sido utilizado para estudar as mudanças introduzidas na morfologia das partículas. Polimorfismos são muito importantes para indústria farmacêutica de um modo geral. Primeiro porque diferentes estruturas cristalinas da mesma molécula possuem diferentes propriedades como estabilidade ao armazenamento, compressibilidade e taxa de dissolução e também porque patentear outras formas cristalinas é a estratégia típica usada pelas companhias para estender a patente. A habilidade de FSC induzir o polimorfismo em drogas farmacêuticas é conhecida. Muitos autores têm mostrado a habilidade da cristalização por SAS de produzir novos polimorfismos com propriedades farmacêuticas promissoras (Roy et al., 2007; Bettini et al., 2010). Rodrigues et al (2011) utilizaram dióxido de carbono supercrítico para obtenção de polimórficos de teofilina e nitrogênio como um controle negativo, isto é, para o processamento não-antisolvente a altas pressões com um processo contínuo alternativo ao convencional SAS. Partículas de teofilina produzidas com fluido supercrítico são polimórficas e cristais (não polimórficos) são obtidos com o nitrogênio.

Park e Yeo (2008) investigaram o efeito dos parâmetros do processo GAS nas propriedades físicas da cafeína, além da alteração e distribuição de tamanho das partículas, utilizando dióxido de carbono supercrítico. Além disto, foi estudado como os parâmetros afetam o comportamento do cristal, estabilidade térmica e a cristalinidade da cafeína recristalizada bem como o efeito de um retardador de cristalização. Foram utilizados dois solventes orgânicos: diclorometano e

triclorometano a pressão constante de 95 bar e temperaturas na faixa de 20 a 50°C. Verificaram que, com o processo GAS, para temperaturas menores, ocorre um maior ordenamento no arranjo das moléculas aumentando a cristalinidade e o tamanho da partícula. Neste trabalho a justificativa para a escolha da cafeína como soluto é por possuir propriedade hidrofílica já que o processo GAS estava focado em substâncias hidrofóbicas. A utilização de substâncias hidrofóbicas se deve ao fato de que os solventes orgânicos possuem alta solubilidade para este tipo de composto possibilitando a produção em alta escala de drogas. Park e Yeo (2008) investigam como os parâmetros do processo afetam as propriedades desta partícula hidrofílica.

Reverchon et al. (2007) afirmavam que havia poucos trabalhos sobre a produção de nanopartículas por este método apesar do interesse industrial. Neste trabalho são apresentados resultados de experimentos com alguns solutos e diferentes solventes em diferentes condições de operação para produzir nanopartículas. Reverchon e De Marco (2011b) apresentam uma listagem com vários produtos (fármacos, proteínas, enzimas, condutores, polímeros, biopolímeros e materiais colorantes) obtidos através do processo SAS indicando o solvente, a pressão, a temperatura utilizados, bem como, a morfologia e o tamanho da partícula obtida, evidenciando o interesse por este processo nos últimos anos. A possibilidade de determinação das condições e parâmetros para o controle do tamanho e distribuição granulométrica das partículas demonstra a viabilidade do processo SAS (Reverchon e De Marco, 2011a). Resultados importantes foram apresentados por Adami et al. (2007), que utilizaram o GAS e SAS para obtenção de um mesmo polímero. Experimentos demonstraram que, apesar do princípio ser o mesmo, o SAS produz partículas menores que o GAS indicando que o importante é o caminho de formação das partículas. Os resultados obtidos com o processo SAS são independentes da planta utilizada e a morfologia das partículas pode ser reproduzida nas mesmas condições operacionais para diferentes plantas. Isto indica a flexibilidade do processo e pode ser utilizado para produzir em escala maior do que a laboratorial.

Hakuta et al. (2003) indicam como limitação deste processo a separação das partículas dos solventes e a oclusão de solvente em determinadas estruturas cristalinas, mas afirmam que em função de pesquisas realizadas em modelagem e *scale-up* o uso industrial deste pode ser possível. Para Jung e Perrut (2001) o

processo com anti-solvente possui grande aplicação especialmente na área farmacêutica, pois permite controlar as propriedades e composição das partículas com flexibilidade. O *scale-up* é viável para materiais com alto valor agregado (farmacêuticos, cosméticos, supercondutores) com uma escala de produção pequena na ordem de poucas centenas de quilogramas por dia.

O processo escolhido para a micronização das partículas neste trabalho foi o SAS porque existe a possibilidade de controle do tamanho e do polimorfismo das partículas que está associado principalmente à concentração inicial da solução. Além disto, é um processo semi-contínuo, característica importante para a coleta de dados experimentais para embasar estudos de *scale-up*.

3.2.2 Aplicações Industriais

A aplicação industrial da tecnologia em supercríticos iniciou na Alemanha com plantas de processamento na área alimentícia em larga escala (descafeinização do café) suportada pela pesquisa na área e pela forte indústria química existente (Anklam e Müller, 1995). A tecnologia foi estendida para outras áreas como farmacêutica e cosmética utilizando o parque instalado para produtos naturais sazonais (aromas, corantes). Atualmente existem plantas de descafeinização de café nos Estados Unidos e plantas de tamanho menores na Itália e França para processamento de alimentos, fármacos e cosméticos. Na Ásia, há pesquisa na China e Coréia do Sul na área de fitofármacos e na Índia, em temperos e extração de aromas. A extração de matérias-primas naturais com dióxido de carbono supercrítico é uma alternativa e resolve questões associadas com as altas temperaturas e com a proibição do uso de solventes orgânicos (Pellerin, 1991). Perrut (2000) apresenta tendências de aplicações industriais da tecnologia de supercríticos. Afirma que a mais importante está relacionada a produtos naturais para área alimentícia, farmacêutica e cosmética em função da proibição de solventes orgânicos em diversos países, alto valor de mercado para produtos ditos verdes, produtos inovadores e processos com baixas taxas de emissão de poluentes. O Quadro 3.1 apresenta as principais operações comerciais no mundo.

Quadro 3.1. Plantas comerciais de extração com dióxido de carbono supercrítico.

Processo	Indústria
Descafeinização de Café	General Foods, EUA Kaffe, HAG AG, Alemanha Hermsen, Alemanha
Descafeinização de Chá	SKW–Trostberg , Alemanha
Pesticidas Naturais	Agropharm, Reino Unido
Extrato de Lúpulo	Hopfenextraktion, Alemanha Hops Extraction Corp. of America, EUA J.I. Haas, EUA Carlton, Austrália Boatnix, Reino Unido
Condimentos/Aromas/Colorantes/ Produtos naturais	SKW–Trostberg, Alemanha Falvex GmbH, Alemanha Norac Technologies, Canadá Ogawa Flowers and Fragrance, Japão Sensiet Technologies, EUA TakedaKirin Food Company, Japão

Fonte: Adaptado de WellnessWest (2005).

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

Perrut (2000) afirma que, apesar de mais de duas décadas de pesquisa, esta tecnologia está restrita à aplicação em poucas áreas. Mas acredita que mesmo não sendo sempre a melhor resposta, a tecnologia com FSC deve ser considerada como alternativa entre outras, com suas vantagens e limitações. Em Jung e Perrut (2001) é feita uma revisão sobre os processos e patentes existentes na obtenção de partículas com o uso de supercríticos mostrando a variedade e complexidade do assunto. Para otimizar a escolha do processo, sumarizaram a produção de partículas com um só constituinte e de compósitos com suas vantagens e limitações em função da solubilidade em fluidos supercríticos. A escolha entre os diferentes métodos deve ser feita considerando o tamanho desejado da partícula, forma e estrutura, custo de processamento e escala de produção. Em Perrut e Clavier (2003) são apresentados processos para a produção na área farmacêutica, com indicação para escolha do processo, regras gerais para o *scale-up* com as limitações relativas a plantas industriais farmacêuticas, ilustrados com resultados experimentais. Mesmo sendo somente para a área de fármacos, há uma sumarização mais completa apresentando, também, o tipo de partícula obtida (micro ou nano), comentários sobre sua distribuição granulométrica, dificuldades no *scale-up* e operação da planta. São descritos os três passos mais importantes no processo com FSC cujo *scale-up* é problemático: a geração da partícula, a coleta da partícula e purificação do fluido e seu reciclo. Com exemplos práticos que obtiveram sucesso na mudança de escala, mostra-se que as distribuições de tamanho são exatamente as mesmas para as três escalas (laboratorial, piloto e industrial), como no caso da produção de um polissacarídeo com CO₂ como anti-solvente.

O uso da tecnologia com fluidos supercríticos na obtenção de um produto deve ser considerado quando comparado aos processos tradicionais empregados na indústria principalmente no que tange a aspectos ambientais e econômicos. Com relação a isto, o enfoque atual da química verde é de encorajar a inovação e promover a criação de produtos ambiental e economicamente sustentáveis. Anastas (1998) propõe princípios para a química verde que podem ser atendidos com a implementação da tecnologia com supercríticos. Por exemplo, o primeiro deles é projetar processos químicos com taxa zero de efluentes e no caso, do dióxido de carbono supercrítico, ele pode ser totalmente reciclado. A redução do uso de solventes orgânicos com esta tecnologia atende a mais dois princípios que são o

projeto de processos menos perigosos em termos de toxicidade e segurança. O uso de solventes seguros é outro princípio que é satisfeito com a utilização de dióxido de carbono supercrítico. O Quadro 3.2 apresenta as vantagens do uso de dióxido de carbono supercrítico no processamento de produtos naturais.

Quadro 3.2. Vantagens do uso dióxido de carbono supercrítico.

Produto Natural	Vantagens do processo com CO₂ supercrítico
Extração de aromas e fragrâncias	Sem perda de notas de fundo e de topo, sem degradação térmica, maior vida de prateleira devido à co-extração de antioxidantes e eliminação do oxigênio, maior pureza, extração mais rápida e maior rendimento nas extrações, excelentes características de misturas.
Extratos de frutas	Inativação de enzimas, esterilização de sucos, recuperação de componentes voláteis em frutas frescas, retirada de alcoóis de sucos de frutas, sem degradação térmica de aromas e sabores, retirada de terpenos de óleos cítricos.
Extratos de condimentos	Rendimentos maiores e mais qualidade na separação de frações de componentes selecionados, maiores volumes, tempos de extração reduzidos, retirada de contaminantes.
Antioxidantes naturais	Sem degradação térmica, sem resíduos de solventes, aumento da estabilidade, fracionamento seletivo.
Colorantes alimentícios naturais	Maior recuperação e estabilidade (carotenóides), fracionamento seletivo.
Plantas medicinais	Manutenção dos princípios bioativos, maiores rendimentos e qualidade, fracionamento seletivo.
Lipídeos vegetais e animais	Separação e fracionamento de ácidos graxos livres, remoção de sabores e olores indesejáveis, fracionamento seletivo do colesterol a partir de óleos, retirada da gordura de carne para aumentar a conservação e reduzir olores e sabores.
Pesticidas naturais	Processo com poucas e simples operações, aumento da estabilidade, cor aceitável, olor desagradáveis mínimos, novos produtos com um mercado em expansão, produto final (torta) pode ser usada como fertilizante.

Fonte: Adaptado de WellnessWest (2005).

A viabilidade de aplicação dos processos com tecnologia supercrítica mencionados anteriormente ainda necessita de detalhamento e estudos caso a caso para a determinação do tipo de processo, condições operacionais e parâmetros para cada matéria-prima e produto.

3.3 Erva-Mate (*Ilex paraguariensis* St. Hill)

Ilex paraguariensis St. Hill var. *paraguariensis* pertencente à família Aquifoliaceae, popularmente conhecida como erva-mate, é uma espécie consumida principalmente no Brasil, Argentina, Uruguai e Paraguai, possuindo importância econômica e cultural. Historicamente, começou a ganhar importância econômica quando os espanhóis chegaram ao Paraguai e se depararam com índios guaranis fortes e saudáveis, características atribuídas a uma bebida feita com folhas fragmentadas, que chamavam de caá-i (água de erva saborosa). Os soldados, então, começaram a comercializar a erva tornando-se um produto rendoso para a Colônia. Os jesuítas estabelecidos em Guaira, ao sul do Paranapanema e nos Sete Povos, à margem oriental do Uruguai, utilizando os conhecimentos dos índios guaranis também promoveram o cultivo da erva-mate (Lessa, 1953).

O extrato aquoso de suas folhas é denominado de chimarrão (infusão quente) no Brasil, mate (infusão quente) na Argentina e Uruguai e tererê (infusão fria) no Paraguai. Em Filip et al. (2009) é feita uma detalhada revisão sobre o mate enfocando sua história, descrição botânica, processamento industrial, usos tradicionais, fitoquímica, propriedades farmacológicas, toxicidade, efeitos colaterais e contra-indicações. Segundo este trabalho, o Uruguai possui o maior consumo *per capita* de 6-8 kg/pessoa/ano seguida pela Argentina com 5 kg/pessoa/ano. No Brasil não há dados consolidados sobre o consumo, mas estima-se que seja em torno de 1 a 2 kg/pessoa/ano, já que nos estados do sul do país, o chimarrão é consumido por grande parte da população. De um modo geral, o processo de beneficiamento da erva-mate consiste das seguintes etapas: colheita manual ou mecânica, sapeco (pré-secagem, 250°C, 30 a 90 s), secagem (longa ou rápida), cancheamento (fragmentação), moagem e empacotamento. Um regulamento técnico (Brasil, 1998) especifica os tipos de erva-mate para chimarrão, assim como para o tererê, através da quantidade de folhas e ramos:

- a) Padrão Nacional 1 (PN1) - mínimo de 70% de folhas e máximo de 30% de outras partes do ramo;
- b) Padrão Nacional 2 (PN2) - mínimo de 60% de folhas e máximo de 40%, de outras partes do ramo;

- c) Padrão Nacional 3 (PN3) - mínimo de 50 de folhas e máximo de 50% de outras partes do ramo.

Segundo EMBRAPA (2010) não existem dados atuais confiáveis sobre a área destinada ao cultivo e à exploração da erva-mate no Brasil, mas estima-se que seja de aproximadamente 700 mil hectares distribuídos em cerca de 180 mil propriedades localizadas em aproximadamente 480 municípios. É certo, porém, que a região Sul é a maior produtora de erva-mate e responde por cerca de 97% da produção nacional. O maior produtor de erva-mate do Brasil é o Paraná (152.971 t) com 65,5% do total nacional, seguido por Santa Catarina (41.833 t) e Rio Grande do Sul (38.127 t).

A erva-mate é quase que exclusivamente comercializada para uso como chimarrão, mas existem usos alternativos no mercado, que estão relacionados no Quadro 3.3, evidenciando seu potencial para outras aplicações.

Quadro 3.3. Subprodutos da erva-mate, de acordo com sua industrialização.

Aplicação Industrial	Sub-Produtos Comerciais	Forma de Consumo
Bebidas	Chimarrão, tererê, chá-mate: queimado, verde/cozido, solúvel.	Infusão quente ou fria
	Refrigerantes, sucos, cerveja e vinho.	Extrato de folhas diluído
Insumos de alimentos	Corante natural e conservante alimentar.	Clorofila e óleo essencial
	Sorvete, balas, bombons, caramelos, chicletes e gomas.	
Medicamentos	Estimulante do sistema nervoso central.	Cafeína e teobromina
	Compostos para tratamento de hipertensão, bronquite e pneumonia.	Extratos de flavonóides
Higiene Geral	Bactericida e antioxidante hospitalar e doméstico, esterilizante, emulsificante.	Extrato de saponinas e óleo essencial
	Tratamento de esgoto, reciclagem de lixo urbano.	
Produtos de uso pessoal	Perfumes, desodorantes, cosméticos, sabonetes.	Extrato de folhas e clorofila

Fonte: Adaptado de EMBRAPA (1995).

Estudos e análises sobre a composição da erva-mate têm revelado componentes relacionados a diversas propriedades nutritivas, fisiológicas e medicinais o que lhe confere um potencial de aproveitamento. Na constituição química da erva-mate aparecem: alcalóides (cafeína, teobromina e teofilina), taninos (ácidos fólico e cafeico), vitaminas (A, B, C e E), polifenóis (ácido cafeico, ácidos clorogênicos), saponinas, sais minerais (sódio, alumínio, cálcio, fósforo, ferro, magnésio, zinco, manganês e potássio), açúcares (frutose, glucose, rafinose e sacarose), flavonóides (quercetina, kaempferol) e lipídeos (óleos essenciais e substâncias ceráceas) (Vásquez e Moyna, 1986; Alikaridis, 1987; Valduga, 1994; Filip et al., 1998; Filip et al., 2009). É necessário esclarecer que os trabalhos publicados nem sempre diferenciam a matriz sujeita ao estudo, se é planta fresca ou seca, ou se é industrializada, estação do ano de colheita, se são brotos ou folhas velhas. Não há diferenças qualitativas significativas, mas variações quantitativas. Lopes et al. (2007) encontraram variações na quantidade de cafeína e teobromina de acordo com a idade das folhas: em folhas novas (0,90% de cafeína e 0,08% de teobromina) e em folhas velhas (0,75% de cafeína e 0,05% de teobromina). Andrade et al. (1995) analisaram a quantidade de cafeína em sucessivas soluções visando reproduzir as condições de consumo durante a “mateada” e Reginatto et al. (1999) analisaram diferentes espécies de *Ilex* detectando cafeína somente na espécie *Ilex paraguariensis*. A variação da quantidade de cafeína em diferentes produtos industrializados tem sido estudada, sugerindo que o processamento industrial pode influenciar a composição química e conseqüentemente seu sabor e efeitos. Filip et al. (2009) apresentam dados de quantificação de literatura e identificam diferenças principalmente em relação à composição quando a planta é sujeita ao processo de beneficiamento. Por exemplo, compostos responsáveis pelo sabor, como linalol, são oxidados durante a secagem. A variação nos pigmentos responsáveis pela cor (rutina e derivados do cafeiol) também foi observada de acordo com a parte da planta estudada, a estação do ano e processamento aplicado.

Os efeitos das xantinas em nosso organismo já foram estudados e ainda são objetivos de pesquisas: atuam como diuréticos relaxantes do músculo liso, estimulante cardíaco e vasodilatadores. A cafeína exerce efeito estimulante particular sobre o sistema nervoso central (Alikardis, 1987), enquanto o esqualeno é conhecido por seu poder anticancerígeno (He et al, 2002) e a vitamina E é reconhecida como

uma substância com propriedades medicinais utilizada para muitas doenças (Ching e Mohamed, 2001). Ao ácido cafeico e clorogênicos são referidas as propriedades antioxidantes e antiglicantes (Gugliucci, 1996) e os derivados de cafeiol são apontados como os responsáveis pela capacidade antioxidante do extrato (Filip et al., 2001). Além disso, às saponinas são atribuídas propriedades antiinflamatórias e hipocolesterolêmicas (Gnoatto et al., 2005). Em relação aos flavonóides, o extrato de erva-mate é considerado um potente inibidor de radicais livres (Schinella et al, 2005), tendo seu efeito reconhecido tanto *in vitro* (Gugliucci, 1996) quanto *in vivo* (Mosimann, 2006). Foi observado também que reduz os níveis de colesterol e a gordura abdominal (Pedroso et al., 2010).

Filip et al. (2009) afirmam que a erva-mate não é tóxica e não produz efeitos negativos quando ingerida na forma tradicional. Mas complementam que existem efeitos colaterais como estimulação excessiva, insônia e gastrite quando ingerido em altas doses como consequência direta da cafeína existente, não sendo recomendada a ingestão por pessoas que sofrem de ansiedade e insônia de acordo com um estudo realizado por Lieberman et al. (2002). Há evidências que os indivíduos que consomem grandes quantidades de cafeína relatam menos distúrbios ao nível do sono que as pessoas que a consomem eventualmente, o que sugere o desenvolvimento da tolerância à ingestão de cafeína. Smith (2002) concluiu que uma grande quantidade de cafeína consumida à noite faz com que os indivíduos tenham maiores dificuldades de dormir e uma redução na duração do sono. Existe grande variabilidade individual apesar dos consumidores assíduos serem mais resistentes aos efeitos da cafeína. Neste estudo (Smith, 2002) refere-se que altas doses de cafeína na dieta (>200 mg), aumentam os níveis de ansiedade e podem induzir ataques de pânico. Indivíduos com problemas de ansiedade e pânico são especialmente susceptíveis aos efeitos da cafeína. No sistema digestivo, o aumento de acidez gástrica é também um dos efeitos da ingestão de cafeína. Em doses muito elevadas a cafeína pode provocar a liberação espontânea de íons cálcio dentro do músculo, desencadeando pequenos tremores involuntários, aumento da pressão arterial e da frequência cardíaca. Estes efeitos podem variar, pois há muitas diferenças entre as ervas comercializadas, não só pelas condições de processamento (temperatura) como também pela variedade de misturas e tamanhos de folhas e ramos.

A cafeína, uma metil-xantina, pertence ao grupo químico dos alcalóides. Existem 3 metil-xantinas particularmente importantes: a cafeína (1,3,7-trimetil-1*H*-purino-2,6(3*H*,7*H*)-diona) mais conhecida por 1,3,7-trimetilxantina, a teofilina (1,3-dimetil-7*H*-purina-2,6-diona) habitualmente chamada de 1,3-dimetilxantina e a teobromina (3,7-dimetilxantina, ou 3,7-diidro-3,7-dimetil-1*H*-purina-2,6-diona) chamada de 3,7-dimetilxantina. Todas são derivadas da purina (o grupo xantina é o 2,6-dioxopurina). A teobromina e teofilina são duas dimetil-xantinas, com dois grupos metilo, em contraste com a cafeína, que possui três, conforme mostra a Figura 3.7.

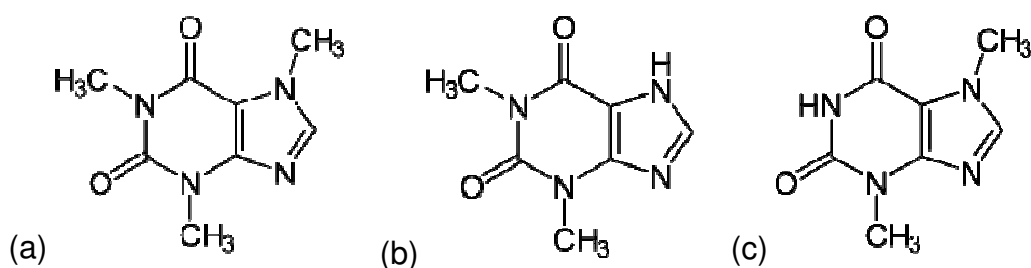


Figura 3.7. Estrutura molecular: (a) cafeína, (b) teofilina, (c) teobromina

A cafeína é um pó branco, cristalino, com sabor amargo, inodoro e as partículas possuem a forma de agulhas. Apresenta massa molar de 194,19 g/mol, ponto de sublimação de 178°C e uma densidade relativa de 1,23. Sublima sem que se decomponha termicamente e é solúvel em água (conseqüentemente solúvel nos líquidos aquosos do organismo, tendo acesso à superfície das células) embora com hidrofobicidade suficiente para atravessar as membranas biológicas ricas em lipídeos. (Fredholm et al., 1999; Richetti, 2009).

A solubilidade da cafeína em água varia numa faixa de 0,052 % a temperatura de 273,15 K até 1,78 % a temperatura de a 353,15 K em fração molar. Saldaña et al. (1999) determinaram a solubilidade da cafeína em dióxido de carbono para diferentes faixas de temperatura (313,15 - 43,15 K) e pressão (140 - 240 bar). A Tabela 3.3 apresenta dados experimentais da solubilidade da cafeína em dióxido de carbono a 313,15 K em função da pressão (Li et al., 1991, Schufen et al., 1991, Burgos-Solórzano et al., 2004).

Tabela 3.3. Solubilidade da cafeína em CO₂ (313,15K)

Pressão (bar)	Solubilidade (fração molar)
9,5	$1,51 \times 10^{-5}$
14,8	$1,31 \times 10^{-4}$
19,8	$1,97 \times 10^{-4}$
24,3	$2,78 \times 10^{-4}$
29,8	$3,60 \times 10^{-4}$

Fonte: Adaptado de Li et al. (1991).

Cafeína é conhecida por apresentar-se nas formas anidra e hidratada. Esta última forma desidrata-se facilmente a temperatura ambiente (Descamps et al., 2005). A cafeína anidra é também conhecida por existir na forma de dois polimórficos isto é, dois sólidos com idêntica composição atômica, mas diferentes arranjos estruturais. Estas alterações morfológicas podem ser geradas por diferentes direções no crescimento do cristal durante o processo de cristalização. Pesquisas sobre polimorfismos de drogas estão normalmente concentradas na caracterização das diferentes formas e determinação das propriedades físicas. Normalmente um polimórfico é estável a uma dada temperatura e pressão enquanto as outras formas são chamadas de metaestáveis (Froehlich e Gasparotto, 2005).

Diferentes polimórficos possuem distintas propriedades físicas como solubilidade, ponto de fusão, densidade, dureza e forma cristalina. A existência de polimorfismo pode influenciar na biodisponibilidade, estabilidade química e física de fármacos e também no processo de síntese, no processo de purificação e estabilidade da forma farmacêutica, levando-se em consideração as alterações ocorridas nas características dos cristais (Arancibia e Pezoa, 1992; Dong et al., 2007).

A grande maioria dos medicamentos é produzida e utilizada em forma sólida. Uma substância na forma cristalina apresenta menor solubilidade comparativamente à forma amorfa (também referida como metaestável). Mas esta última possui menor estabilidade térmica. Formulações onde se encontra o fármaco parcialmente cristalino e amorfo são mais solúveis que as que contêm a substância altamente cristalina. Termodinamicamente, qualquer forma metaestável transforma-se na forma mais estável. Sob o ponto de vista da investigação de estrutura do estado sólido ou da

utilização final dos compostos é necessário conhecer o seu comportamento com a variação de temperatura. As técnicas utilizadas para este tipo de estudo são as de análise térmica: calorimetria diferencial de varredura (também chamada de calorimetria exploratória diferencial - DSC), Espectroscopia de Absorção do Infravermelho e Difração de Raios X (Mazel et al., 2011).

A cafeína é conhecida por existir em duas formas: II ou β e I ou α dependendo da temperatura e pressão (Figura 3.8). A forma II ou β é estável à temperatura e pressão ambiente e a forma I ou α , chamada de metaestável ou forma de alta temperatura é estável da temperatura de transição (em torno de 428 K) até a temperatura de fusão (em torno de 510 K) à pressão ambiente (Cesaro e Starec, 1980; Pirttimäki et al., 1993; Pirttimäki e Laine, 1994; Letho e Laine, 1998, Pinto e Diogo, 2006; Mazel et al., 2011).

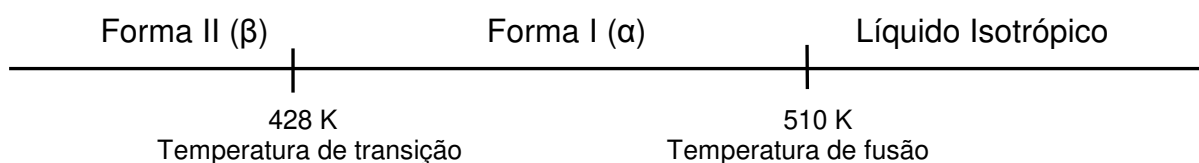


Figura 3.8. Diagrama esquemático das fases da cafeína à pressão atmosférica.

4. METODOLOGIA

4.1. Extração Supercrítica

O material vegetal utilizado nos experimentos foi fornecido por uma indústria vinculada ao setor ervateiro. Esta matéria-prima consiste de folhas de *Ilex paraguariensis* St. Hill. secas e moídas. A planta utilizada foi colhida no inverno com pouca semente e brotação. As folhas foram secas a 373,15 K (100°C) por 15 min e o teor de umidade decaiu de 5,6% para 1,5%. A moagem foi realizada em um moinho de facas e as partículas resultantes possuem um diâmetro médio de 1×10^{-3} m.

4.1.1. Equipamento e Procedimento

O trabalho de extração foi desenvolvido em duas etapas: na primeira foram investigadas as faixas de pressão e temperatura mais adequadas para a extração, isto é, com maior rendimento em termos de extrato e de teor de cafeína no extrato. A segunda etapa foi baseada nos resultados da primeira etapa e na realização de um planejamento de experimentos, definindo assim, o número de experimentos a serem realizados, em função da temperatura e da pressão dentro de uma faixa mais adequada para validação dos resultados. Uma amostra de 0,2 kg foi usada na primeira etapa para a extração em uma unidade piloto automatizada (Cassel et al., 2007), desenvolvida para trabalhar com dióxido de carbono. O diagrama esquemático do equipamento usado no processo de extração pode ser observado na Figura 4.1. Este dispositivo experimental inclui uma bomba de deslocamento positivo (Thar P-200, USA) para a liberação de solvente (20–200 g/min), um vaso de extração de 1000 mL que opera a alta pressão (B1) e um frasco separador (B2). O vaso de extração é suprido com uma jaqueta de aquecimento e um controlador de temperatura automatizado.

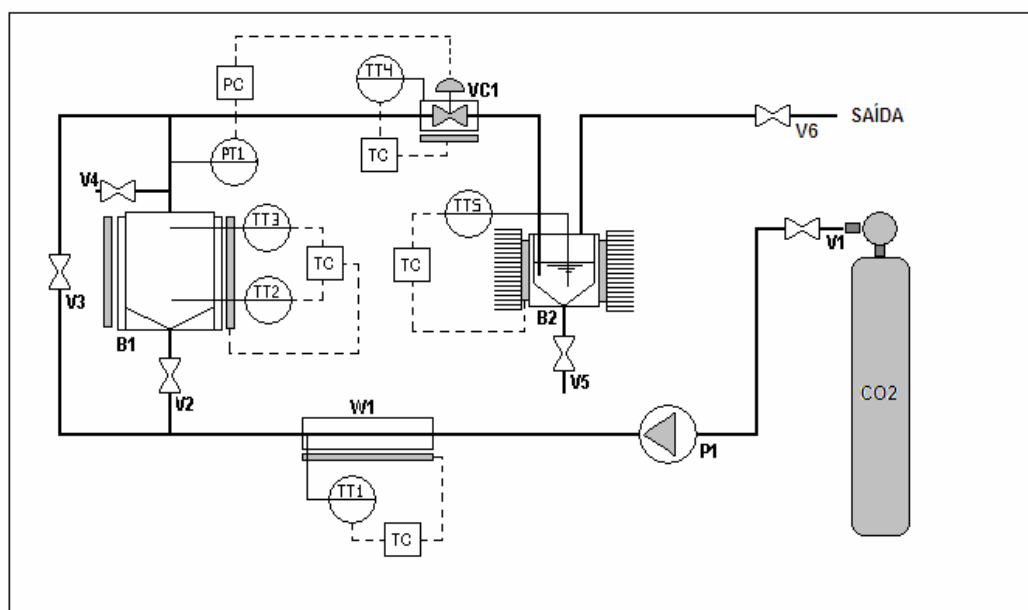


Figura 4.1. Diagrama esquemático do dispositivo experimental: P1 – bomba de alta pressão; W1 – pré-aquecedor; B1 – vaso de extração; B2 – vaso de separação; VC1 – válvula micrométrica; TC – controladores de temperatura, V1 a V6 – válvula esfera.

Resistências elétricas são utilizadas ao longo do equipamento com o objetivo de manter a temperatura constante na seção de extração. Para garantir a manutenção de uma liberação constante e estacionária de solvente, a bomba tem seu cabeçote resfriado. A vazão do solvente é medida por medidor de fluxo, 1-300 g/min (Thar 06618-2, EUA). A válvula micrométrica (VC1) é usada para controlar o fluxo de solvente através do equipamento, regulando a pressão no vaso de extração. Resistências elétricas com controle de temperatura são utilizadas também no entorno desta válvula para evitar o congelamento do solvente na etapa de despressurização, devido ao efeito Joule-Thomson do dióxido de carbono. A pressão no extrator é medida pelo transdutor Novus 8800021600 com uma precisão de $\pm 1,0$ bar. O controlador de temperatura (TC) é conectado a termopares (PT-100, com uma precisão de 0,5K).

A altura do leito (m), o diâmetro do vaso cilíndrico (m) e o volume do extrator (m^3) são, respectivamente, 0,13; 0,06 e 0,000367. A pureza do solvente CO_2 líquido usado nas extrações é de 99,9% (Air Products) e a taxa de solvente utilizada foi de $6,667 \times 10^{-4}$ kg/s.

Na verificação das melhores faixas de operação de temperatura e pressão, para o processo com erva-mate, foram realizadas extrações nas pressões de 12, 15,

17 e 20 MPa e temperaturas de 313,15, 323,15, 333,15 e 343,15 K, cujos resultados estão apresentados no item 6.

4.1.2. Primeira Etapa de Experimentos de Extração Supercrítica

Os experimentos da primeira etapa foram realizados na unidade piloto de extração supercrítica (Figura 3.3), levantando-se as curvas de extração. Para tanto, após o início da extração pesa-se o extrato obtido a cada intervalo de tempo pré-definido (10 min) e obtém-se um gráfico da massa em função do tempo. O término da extração é definido quando após três pesagens não há mais variação de massa do extrato. Após a obtenção das curvas de extração foi realizado o ajuste do modelo matemático com os dados experimentais obtidos. O modelo matemático selecionado descreve uma situação em que o solvente escoar na direção axial através de um leito de plantas moídas posicionado no interior de um extrator cilíndrico. Este modelo é caracterizado pela existência de dois períodos de extração: o primeiro deles caracterizado por uma alta concentração de soluto no CO₂ devido à grande disponibilidade de soluto de fácil de acesso na matriz vegetal; e o segundo onde um soluto com menor concentração começa a ser extraído da planta. Este procedimento foi usado por Sovová et al. (2007) para simular a extração supercrítica de ligninas de matrizes vegetais. Este modelo foi escolhido a partir da análise das curvas de extração experimentais obtidas para a definição prévia da faixa de operação da pressão e temperatura. Estes dados experimentais foram ajustados por duas retas que descrevem o comportamento do rendimento do processo como função do tempo de extração de acordo com as equações 4.1 e 4.2.

$$e = S_1 q, \quad \text{para } q \leq q_1 = \frac{e_1}{S_1} \quad (4.1)$$

$$e = e_1 + S_2 (q - q_1), \quad \text{para } q_1 < q \leq q_1 + \frac{(e_\infty - e_1)}{S_2} \quad (4.2)$$

Os parâmetros S_1 e S_2 foram estimados pela minimização da soma dos quadrados do erro entre o dado experimental e o previsto pelo uso do modelo utilizando o software Excel.

4.1.3. Planejamento de Experimentos

Com os resultados preliminares onde a faixa de temperatura e pressão de operação foi definida, realizou-se o planejamento de experimentos utilizando o fatorial 2^2 em estrela resultando em 11 experimentos conforme esquema apresentado Figura 4.2. O ponto central corresponde à condição de 15 MPa e 323,15 K. O método propõe a realização de 3 repetições no ponto central, os demais pontos serão de análise simples (sem repetição).

Nestes experimentos utilizou-se 0,1 kg de erva-mate no vaso de extração de 0,5 L com uma vazão constante de CO_2 de 0,4 kg/h para as condições definidas pelo delineamento experimental.

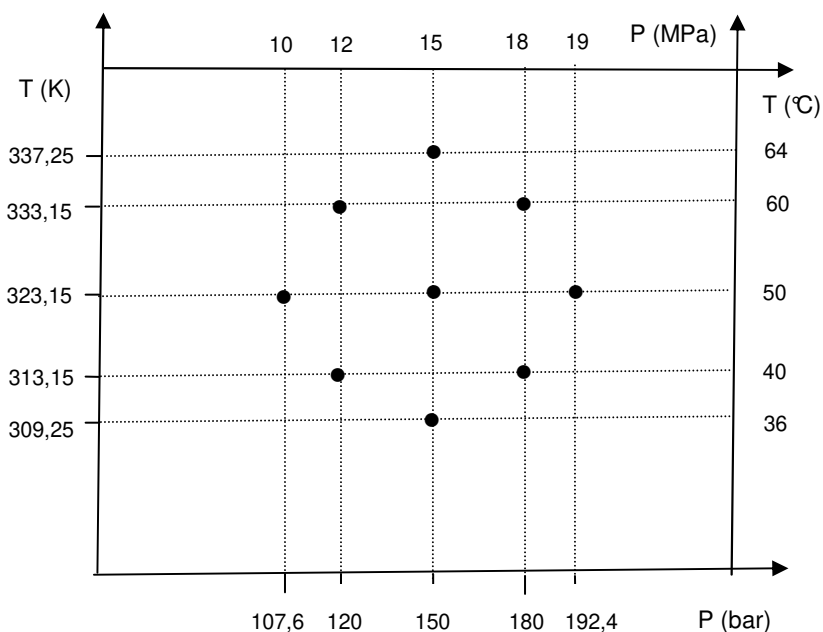


Figura 4.2. Esquema do planejamento de experimentos.

4.2. Análise do Teor de Cafeína na Erva-mate e no Extrato

A quantidade de cafeína na erva-mate, na erva-mate descafeinada e no extrato obtido da extração supercrítica foi determinada através de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC- Agilent Technologies 1200 Series).

Neste trabalho utilizou-se para o preparo das amostras de erva-mate (antes e depois da extração) e do extrato o método de decocção (Filip *et al.*, 1998).

No caso da erva-mate, o material foi moído em um moinho de facas até a obtenção de um pó fino ($>0,32 \times 10^{-3}$ m). A uma amostra de 5 g de erva-mate moída foi adicionado 50 mL de água. A mistura foi fervida por 20 min. Após isto foi deixada esfriar até a temperatura ambiente e filtrada. O volume foi ajustado para 100 mL. Para a determinação de cafeína, 5 mL desta solução foram diluídos para 10mL.

No caso do extrato do processo de extração, a decocção foi realizada no mesmo frasco em que foi coletado durante a extração supercrítica para que não houvesse perdas, pois o mesmo possui uma característica resinosa. Foi utilizado o mesmo método de decocção que o da erva-mate.

As amostras de erva-mate antes e depois da extração supercrítica foram preparadas e os ensaios cromatográficos foram realizados em duplicata. A amostra do extrato foi submetida à cromatografia em duplicata. Antes de proceder a cromatografia, as amostras foram filtradas a vácuo utilizando membrana de 0,45 μ m e desaeradas por 5 min em banho de ultrassom.

A coluna de separação utilizada foi a Agilent Zorbax Eclipse XDB-C18 (5 μ m, 150 x 4,6 mm). A detecção foi realizada através um detector de U.V. (273 nm) Agilent 1220 Series.

A separação foi realizada pela aplicação de um gradiente usando um solvente A (água:ácido acético 98:2) e um solvente B (metanol:ácido acético 98:2). O gradiente foi 17% de B para 20% de B, 10 min; 20% de B isocriticamente, 5 min; 20% de B para 23% de B, 10 min; 23% de B para 100% de B, 5 min. O fluxo foi de 1 mL/min (Filip *et al.*, 1998).

Para a validação da análise quantitativa, pequenas quantidades de cafeína (99% de pureza, Sigma-Aldrich) foram pesadas e diluídas em água e metanol (7:3). Diferentes diluições foram realizadas a partir desta solução-mãe (0,1 a 1 % de cafeína em massa) e passadas no cromatógrafo. Uma curva foi construída para

mostrar a relação entre a área do pico e a quantidade de cafeína. A análise de cada concentração foi realizada em triplicata. A curva foi ajustada por regressão linear e o coeficiente de correlação (R^2) obtido foi de 0,9992.

4.3. Purificação da Cafeína

A cafeína contida no extrato deve ser purificada para posteriormente passar pelo processo de redução de tamanho (*downsizing*). A cafeína pode ser purificada pelo processo de sublimação que é a transição de uma substância do estado sólido para o estado vapor sem a formação de uma fase líquida intermediária. A condensação direta do vapor a sólido é a cristalização. Um processo de sublimação significa convencionalmente, um procedimento em que uma substância sofre uma destas transições ou uma combinação delas. A sublimação é usada em geral com materiais que não podem ser facilmente purificados mediante as operações unitárias.

Para que ocorra a sublimação, a pressão de vapor da substância deve ser maior que a pressão parcial do seu vapor na fase gasosa em contato com o sólido. São relativamente poucas as substâncias que têm pressões de vapor suficientemente elevadas para sublimar sob a pressão atmosférica. Por isso, a sublimação deve ser efetuada pelo aquecimento do sólido. A atmosfera pode ser controlada numa operação a vácuo, quando a pressão total é diminuída. Os esquemas operacionais usados para a sublimação variam com o tipo de operação adotado. Uma característica comum de qualquer aparelho de sublimação é a da realização da sublimação e da cristalização das substâncias sublimáveis.

Um arranjo simples para sublimação a pressão reduzida é constituído de dois tubos de ensaio, um dentro do outro, separados por uma rolha na parte superior (Figura 4.3).

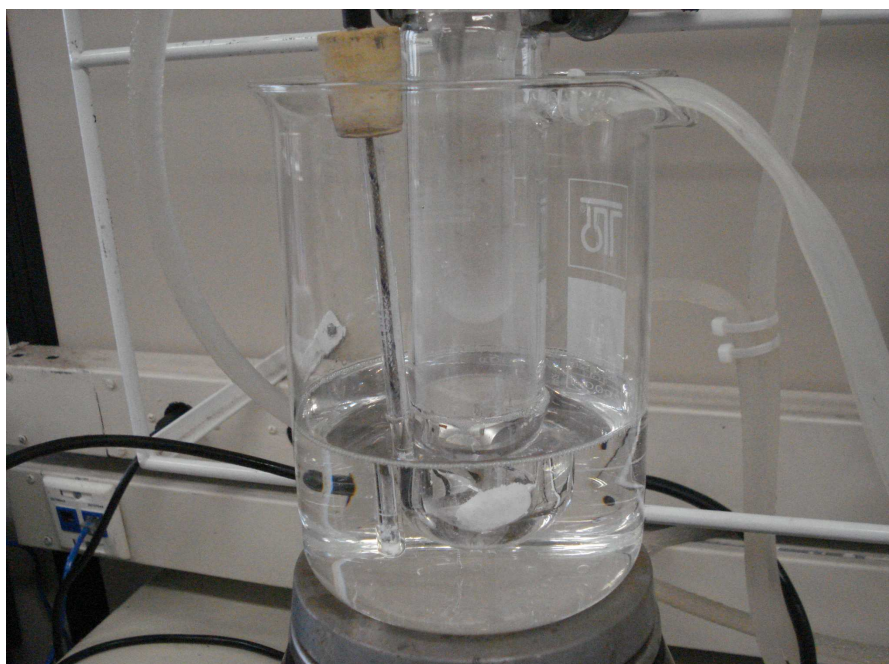


Figura 4.3. Tubo duplo para sublimação.

O tubo externo (20 mm X 150 mm) é provido de uma saída lateral que é ligada a uma trompa de vácuo. O tubo interno que deve ser refrigerado serve como uma superfície para deposição do material sublimado. A distância entre os fundos de ambos os tubos é importante. Se o vapor tiver que percorrer uma distância muito longa, o sólido deverá ser aquecido em uma temperatura maior, ocasionando assim, a sua fusão ou decomposição. Se os fundos do tubo tiverem muito perto, as impurezas poderão respingar e contaminar o material sublimado. A Figura 4.4 apresenta todos os componentes do arranjo experimental além dos tubos de vidro: banho termostático para refrigeração, bomba de vácuo, placa de aquecimento e termopar para o controle de temperatura do banho de silicone. O banho de silicone é necessário, pois a cafeína possui ponto de sublimação de 178°C à pressão atmosférica.



Figura 4.4. Arranjo experimental para sublimação

4.4. Obtenção de Micro/nanopartículas de Cafeína

A cafeína utilizada para a obtenção de partículas através do processo SAS, proveniente de uma planta de descafeinização de café na Espanha, possuía 92,96% de pureza, 9% de umidade e coloração cinza claro. Em função da quantidade necessária para os experimentos e pela logística de transporte internacional optou-se pela utilização da cafeína proveniente do café que possuía pureza da mesma ordem de magnitude que a sublimada a partir do extrato obtido da erva-mate. A cafeína foi secada em estufa por 24 h à temperatura de 333,15 K.

Para planejar os experimentos a serem realizados e verificar qual solvente seria o mais adequado para a recristalização da cafeína foram feitas três soluções da cafeína (1g) para 150 mL dos seguintes solventes: etanol ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$), acetato de etila ($\text{CH}_3\text{COOCH}_2\text{CH}_3$) e diclorometano (CH_2Cl_2). A pressão utilizada para o processamento foi de 100 bar e a temperatura de 313,15 K. Esta escolha foi baseada por ser um valor intermediário na faixa de pressão e temperatura utilizadas para este processo. A vazão de dióxido de carbono utilizada foi de 4 kg/h e da solução 4 mL/min.

Após esta primeira etapa de experimentos, realizaram-se experimentos com soluções saturadas de cafeína com etanol ($C = 0,0072 \text{ g/mL}$) e acetato de etila ($C =$

0,0082 g/mL) para as mesmas condições de temperatura, pressão e fluxos de dióxido de carbono e da solução de cafeína. Como a solubilidade da cafeína no diclorometano é superior que a solubilidade da cafeína no etanol e no acetato de etila a temperatura e pressão ambiente, decidiu-se por uma concentração de 0,08 g/mL já utilizada por Park e Yeo (2008) para recristalizar cafeína pura com o processo descontínuo GAS. Com base nestes resultados, realizaram-se experimentos com soluções de diclorometano e cafeína em diferentes concentrações iniciando com 0,08 g/mL e diminuindo a concentração da solução até que não houvesse precipitação de partículas sempre a 10 MPa e 313,15 K. A Tabela 4.1 apresenta um resumo dos solventes e as concentrações utilizadas. Todos os experimentos foram realizados em duplicata.

Tabela 4.1. Concentrações de cafeína no solvente utilizado (g/mL); P = 10 MPa e T = 313,15 K.

Etanol	Acetato de Etila	Diclorometano	Amostra
0,0067	0,0067	0,0800	SAS12
0,0072*	0,0082*	0,0670	SAS10
		0,0540	SAS8_1
		0,0400	SAS6
		0,0270	SAS4
		0,0067	SAS1

* soluções saturadas

A denominação das amostras das soluções de diclorometano se refere à quantidade aproximada de cafeína utilizada. Por exemplo, SAS12 representa a amostra em que aproximadamente 12 g de cafeína foram dissolvidas em 150 mL de diclorometano.

Para avaliar a influência da temperatura e pressão no rendimento, no tamanho de partícula e no polimorfismo foram realizados experimentos com a concentração constante de 0,0540 g/mL (8 g de cafeína em 150 mL de diclorometano). Esta concentração foi escolhida a partir dos resultados de rendimento e também pelo fato de não haver problemas de entupimento da bomba de solução como para as concentrações maiores.

A Tabela 4.2 apresenta um resumo das condições utilizadas nos experimentos realizados em duplicata. Para os experimentos 2 e 4, a duplicata foi realizada com um filtro adicional na linha para garantir que possíveis partículas muito finas fossem retidas. Este filtro adicional não foi usado nos outros experimentos para evitar a obstrução da linha.

Tabela 4.2. Resumo dos experimentos realizados ($m_{\text{CO}_2} = 4 \text{ kg/h}$ and $m_{\text{sol}} = 4 \text{ mL/min}$).

Exp.	Amostra	Solvente	P (MPa)	T (K)	C (g/mL)
1		Etanol	10	313,15	0,0067
2		Etanol	10	313,15	0,0076*
3		Acetato de etila	10	313,15	0,0067
4		Acetato de etila	10	313,15	0,0082*
5	SAS1	Diclorometano	10	313,15	0,0067
6	SAS4	Diclorometano	10	313,15	0,0270
7	SAS6	Diclorometano	10	313,15	0,0400
8	SAS8_1	Diclorometano	10	313,15	0,0540
9	SAS8_3	Diclorometano	8	313,15	0,0540
10	SAS8_4	Diclorometano	12	313,15	0,0540
11	SAS8_5	Diclorometano	10	333,15	0,0540
12	SAS8_6	Diclorometano	10	303,15	0,0540
13	SAS10	Diclorometano	10	313,15	0,0670
14	SAS12	Diclorometano	10	313,15	0,0800

* Solução saturada.

4.4.1 Equipamento e Procedimento

A planta utilizada (Figura 4.5) é composta por duas bombas (Dosapro, Spain), uma de diafragma para o CO_2 (L-210) e outra cromatográfica para a solução (L-230); um precipitador isolado e jaquetado de aço inox AISI 316 com volume de 2 L com um filtro de aço sinterizado na saída; duas válvulas de regulação de pressão colocadas em paralelo por razões de segurança (K300 A/B) e um vaso de separação do

solvente e do dióxido após a despressurização (H-320). O bocal consiste de um capilar de 100 μm para a solução e um tubo concêntrico de $\frac{1}{4}$ in para o CO_2 . A pressão no precipitador, durante o processamento, é controlada por uma válvula agulha. Outros elementos são os trocadores de calor necessários para resfriar o CO_2 antes de bombeá-lo (E-220) e para atingir as condições de operação (E-120), acessórios para segurança (válvula de segurança e disco de ruptura) e instrumentação. Uma termoresistência Pt-100 com precisão de $\pm 0,1\text{K}$ localizada no vaso de precipitação e para a pressão um medidor digital DESIN TPR-10 (DESIN Instruments, Spain), com exatidão de $\pm 0.05\text{MPa}$, foram utilizados. O fluxo de massa de CO_2 foi controlado com um medidor do tipo coriolis (Sensor MICRO Motion Elite CMF010 NB, Transmitter MICROMotion Elite RFT91) com precisão de $\pm 0,01$ kg/h.

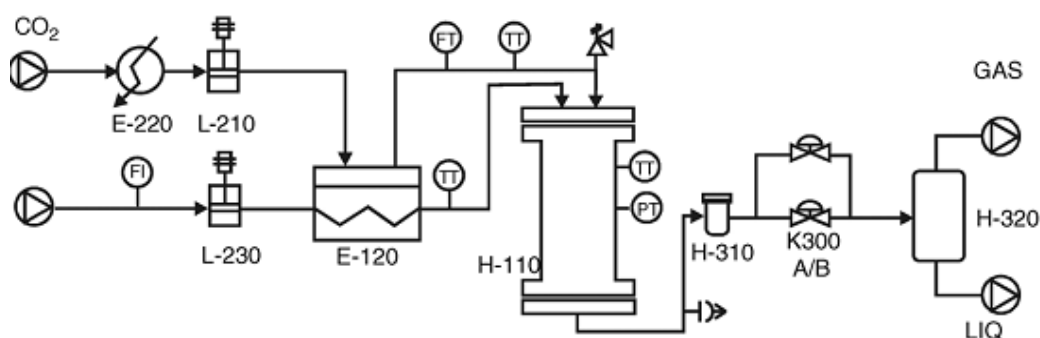


Figura 4.5. Esquema do processo: E-220 – trocador de calor, L-210 – bomba de diafragma; L-230 – bomba cromatográfica; E-120 – trocador de calor; H-110 – precipitador; H-310 – filtro metálico; K-300 – válvula de segurança; H-320 – vaso de separação.

O experimento inicia com o bombeamento de CO_2 puro para dentro do precipitador. Quando as condições de operação são atingidas (temperatura, pressão e taxa de fluxo de CO_2) e permanecem estáveis, a solução é bombeada continuamente para dentro do precipitador. Após a injeção de um volume de solução desejada (aproximadamente 100 mL), a bomba da solução é parada e somente é bombeado CO_2 puro para a secagem das partículas. O fluxo de CO_2 puro é mantido por 30 min para remover o solvente do precipitador. Após isto, a bomba de dióxido de carbono é desligada, o precipitador é despressurizado e aberto e então as partículas

que ficaram retidas no filtro metálico no fundo do precipitador são recolhidas para análise. O solvente é coletado no vaso de separação e o CO₂ é descarregado para a atmosfera.

4.4.2 Análise das Partículas Obtidas

As partículas foram analisadas quanto ao tamanho, pureza, morfologia e polimorfismo.

a) Tamanho - Para determinação do tamanho das partículas obtidas foi utilizado o analisador Mastersizer 2000 (Malvern), equipado com um sistema de alimentação de pós secos (Sirocco, Malvern), que fornece a distribuição granulométrica de uma amostra (emulsões, suspensões e sólidos secos) através de difração de raio laser, desde tamanhos de 0,02 µm até 2000 µm. Uma amostra das partículas (1 - 2 g) é agitada em um prato vibratório de onde é succionada por uma corrente de ar comprimido a determinada pressão previamente definida (2,5 bar) passando por lentes e por um feixe focalizado de laser vermelho. As análises foram realizadas em triplicata.

b) Pureza - A pureza foi determinada através de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC- Waters). A coluna de separação utilizada foi a WATERS SYMMETRY C18 (5µm, 150 x 4,6 mm). A detecção foi realizada através um detector de UV (273 nm) Waters.

Para análise 1 g de cafeína foi dissolvido em 100 mL de solução metanol:água 20:80 e posteriormente 1 mL desta solução foi diluída até 100 mL com água obtendo uma concentração de 100 ppm. Antes de proceder a cromatografia, as amostras foram filtradas a vácuo utilizando membrana de 0,45 µm e desaerados por 5 min em banho de ultrassom. Os ensaios cromatográficos foram realizados em triplicata.

A separação foi realizada pela aplicação de método isocrático usando como solvente metanol: água 40:60 com uma vazão de 1,1 mL/min.

Para a validação do método de análise quantitativa, uma solução-mãe de cafeína (99,30% de pureza, Naturex) com concentração inicial de 100 ppm foi utilizada para construir uma curva que relaciona a área do pico e a quantidade de

caféina na faixa de concentrações de 80 a 100 ppm. A análise de cada concentração foi realizada em triplicata. A curva foi ajustada por regressão linear e o coeficiente de correlação (R^2) obtido foi de 1,000.

c) Morfologia - Quanto à morfologia, um microscópio ESEM (Environmental Scanning Electron Microscope FEI - Quanta 200FEG) foi utilizado para obter imagens microscópicas das partículas de caféina, a partir de amostras não metalizadas e sem deposição de carbono.

d) Polimorfismo – As análises utilizadas para avaliar as formas I (α) e II (β) de caféina existentes na amostra de partículas foram a calorimetria diferencial de varredura, também denominada de calorimetria exploratória diferencial (DSC), e a difração de raios-X.

O calorímetro diferencial de varredura utilizado é um DSC 822e Mettler Toledo SAE, equipado com um sensor cerâmico FSR5 de alta sensibilidade e trabalha na faixa de temperaturas de -150 até 700°C, com resolução de 0,04 μ W e sensibilidade de 15 (μ V/ μ W). As curvas DSC foram obtidas na faixa de temperatura entre 25 e 500 °C, sob atmosfera dinâmica de nitrogênio de qualidade analítica (50 mL.min⁻¹), razão de aquecimento de 10 °C.min⁻¹ e utilizando cápsulas de alumínio parcialmente fechadas contendo aproximadamente de 2,5 mg de amostra.

A técnica de difração de raios-X foi realizada em um equipamento PHILIPS PW1830, com divergência automática e tubo de anodo de cobre (voltagem = 40 kV e corrente = 30 mA). Os difratogramas foram obtidos entre 5° e 50° (ângulo 2 θ) com um passo de 0,02° e um tempo de aquisição de 800 ms.

5. RESULTADOS OBTIDOS

A obtenção de partículas de cafeína a partir da descafeinização da erva-mate utilizando o processo de extração supercrítica com dióxido de carbono requer descafeinar a erva-mate através do processo de extração supercrítica obtendo o extrato com cafeína e as curvas de extração. Com as curvas de extração procedeu-se a modelagem matemática e definiu-se qual a condição de extração para maior rendimento e menor teor de cafeína na erva-mate. A cafeína do extrato supercrítico obtido a partir da erva-mate foi purificada por sublimação. Para a micronização utilizou-se cafeína proveniente de uma planta de descafeinização de café.

5.1. Resultados da Primeira Etapa de Extração Supercrítica

Os testes preliminares foram realizados, como citado no capítulo 4, possibilitando a caracterização do extrato, o levantamento das curvas de extração e a modelagem do processo. A condição de descafeinização associada à maior concentração de cafeína no extrato se dá em 15,0 MPa/323,15 K como apresenta a Tabela 5.1. Estes dados confirmam a alta seletividade do dióxido de carbono para cafeína seguida pela teobromina como apontado também por Saldanha et al. (1999).

Tabela 5.1 Concentração da cafeína e teobromina no extrato supercrítico de erva-mate.
ND: Não Detectado.

Condição de extração	Cafeína (% em massa)	Teobromina (% em massa)
12,0 MPa/313,15 K	25,7 ± 0,2	0,271 ± 0,003
15,0 MPa/323,15 K	33,6 ± 0,3	0,234 ± 0,003
17,0 MPa/333,15 K	12,7 ± 0,1	0,144 ± 0,002
20,0 MPa/323,15 K	10,1 ± 0,1	ND

Polifenóis (derivados do ácido cafeico e flavonóides) e metilxantinas foram analisados no extrato obtido e na erva-mate antes e depois da extração através de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) e os resultados são apresentados na Tabela 5.2. Os resultados indicam que somente a cafeína (majoritário) e teobromina foram extraídas do vegetal com dióxido de carbono supercrítico. Os dados da Tabela 5.2 são expressos em % em massa seca.

Tabela 5.2. Composição das amostras (% em massa).

Componentes	EMA	EMD	E
Cafeína	1,038 ± 0,009	0,686 ± 0,008	12,700 ± 0,1
Teobromina	0,167 ± 0,002	0,127 ± 0,001	0,144 ± 0,002
Ácido clorogênico	1,659 ± 0,009	1,566 ± 0,009	ND
Ácido cafeico	0,030 ± 0,001	0,027 ± 0,001	ND
3,4 – DCQ	0,423 ± 0,003	0,367 ± 0,003	ND
3,5 DCQ	4,250 ± 0,020	2,970 ± 0,030	ND
4,5 DCQ	1,230 ± 0,010	1,210 ± 0,010	ND
Rutina	1,070 ± 0,010	1,070 ± 0,010	ND
Quercetina	0,008 ± 0,002	0,004 ± 0,002	ND
Kaempferol	ND	ND	ND

E: Extrato obtido a 17,0 MPa e 333,15 K;

EMA: erva-mate antes da extração supercrítica;

EMD: erva-mate depois da extração supercrítica;

ND: Não Detectado.

O máximo rendimento de extrato, expresso em % da massa de extrato em relação à massa de erva-mate, é apresentado na Tabela 5.3 e ocorre para a menor temperatura (313,15 K) em todas as pressões. O rendimento aumenta com o decréscimo da temperatura; o efeito da pressão é menos evidente.

Tabela 5.3. Rendimento total de extrato supercrítico de erva-mate.

	Rendimento máximo (% em massa)			
	313,15 K	323,15 K	333,15 K	343,15 K
12 MPa	1,00	0,38	0,08	0,09
15 MPa	0,79	0,44	0,13	0,17
17 MPa	1,00	0,43	0,28	0,35
20 MPa	1,00	0,33	0,26	0,12

Estes resultados (Tabela 5.3) podem ser explicados pelo fato da forte variação da densidade do CO₂ próximo de seu ponto crítico (Perrut et al., 1997). Nesta região o CO₂ supercrítico possui uma densidade absoluta próxima da densidade do estado líquido e o poder de solubilidade cresce com a densidade.

Os dados experimentais resultantes do processo de extração supercrítica de *Ilex paraguariensis* mostraram a existência de dois períodos distintos durante o curso da extração indo ao encontro do modelo proposto por Sovová et al. (2007). Este fato permite o uso deste modelo matemático, onde a concentração de equilíbrio na fase fluida pode ser estimada a partir da declividade das curvas de extração nos dois períodos observados (Figura 3.4). O processo de extração supercrítica da *Ilex paraguariensis* com CO₂ demonstrou a existência de dois diferentes períodos, um controlado pelo equilíbrio de fases e outro pela resistência à transferência de massa para as condições de pressão aqui investigadas (Cassel et al., 2010). A parte inicial de todas as curvas de extração possui um comportamento linear (Figuras 5.1, 5.1, 5.3, e 5.4) e a segunda parte tende a um valor assintótico.

Os valores dos parâmetros S_1 , S_2 , e_1 , e K usados na modelagem do processo de extração supercrítica da erva-mate são apresentados nas Tabelas 5.4, 5.5, 5.6 e 5.7 para diferentes pressões e temperaturas.

Tabela 5.4. Parâmetros da curva de extração de erva-mate obtidos pelo ajuste dos dados experimentais a 12,0 MPa.

Pressão - 12,0 MPa				
Temperatura(K)	313,15	323,15	333,15	343,15
S ₁ (g/g CO ₂)	0,00095	0,0003	0,00008	0,0002
S ₂ (g/g CO ₂)	0,00024	0,00008	0,00001	0,000005
e ₁ (%)	0,0076	0,0030	0,00064	0,00085
K (g/g)	0,100	0,100	0,071	0,062

Tabela 5.5. Parâmetros da curva de extração de erva-mate obtidos pelo ajuste dos dados experimentais a 15,0 MPa.

Pressão – 15,0 MPa				
Temperatura (K)	313,15	323,15	333,15	343,15
S ₁ (g/g CO ₂)	0,0006	0,0008	0,00013	0,000165
S ₂ (g/g CO ₂)	0,00009	0,00008	0,000036	0,000022
e ₁ (%)	0,0072	0,0035	0,00104	0,0013
K (g/g)	0,099	0,062	0,101	0,062

Tabela 5.6. Parâmetros da curva de extração de erva-mate obtidos pelo ajuste dos dados experimentais a 17,0 MPa.

Pressão – 17,0 MPa				
Temperatura (K)	313,15	323,15	333,15	343,15
S ₁ (g/g CO ₂)	0,0008	0,00018	0,0002	0,0005
S ₂ (g/g CO ₂)	0,0001	0,00003	0,000056	0,000054
e ₁ (%)	0,0094	0,003978	0,00241	0,003
K (g/g)	0,124	0,083	0,125	0,099

Tabela 5.7. Parâmetros da curva de extração de erva-mate obtidos pelo ajuste dos dados experimentais a 20,0 MPa.

Pressão – 20,0 MPa				
Temperatura(K)	313,15	323,15	333,15	343,15
S ₁ (g/g CO ₂)	0,0007	0,00009	0,00007	0,000052
S ₂ (g/g CO ₂)	0,00018	0,000026	0,000005	0,000024
e ₁ (%)	0,0082	0,0030	0,0025	0,00088
K (g/g)	0,071	0,083	0,150	0,083

Os resultados para as quatro condições de pressão investigadas são apresentados nas Figuras 5.1, 5.2, 5.3, e 5.4. O rendimento (e) é apresentado como função da quantidade específica acumulada de solvente que é obtido multiplicando o tempo pela taxa de massa de solvente em relação a N (massa de sólido isenta de soluto), (Equações 4.1 e 4.2).

Os dados experimentais foram ajustados pelo modelo e os dois períodos de extração são identificáveis e o comportamento assintótico do segundo período pode ser identificado nas Figuras 5.1, 5.2, 5.3, e 5.4. O teste qui-quadrado (χ^2) foi realizado com 5% de nível de significância ($\alpha = 0,05$), e constatou-se que o valor calculado de χ^2 é menor que o valor tabelado para as curvas de extração para cada condição de temperatura e pressão, (Montgomery e Runger, 2007). Assim não é rejeitada com nível de significância de 5%, a hipótese de que a relação entre o rendimento da extração e a relação de solvente acumulado (q) está de acordo com o modelo matemático proposto indicando que o modelo utilizado é congruente com os dados experimentais obtidos. Estes resultados poderão ser utilizados para subsidiar o *scale-up* para processo industrial.

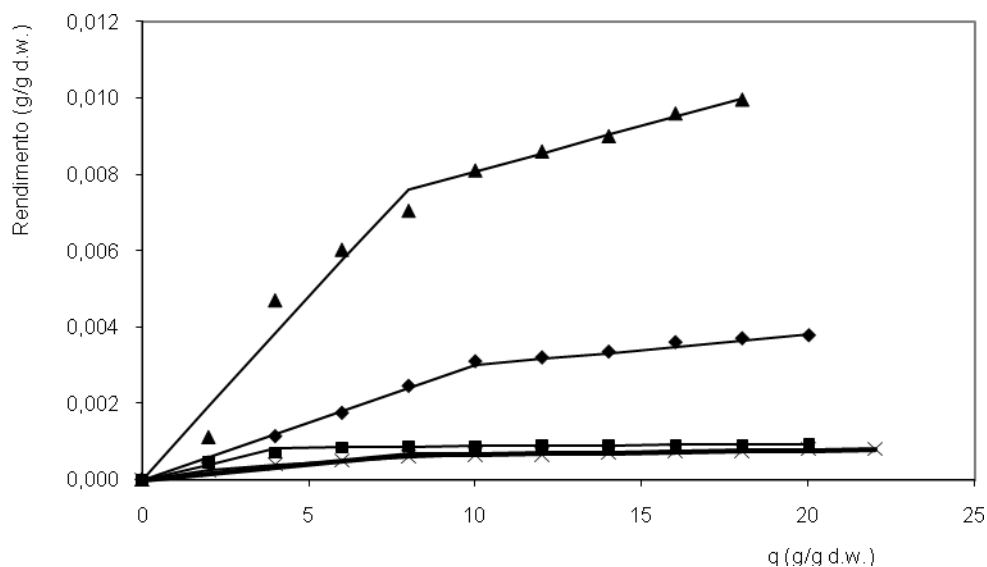


Figura 5.1. Rendimento da extração supercrítica com *I. paraguariensis* com CO₂ a 12,0 MPa. Temperaturas: (▲)313,15K; (◆)323,15K; (×)333,15K; (■)343,15K; (—)Eqs. (1) and (2) com parâmetros da Tabela 5.4.

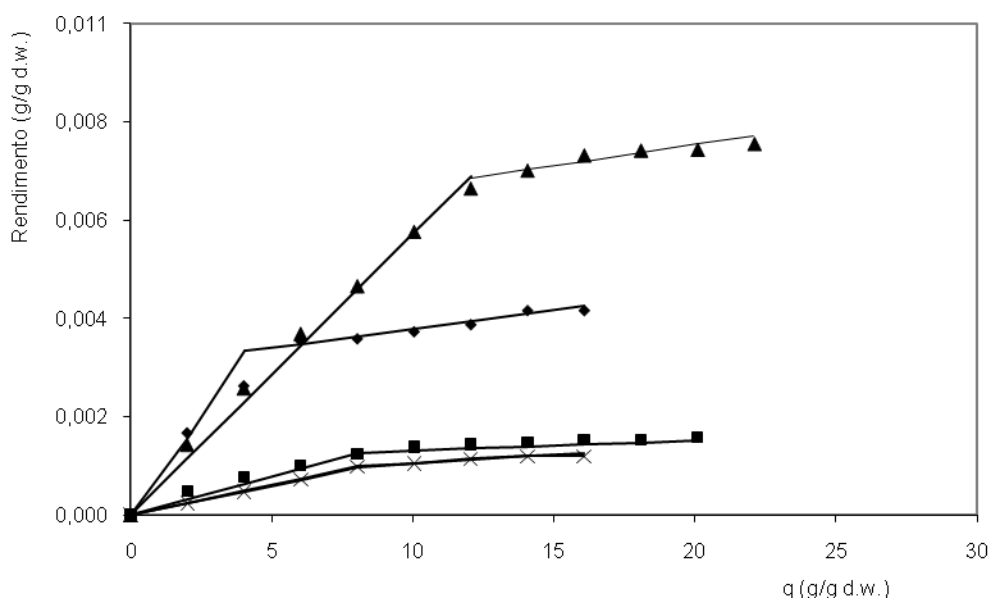


Figura 5.2. Rendimento da extração supercrítica com *I. paraguariensis* com CO₂ a 15,0 MPa. Temperaturas: (▲)313,15K; (◆)323,15K; (×)333,15K; (■)343,15K; (—)Eqs. (1) and (2) com parâmetros da Tabela 5.5.

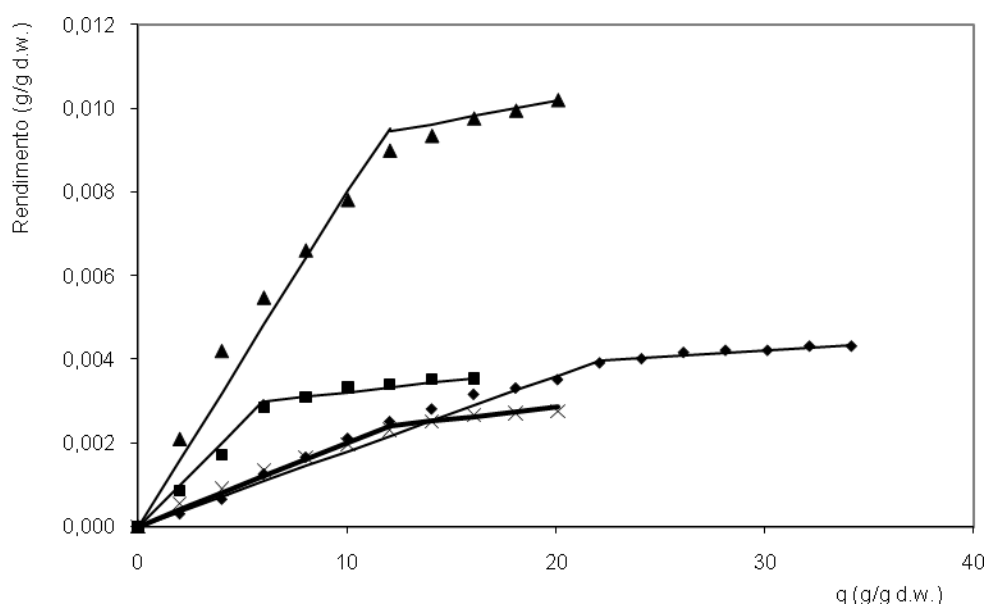


Figura 5.3. Rendimento da extração supercrítica com *I. paraguariensis* com CO₂ a 17,0 MPa. Temperaturas: (▲)313,15K; (◆)323,15K; (×)333,15K; (■)343,15K; (—)Eqs. (1) and (2) com parâmetros da Tabela 5.6.

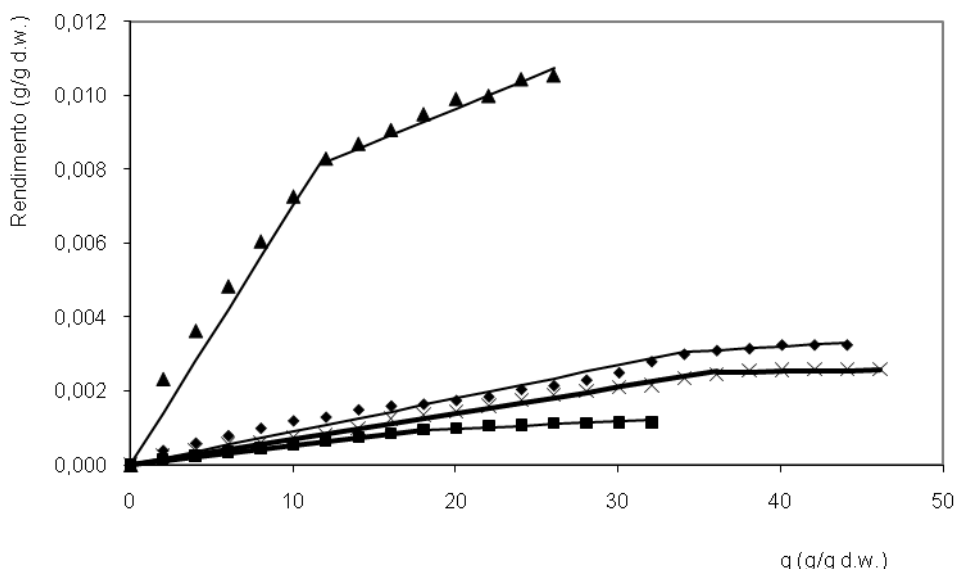


Figura 5.4. Rendimento da extração supercrítica com *I. paraguariensis* com CO₂ a 20,0 MPa. Temperaturas: (▲)313,15K; (◆)323,15K; (×)333,15K; (■)343,15K; (—)Eqs. (1) and (2) com parâmetros da Tabela 5.7.

A dependência do rendimento de extração com a temperatura é evidente a partir dos dados experimentais para as condições de pressão investigadas.

5.2. Resultados da Segunda Etapa de Extração Supercrítica

5.2.1. Rendimentos da Extração Supercrítica

Com os resultados da primeira etapa de extração e o planejamento de experimentos descrito no item 4.1, obteve-se o rendimento da extração para as condições mostradas na Tabela 5.8. Os resultados demonstraram que a condição em que se obtém o maior rendimento em massa é a de 15,0 MPa e 323,15 K (50°C). Não há concordância total destes resultados com os obtidos previamente para a obtenção das faixas de operação do equipamento (Tabela 5.3). Isto se deve ao fato da amostra de erva-mate utilizada não ser a mesma, pois se tratando de um produto natural as suas propriedades são dependentes de variáveis como clima e época de colheita. Também se considera o fato que os testes da primeira etapa foram realizados no vaso extrator de 1,0 L com uma massa de erva-mate de 0,2 kg enquanto que os rendimentos apresentados na Tabela 5.8 foram obtidos a partir da extração num vaso menor de 0,5 L com massa de erva-mate de 0,1 kg. A relação

massa de erva/volume do reator manteve-se constante nas duas condições, conseqüentemente a densidade *bulk* é a mesma levando à mesma porosidade. Considerando que a vazão de gás seja a mesma, como os diâmetros são diferentes, as velocidades do gás serão diferentes e conseqüentemente o tempo de contato.

Tabela 5.8. Rendimento em massa de extrato supercrítico de erva-mate.

Pressão (MPa)	T (K / °C)		Rendimento (% em massa)
15,00	323,2	50,0	1,030
15,00	323,2	50,0	1,110
15,00	323,2	50,0	0,917
19,20	323,2	50,0	0,701
10,76	323,2	50,0	0,489
15,00	337,3	64,1	0,292
15,00	308,9	35,7	0,468
18,00	333,2	60,0	0,765
18,00	313,2	40,0	0,588
12,00	333,2	60,0	0,021
12,00	313,2	40,0	0,200

5.2.2 Quantificação da cafeína

A quantidade de cafeína na erva-mate, na erva-mate descafeinada e no extrato foi determinada através da cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) comparando as áreas dos picos obtidos com os resultados obtidos para uma solução padrão. A análise cromatográfica da solução de erva-mate antes da extração, da erva-mate depois da extração e do extrato é mostrada nas Figuras 5.5, 5.6, 5.7 evidenciando a seletividade do CO₂ para a cafeína no caso da erva-mate. No extrato obtido a partir da extração supercrítica da erva-mate, a quantidade de cafeína foi determinada por um balanço de massa (diferença entre a cafeína da erva-mate antes

e depois da extração) e por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC). A Tabela 5.9 apresenta os resultados médios da quantificação da cafeína.

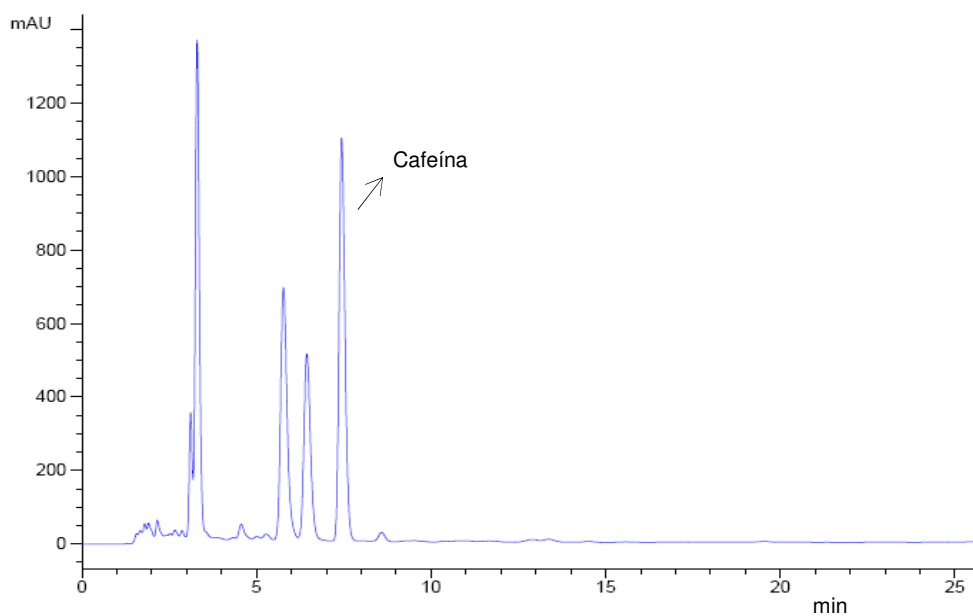


Figura 5.5. Cromatograma da solução de erva-mate antes da extração supercrítica.

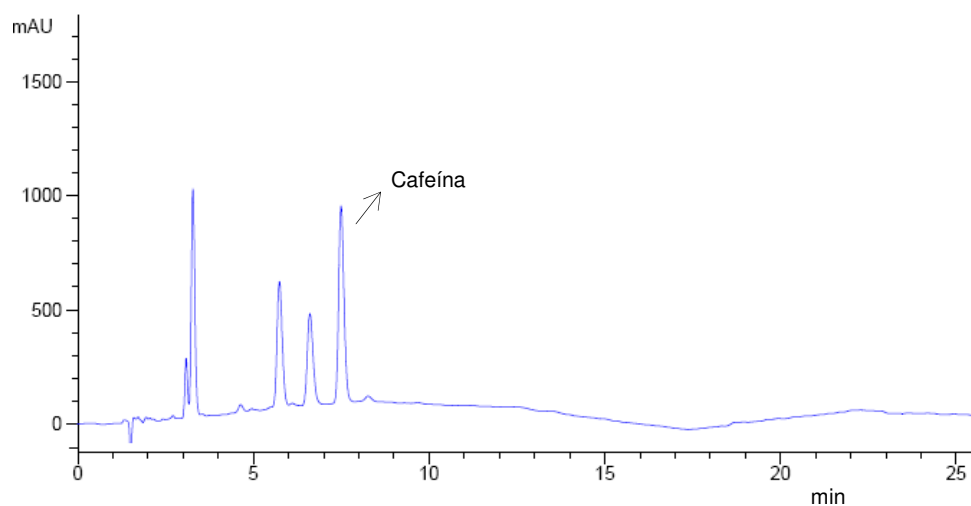


Figura 5.6. Cromatograma da solução de erva-mate depois da extração supercrítica (15,0MPa/323,15K).

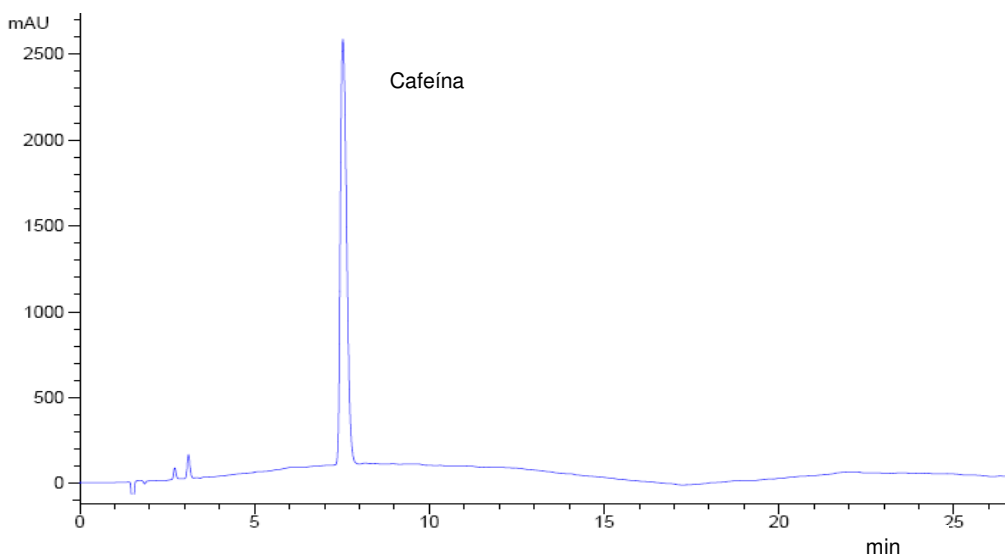


Figura 5.7. Cromatograma da solução de extrato de erva-mate da extração supercrítica (15,0MPa/ 323,15K).

A composição da cafeína na erva-mate antes do processamento é de $1,146 \pm 0,001$ % similar ao citado na literatura (Filip et al., 1998; Lopes et al., 2007; Andrade et al., 1995). Ao analisar a Tabela 5.9 verifica-se a coincidência do ponto de maior rendimento com o de maior quantidade em massa da cafeína no extrato (15,00 MPa e 323,15 K) para erva-mate analisada. Na condição de extração de 15,00 MPa e 337,15 K obteve-se a maior valor para concentração de cafeína no extrato (60,62 %) mas o rendimento nesta condição é muito pequeno (0,292 %) o que leva a uma pequena massa de cafeína extraída. A diferença entre a massa obtida pelo balanço de massa e a massa obtida pela análise cromatográfica do extrato pode ser atribuída ao fato da aderência do extrato nas paredes do tubo desde o vaso de extração até a válvula de expansão. Este fato foi observado quando, após a realização das duas primeiras extrações para as mesmas condições de pressão e temperatura, o rendimento na segunda vez caiu drasticamente. Notou-se que o equipamento e tubulações necessitavam de limpeza com a passagem de etanol e CO_2 após cada extração. Essa rotina foi adotada para todas as extrações para que não houvesse extrato nas tubulações de testes anteriores. Quando ocorre a expansão, o extrato não se deposita somente no fundo do frasco, mas também nas paredes, o que pode ter colaborado para que a diferença na quantidade de cafeína no extrato sempre fosse menor quando determinada pelo HPLC.

Tabela 5.9. Massa e composição de cafeína. Onde EMA: erva-mate antes da extração supercrítica; EMD: erva-mate depois da extração supercrítica; E: Extrato.

P (MPa)	T (K)	Análise HPLC		Balanço de Massa		Análise HPLC
		EMA (g)	EMD (g)	E (g)	E (%)	E (g)
15,00	323,15	1,719 ± 0,001	1,028 ± 0,018	0,691	44,58	0,676 ± 0,019
15,00	323,15	1,146 ± 0,001	0,736 ± 0,018	0,410	36,94	0,394 ± 0,019
15,00	323,15	1,146 ± 0,001	0,666 ± 0,018	0,480	52,34	0,399 ± 0,019
19,24	323,15	1,146 ± 0,001	1,015 ± 0,031	0,131	18,69	0,115 ± 0,022
10,76	323,15	1,146 ± 0,001	0,922 ± 0,006	0,224	45,81	0,179 ± 0,008
15,00	337,15	1,146 ± 0,001	0,969 ± 0,000	0,177	60,62	0,102 ± 0,004
15,00	308,15	1,146 ± 0,001	0,972 ± 0,007	0,174	37,24	0,156 ± 0,008
18,00	333,15	1,146 ± 0,001	1,029 ± 0,022	0,117	5,61	0,098 ± 0,018
18,00	313,15	1,146 ± 0,001	1,042 ± 0,004	0,104	13,59	0,086 ± 0,020
12,00	333,15	1,146 ± 0,001	1,136 ± 0,001	0,010	47,61	ND
12,00	313,15	1,146 ± 0,001	1,029 ± 0,001	0,117	58,5	ND

ND: Não Detectado.

E (%): fração em massa de cafeína em relação à massa de extrato obtida.

A condição exigida por lei para erva-mate ser considerada descafeinada é de um teor menor que 0,1 %, o que não foi atingida nas condições estudadas (0,6% em média na condição de 15,00 MPa e 323,15 K), mas pode ser considerado um produto de valor agregado com teores menores de cafeína que a erva-mate convencional. Uma alternativa é a adição de co-solventes polares conforme Kopcak e Mohamed (2005) que mostraram o aumento da solubilidade de cafeína em misturas de solventes supercríticos em comparação com o dióxido de carbono puro.

A cafeína contida no extrato foi purificada por sublimação, através do método descrito no item 4.3, para as três amostras obtidas na condição de maior rendimento (P = 15,0 MPa e T = 323,15 K). A quantificação de cafeína na amostra de cafeína purificada foi realizada através de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) e obteve-se o valor médio de $91,11 \pm 0,08$ % em massa.

5.3. Resultados do Processo de Micronização (SAS)

Experimentos com três solventes e diferentes concentrações iniciais de cafeína, variando pressão e temperatura, foram realizados com o objetivo de estudar o efeito nas características das partículas precipitadas. As soluções da cafeína foram injetadas no precipitador conforme metodologia descrita no item 4.4.

5.3.1. Rendimento

Com as partículas coletadas determinou-se o rendimento de obtenção relacionando a massa de cafeína injetada e a massa das partículas de cafeína recolhidas. Durante a coleta ocorria perda de partículas, pois o pó resultante era muito leve e algumas permaneciam aderidas à parede do vaso de precipitação. A Figura 5.8 mostra as partículas de cafeína obtidas no vaso de precipitação após a etapa de secagem com dióxido de carbono quando utilizada a maior concentração de cafeína com o solvente diclorometano (SAS12).



Figura 5.8. Cafeína após processamento no vaso de precipitação.

Não houve a precipitação de partículas para as soluções com os solventes etanol e acetato de etila em nenhuma das concentrações utilizadas. Para o solvente diclorometano, só não houve precipitação de partículas para a menor concentração conforme mostra Tabela 5.10.

Nesta tabela apresenta-se o rendimento dos experimentos realizados em duplicata para cada condição especificada de operação, demonstrando a reprodutibilidade do processo.

Tabela 5.10. Rendimento de precipitação em massa.

Exp.	Amostra	P (MPa)	T (K)	Rendimento 1 (%)	Rendimento 2 (%)
5	SAS1	10	313,15	0,00	0,00
6	SAS4	10	313,15	6,53	5,69
7	SAS6	10	313,15	43,18	39,86
8	SAS8_1	10	313,15	78,08	77,49
9	SAS8_3	8	313,15	78,90	76,32
10	SAS8_4	12	313,15	9,80	8,54
11	SAS8_5	10	333,15	93,02	94,51
12	SAS8_6	10	303,15	8,02	6,48
13	SAS10	10	313,15	72,64	71,60
14	SAS12	10	313,15	77,98	78,38

Estes resultados de precipitação podem ser justificados analisando as condições do equilíbrio de fases durante a precipitação. A precipitação é determinada pela solubilidade da cafeína no sistema solvente-antisolvente. Na faixa de 9 a 15 MPa, o dióxido de carbono é completamente miscível com etanol, acetato de etila e diclorometano como mostra a Figura 5.9, onde os pontos do diagrama P-xy foram calculados com a Equação de estado Peng Robinson (Martín e Cocero, 2008).

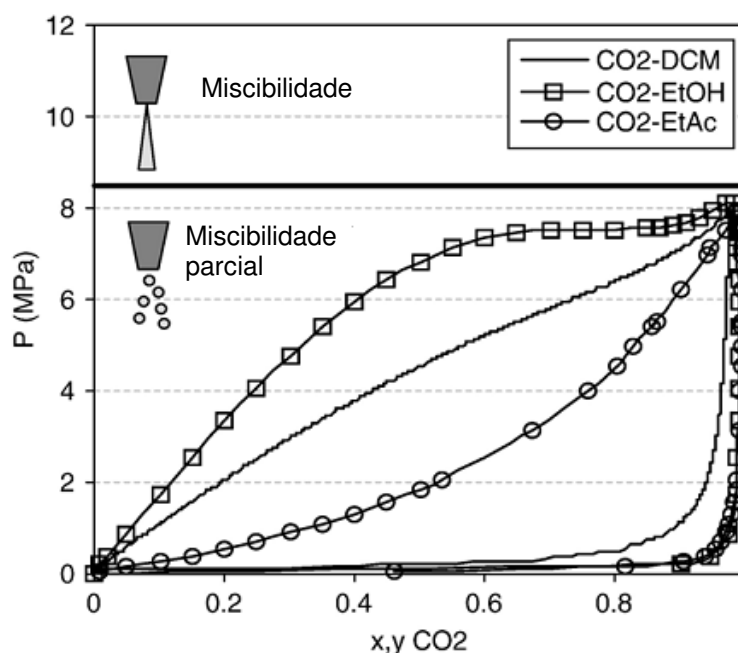


Figura 5.9. Diagrama P-xy dos sistemas: CO₂-etanol, CO₂-acetato de etila, CO₂-diclorometano a 313,15 K. (Adaptado de Martin e Cocero, 2009).

A Figura 5.10 apresenta o diagrama de equilíbrio de fases pressão versus composição calculada pela equação de estado Peng–Robinson para o sistema CO₂ + diclorometano a 303,15, 313,15 e 333,15 K (Brun et al., 2012). Então, a análise da solubilidade da cafeína nas diferentes misturas de solvente/antisolvente (etanol/dióxido de carbono, acetato de etila/dióxido de carbono e diclorometano/dióxido de carbono) pode ser realizada considerando um soluto em fase única para a maior parte das condições utilizadas nos experimentos. Esta consideração não é válida para o experimento 9 realizado com pressão de 8 Mpa onde a miscibilidade do solvente e antisolvente é parcial (Figura 5.9) e para o experimento 11 realizado à maior temperatura que como mostra a Figura 5.10 corresponde à região muito próxima às condições supercríticas.

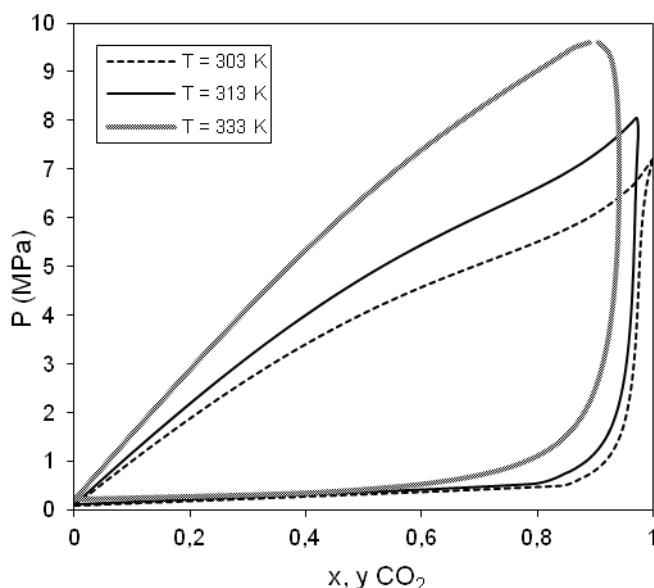


Figura 5.10. Diagrama P-xy para o sistema CO₂-diclorometano a 303,15, 313,15 K e 333,15 K. (Brun et al. , 2012).

A solubilidade da cafeína em dióxido de carbono, em fração molar, é de $1,0 \times 10^{-4}$ medida experimentalmente a 10 MPa e 313,15 K, (Li et al., 1991). Para o sistema dióxido de carbono/diclorometano, a solubilidade da cafeína calculada pela equação de Peng-Robinson, para as mesmas condições de pressão e temperatura, é de $1,02 \times 10^{-4}$, corroborando a hipótese de fase única em condições supercríticas.

A Tabela 5.11 apresenta a fração molar da cafeína na mistura solvente-antisolvente para os experimentos realizados com diferentes solventes, a solubilidade da cafeína no mesmo sistema calculada pela equação de estado Peng-Robinson (Brun et al., 2012) e a supersaturação determinada pela equação 5.1.

$$S = \frac{X_{\text{substância}}}{X_{\text{substância}}^{\text{equilíbrio}}} \quad (5.1)$$

Para a solução com etanol (exp. 2), a fração molar da cafeína é menor que a solubilidade da mesma desfavorecendo a precipitação fazendo com que a cafeína permaneça solubilizada no sistema solvente/antisolvente. Além disto, Kopack e Mohamed (2005) encontraram que a solubilidade da cafeína em misturas supercríticas de dióxido de carbono e etanol é maior nesta mistura de solventes do

que em dióxido de carbono puro. O mesmo acontece com a solução com acetato de etila (exp. 4) não havendo precipitação de partículas. Para estes dois solventes foram testadas soluções saturadas.

Tabela 5.11. Fração molar da cafeína no sistema solvente/antisolvente, solubilidade da cafeína em fração molar e a supersaturação.

Exp.	Amostra	P(MPa)	T(K)	x	Solubilidade	Supersaturação
2	Etanol	10	313,15	$9,0 \times 10^{-5}$	$1,0 \times 10^{-4}$	0,9
4	Acetato de etila	10	313,15	$9,9 \times 10^{-5}$	$1,0 \times 10^{-4}$	1,0
5	SAS1	10	313,15	$8,7 \times 10^{-5}$	$1,0 \times 10^{-4}$	0,9
6	SAS4	10	313,15	$3,5 \times 10^{-4}$	$1,0 \times 10^{-4}$	3,5
7	SAS6	10	313,15	$5,2 \times 10^{-4}$	$1,0 \times 10^{-4}$	5,2
8	SAS8_1	10	313,15	$7,1 \times 10^{-4}$	$1,0 \times 10^{-4}$	7,1
9	SAS8_3	8	313,15	$7,1 \times 10^{-4}$	$2,6 \times 10^{-5}$	27,3
10	SAS8_4	12	313,15	$7,1 \times 10^{-4}$	$1,7 \times 10^{-4}$	4,2
11	SAS8_5	10	333,15	$7,1 \times 10^{-4}$	$1,2 \times 10^{-5}$	59,2
12	SAS8_6	10	303,15	$7,1 \times 10^{-4}$	$2,8 \times 10^{-4}$	2,7
13	SAS10	10	313,15	$8,7 \times 10^{-4}$	$1,0 \times 10^{-4}$	8,7
14	SAS12	10	313,15	$1,0 \times 10^{-3}$	$1,0 \times 10^{-4}$	10,0

Para o solvente diclorometano somente para a condição de menor concentração inicial (SAS1), a fração molar da cafeína é menor que a solubilidade fazendo com que não ocorra a precipitação. A partir do experimento 6 com o solvente diclorometano a fração molar da cafeína é maior que a solubilidade favorecendo a precipitação. A comparação entre estes valores indica que um fator limitante para a obtenção de partículas a partir de soluções é a solubilidade da cafeína no solvente escolhido.

Para mesma condição de temperatura e pressão, nas concentrações maiores de cafeína em diclorometano (amostras SAS12, SAS10, SAS8_1), o rendimento encontra-se em valores próximos, caindo significativamente com a diminuição da concentração inicial (amostras SAS6, SAS4 e SAS1) indo ao encontro de dados da

literatura para o mesmo processo, porém com outras substâncias (Reverchon et al., 2003a, 2003b; Martín e Cocero, 2008).

Para os experimentos em que há variação de pressão, o rendimento é menor (9,17 %) à pressão maior (12 MPa) em função do aumento da solubilidade da cafeína no dióxido de carbono com o aumento da pressão (Li et al., 1991).

Para as pressões utilizadas nos experimentos (menores que 19 MPa), a solubilidade da cafeína em CO₂ exibe um comportamento retrógrado: decresce com o aumento da temperatura (Li et al., 1991; Saldaña et al., 1999; Kopcak and Mohamed, 2005) justificando os resultados encontrados nos experimentos 8, 11 e 12, onde para a maior temperatura (333,15 K) foi obtido o maior rendimento (93,77%) em comparação com a menor temperatura (303,15 K) em que poucas partículas foram coletadas (rendimento = 7,25 %).

5.3.2. Tamanho de Partículas

A distribuição granulométrica e o tamanho das partículas foram determinados utilizando difração de raios laser. A Tabela 5.12 apresenta o tamanho médio volumétrico (d_{50}) para a cafeína não processada e partículas obtidas com o processo SAS. É importante evidenciar que as partículas possuem forma de agulhas sendo muito finas e longas, com comprimentos de 10-20 μm e espessura de 1-2 μm e que o diâmetro medido leva em consideração o volume da partícula relacionado com o diâmetro de uma esfera de mesmo volume.

Para a mesma condição de temperatura e pressão (amostras SAS4, SAS6, SAS8_1, SAS10, SAS12), observa-se que para as maiores concentrações obtiveram-se partículas menores. Este resultado pode ser relacionado com a supersaturação, apresentada na Tabela 5.11, que nestas condições cresce com o aumento da concentração inicial. Quando a supersaturação cresce, a taxa de formação de partículas é incrementada. A cinética de nucleação é proporcional à $\exp(S)$, enquanto o crescimento das partículas é controlado pelo processo de transferência de massa cuja taxa varia somente de forma linear com a concentração do soluto no fluido (Martín e Cocero, 2004). Isto induz a formação de um grande número de núcleos no estágio inicial de nucleação e então o tamanho de cada cristal será reduzido (Miguel et al., 2006). Para as amostras de concentrações maiores (SAS6, SAS8_1, SAS10,

SAS12), o tamanho das partículas encontra-se em torno de um valor médio de $2,577 \pm 0,051 \mu\text{m}$ indicando pouca variação.

Tabela 5.12. Tamanho médio das partículas.

Exp.	Amostra	P (MPa)	T (K)	d_{50} (μm)
	CC*	-	-	$12,246 \pm 0,874$
6	SAS4	10	313,15	$6,365 \pm 0,177$
7	SAS6	10	313,15	$3,111 \pm 0,342$
8	SAS8_1	10	313,15	$2,576 \pm 0,327$
9	SAS8_3	8	313,15	$4,357 \pm 0,251$
10	SAS8_4	12	313,15	$6,465 \pm 0,089$
11	SAS8_5	10	333,15	$638,869 \pm 29,803$
12	SAS8_6	10	303,15	$58,714 \pm 1,620$
13	SAS10	10	313,15	$2,659 \pm 0,267$
14	SAS12	10	313,15	$2,495 \pm 0,873$

* Amostra de cafeína não processada.

Para os experimentos em que houve variação de pressão (SAS8_1, SAS8_3 e SAS8_4), não foi observado uma relação direta com o tamanho da partícula. Para a pressão maior encontrou-se a maior partícula, que pode estar associado ao aumento de densidade da mistura supercrítica e também está de acordo com a redução da supersaturação causada pelo aumento da solubilidade da cafeína no CO_2 supercrítico quando a pressão aumenta (Tabela 5.11). Com este acréscimo da densidade, com o aumento da solubilidade da cafeína na mistura supercrítica e com menor grau de supersaturação, há a formação de poucos núcleos com crescimento maior. Reverchon et al. (2008) sumarizaram dados de literatura sobre partículas esféricas e sua morfologia em uma ampla faixa de condições de operação com processo SAS. Para o parâmetro pressão, os autores encontraram em alguns casos que para o decréscimo da pressão corresponde um acréscimo no diâmetro da partícula e em outros, o efeito é contrário.

Para as amostras SAS8_1, SAS8_5 e SAS8_6, em que a temperatura é variável, observa-se um aumento considerável no tamanho da partícula para a

temperatura maior (SAS8_5), mesmo que a supersaturação estimada seja a maior entre todos os experimentos. Para a temperatura mais baixa, também houve um aumento no tamanho da partícula. Estes resultados podem ser devido à operação na vizinhança ou dentro da região de duas fases e conseqüente formação de partículas a partir de uma fase líquida ao invés do fluido supercrítico. Imagem de SEM das partículas obtidas à maior temperatura mostra falta de homogeneidade no tamanho e morfologia do produto apresentando pequenas partículas aciculares assim como grandes partículas com formato poliédrico e superfícies lisas. Esta tendência é oposta aos resultados encontrados por Park e Yeo (2008) com cafeína recristalizada a partir do processo GAS, mas de acordo com trabalhos prévios dos mesmos autores (Park and Yeo, 2007; Park et al., 2006) onde drogas a base de sulfas foram recristalizadas a partir de soluções com solventes orgânicos a diferentes temperaturas.

As Figuras 5.11 e 5.12 apresentam a análise granulométrica acumulada para a cafeína não processada e para as partículas obtidas a partir das soluções com diclorometano a 10 MPa e 313,15K. Observa-se que para cafeína não processada, a faixa de tamanhos na amostra é maior mostrando que a distribuição é mais heterogênea com uma larga distribuição de tamanhos (até 550 μm). Além da diminuição de tamanho, para as partículas de cafeína processada, verificou-se que a faixa de distribuição é menor tornando a amostra mais homogênea. Pode-se observar que para a amostra de cafeína processada, 85% são menores em média que 7 μm (exceto para a amostra SAS4) e este tamanho aumenta para 40 μm no caso da cafeína não processada.

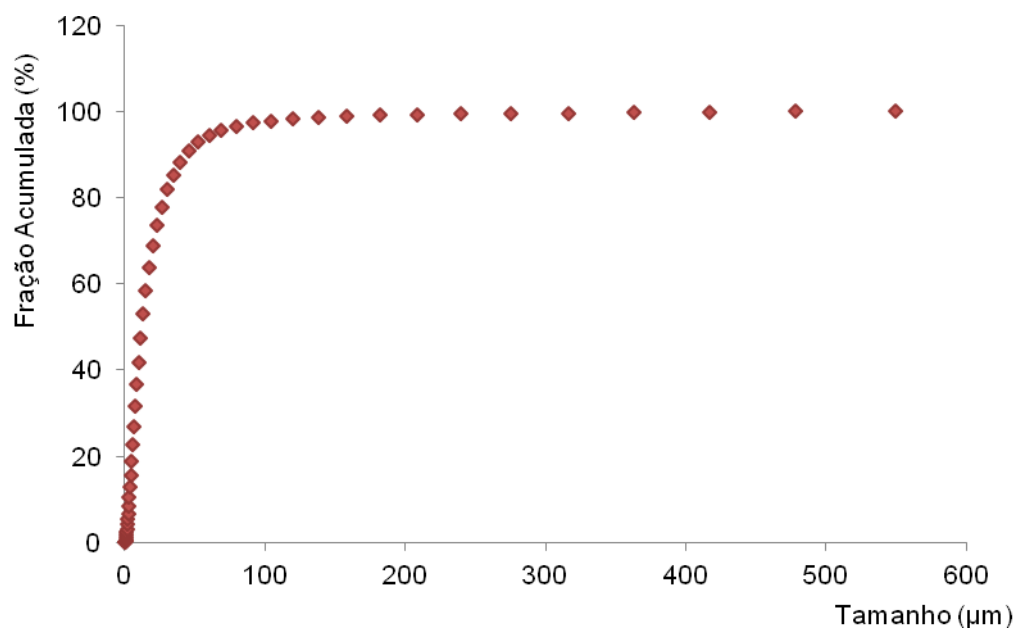


Figura 5.11. Análise granulométrica da cafeína não processada.

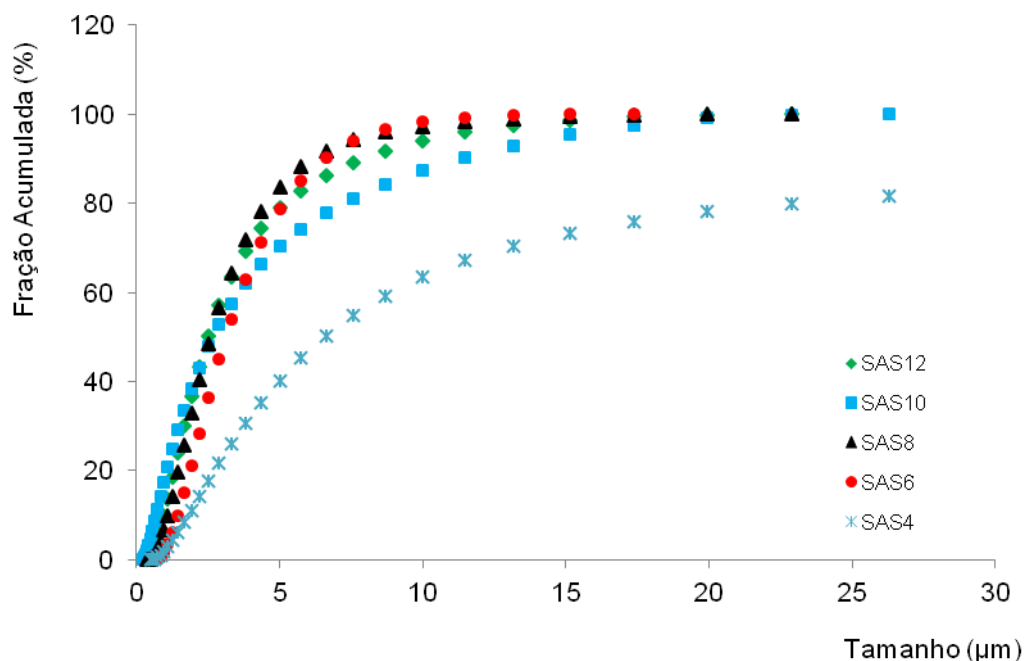


Figura 5.12. Análise granulométrica da cafeína processada ($P=10$ MPa e $T=313,15$ K).

A definição do tamanho para classificação das partículas como nano tem sido muito debatida e depende do campo de aplicação. Considerando a definição proposta por Reverchon e Adami (2006) de um valor de 200 nm como dimensão máxima para sua caracterização, não foram obtidas nanopartículas nos experimentos

realizados, somente micropartículas. A melhor condição de temperatura e pressão, independente da concentração inicial, para obtenção de micropartículas é a de 313,15 K e 10 MPa. Levando em consideração a concentração inicial, nesta mesma condição de temperatura e pressão, nas concentrações maiores (SAS6, SAS8_1, SAS10 e SAS12) foram obtidos tamanhos de partículas menores e próximos ($2,577 \pm 0,051 \mu\text{m}$) com rendimento médio de 75%.

5.3.3. Morfologia

A redução de tamanho também foi observada nas partículas recristalizadas a partir de imagens realizadas com microscópio ESEM (Environmental Scanning Electron Microscope). A Figura 5.13 apresenta a imagem da cafeína não processada proveniente do processo de descafeinização por evaporação. As partículas possuem forma acicular com agulhas menores na superfície. A forma externa das partículas é mostrada nas Figuras 5.14 e 5.15 (mesma magnificação de 3.000x).

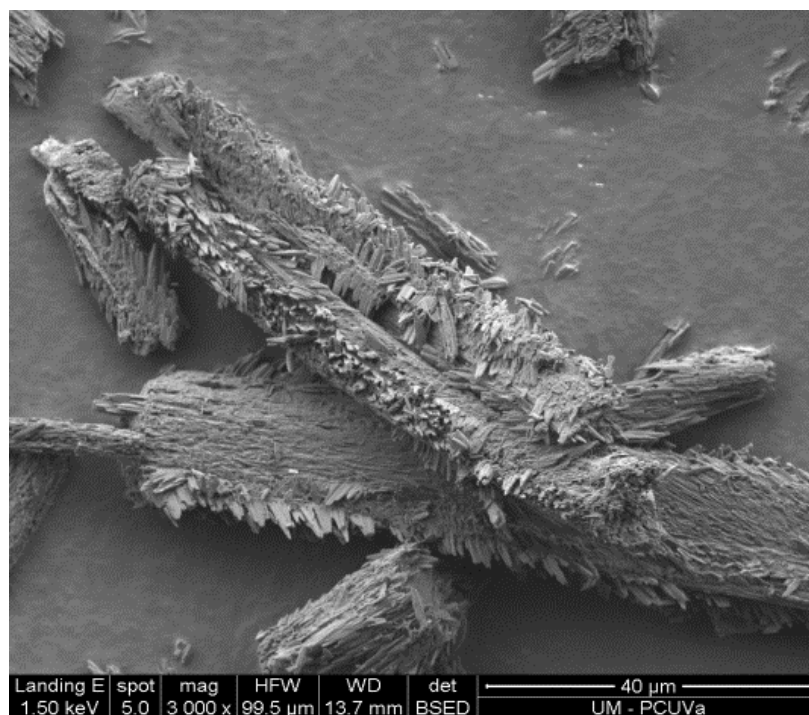
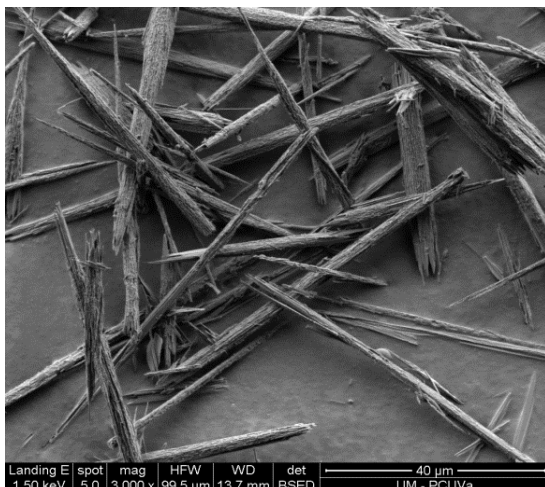


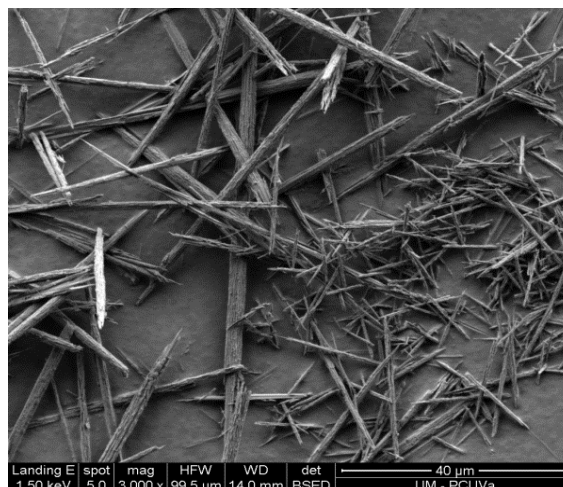
Figura 5.13. Imagem das partículas de cafeína não processada.

A Figura 5.14 mostra imagens das partículas de cafeína obtidas pelo processo SAS para diferentes concentrações iniciais de cafeína a 313,15 K e 10 MPa.

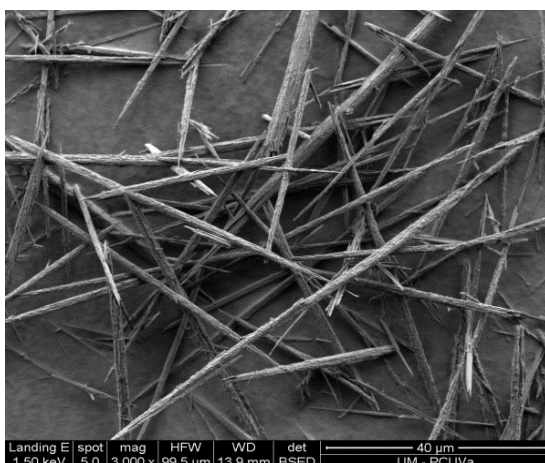
Exp. 7 – SAS6



Exp. 8 – SAS8_1



Exp.13 – SAS10



Exp. 14 – SAS12

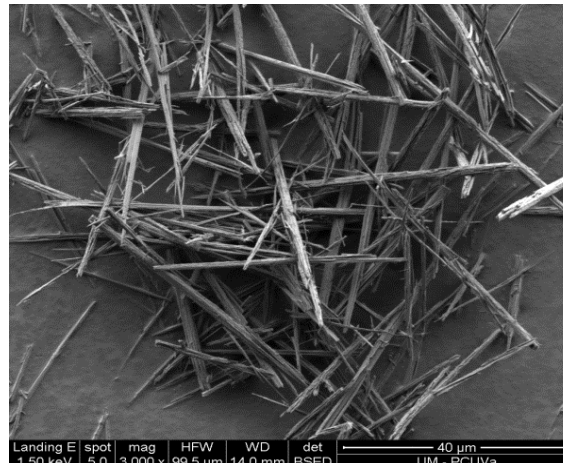
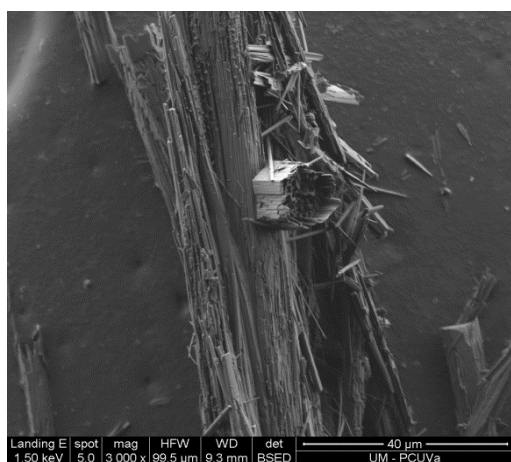


Figura 5.14. Imagens das partículas da cafeína obtidas por precipitação (SAS), condições experimentais apresentadas na Tabela 5.10.

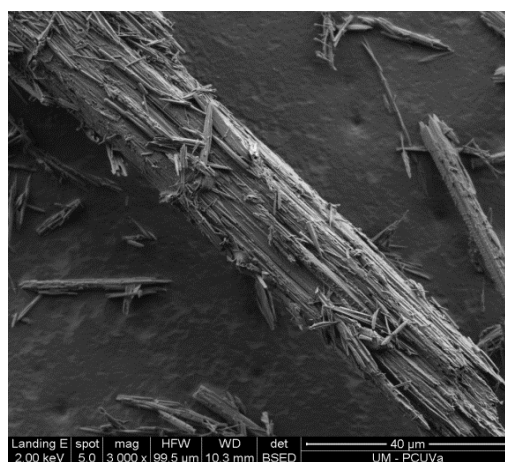
A forma externa das partículas foi modificada pelo processamento não sendo influenciada pela concentração inicial da solução. As partículas recristalizadas de cafeína exibem a forma de agulhas com a superfície mais lisa quando comparadas com as imagens da cafeína não processada, mostrando um arranjo mais ordenado das moléculas. Park e Yeo (2008) encontraram a mesma morfologia para partículas de cafeína processadas por GAS e também distinta das partículas de cafeína não processada usada em seus experimentos.

As partículas obtidas a 8 MPa (SAS8_3) apresentam a superfície com mais rugosidades com uma distribuição de tamanhos mais ampla e partículas maiores como mostra a Figura 5.15. Para o experimento 10 (SAS8_4) realizado a 12 MPa, as partículas apresentam o formato acicular e é possível observar os canais formados, quando utilizada uma magnificação maior (10.000x) e esta morfologia não foi observada em experimentos com pressões menores.

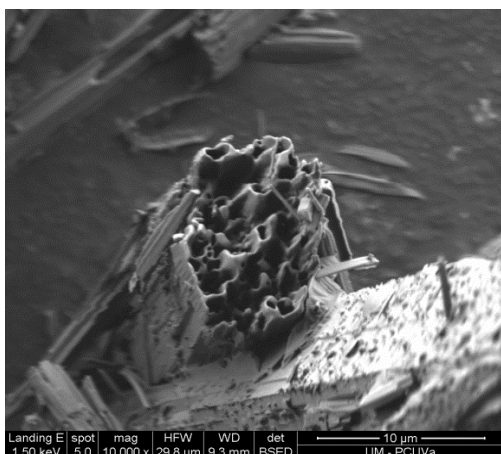
Exp.10 – SAS8_4 (3.000x)



Exp. 9 – SAS8_3 (3.000x)



Exp. 10 – SAS8_4 (10.000x)



Exp. 11 - SAS8_5 (10.000x)

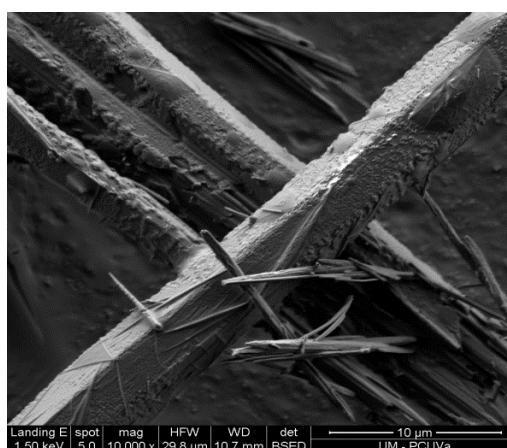


Figura 5.15. Imagens das partículas da cafeína obtidas por precipitação (SAS), condições experimentais apresentadas na tabela 5.10.

Para as partículas obtidas a temperatura de 333,15 K (SAS8_5), a morfologia é distinta: a forma é acicular, mas as partículas possuem uma

superfície mais lisa e com um formato poliédrico com ângulos retos e com uma ampla faixa de tamanhos.

É possível observar a diferença na morfologia ocasionada pelo processo utilizado para recrystalizar a cafeína.

5.3.4. Pureza

As partículas obtidas a partir de soluções com diclorometano possuíam cor mais clara para todos os experimentos e com textura distinta (mais leves) da cafeína original indicando uma possível purificação, confirmada com a análise por cromatografia líquida. A Figura 5.16 mostra o aspecto físico da cafeína proveniente do processo de descafeinação do café a pressão atmosférica antes de ser processada (a) e a cafeína precipitada com o processo SAS de uma solução com diclorometano (b) evidenciando a diferença de coloração.



Figura 5.16. Aspecto físico da cafeína antes (a) e depois do processamento (b) por SAS.

A cafeína não processada possuía uma tonalidade acinzentada que quando dissolvida em diclorometano convertia-se em solução com coloração marrom escuro nas concentrações maiores e coloração amarelada em concentrações menores. Para todas as amostras, houve um aumento da pureza da cafeína, com exceção do experimento realizado na temperatura

mais baixa, mostrando que o processo SAS além de ser um processo de micronização de partículas pode ser utilizado para a purificação da cafeína.

A pureza das amostras de partículas de cafeína foi determinada por HPLC. A Tabela 5.13 apresenta a pureza da cafeína na amostra não processada e das amostras obtidas após processamento a partir da solução com diclorometano.

Tabela 5.13. Pureza da cafeína.

Exp.	Amostra	P (MPa)	T (K)	Pureza (%)
	CC	-	-	92,96 ± 0,10
6	SAS4	10	313,15	95,86 ± 0,24
7	SAS6	10	313,15	96,13 ± 0,33
8	SAS8_1	10	313,15	97,53 ± 0,14
9	SAS8_3	8	313,15	96,72 ± 0,47
10	SAS8_4	12	313,15	96,10 ± 0,23
11	SAS8_5	10	333,15	97,20 ± 0,09
12	SAS8_6	10	303,15	93,56 ± 0,07
13	SAS10	10	313,15	96,13 ± 0,50
14	SAS12	10	313,15	95,07 ± 0,33

Para a mesma condição de temperatura e pressão (10 MPa e 313K), a pureza maior (97,53%) foi obtida com a amostra SAS8_1. Para a condição de mesma pressão e concentração inicial (amostras SAS8_1, SAS8_5, SAS8_6), obteve-se a menor pureza para a menor temperatura. O aumento da pureza pode ser justificado pela solubilização parcial dos contaminantes do produto pelo sistema supercrítico CO₂ + diclorometano.

Para a condição de mesma temperatura e concentração inicial (amostras SAS8_1, SAS8_3, SAS8_4), pode-se concluir que a pressão não possui influência significativa na purificação da cafeína.

A partir dos resultados da Tabela 5.13 observa-se que durante o processamento por SAS, a cafeína não sofre degradações químicas e o produto final é mais puro que o material não processado.

5.3.5. Comportamento térmico

O comportamento térmico das partículas da cafeína foi caracterizado utilizando calorimetria diferencial de varredura (DSC). Desta análise podemos obter a temperatura em que ocorre a transição sólido-sólido (transformação polimórfica) e a temperatura em que ocorre a transição sólido-líquido (fusão) com a informação relativa ao calor de transição e de fusão. Conhece-se que para a cafeína, as análises de calorimetria mostram três picos endotérmicos: o primeiro associado à transição de fase da forma β or II (estável) para a forma α or I (metaestável); o segundo correspondente à fusão da forma α da cafeína e o terceiro associado à evaporação da cafeína líquida. A Tabela 5.14 apresenta os valores de temperaturas e entalpias da transição polimórfica e da fusão para as partículas de cafeína obtidas em diferentes condições de processamento e dados de literatura. Os dois picos endotérmicos foram identificados para todas as amostras de cafeína e as temperaturas em que ocorrem estão de acordo com os dados de literatura (Dong et al., 2006; Lehto, 1998, Cesaro e Starec; 1980). Mas o calor de transição que acompanha cada pico é diferente para a cafeína não processada e a cafeína obtida a partir do SAS dependendo das condições de processamento. Como é mostrado na Tabela 5.14, os resultados das análises de DSC para experimentos independentes (com as mesmas condições de operação, SAS6¹/SAS6² e SAS8_5¹/ SAS8_5²) apresentam valores muito semelhantes, confirmando que os resultados obtidos tanto do processamento SAS como da análise são reprodutíveis.

Os valores do calor de transição sugerem que cristais com diferente cristalinidade são formados quando a cafeína é recristalizada por SAS sob determinadas condições de temperatura e pressão.

Tabela 5.14. Transição de fase e de fusão para cafeína determinados por calorimetria diferencial de varredura (DSC). Onde: ΔH_t : Entalpia da transformação polimórfica; T_t : Temperatura de Transição; ΔH_f : Entalpia de fusão; T_f : Temperatura de fusão; CR: Cristalinidade Relativa.

Amostra	P (MPa)	T (K)	ΔH_t (J/g)	T_t (K)	CR (%)	ΔH_f (J/g)	T_f (K)	CR (%)
SAS6 ¹	10	313,15	7,42	428,15	42	95,69	508,15	93
SAS6 ²	10	313,15	7,81	428,15	44	96,70	508,15	94
SAS8_1	10	313,15	14,44	425,15	82	90,33	508,15	88
SAS8_3	8	313,15	11,33	423,15	65	96,17	509,15	94
SAS8_4	12	313,15	9,57	428,15	55	92,36	509,15	90
SAS8_5 ¹	10	333,15	15,22	420,15	87	91,73	509,15	90
SAS8_5 ²	10	333,15	15,08	420,15	86	92,75	509,15	91
SAS8_6	10	303,15	14,23	428,15	81	97,37	508,15	95
SAS10	10	313,15	18,72	424,15	106	85,43	509,15	83
SAS12	10	313,15	14,10	428,15	80	94,38	508,15	92
CC			9,78	426,15	56	89,93	506,15	88
Cafeína*			17,56	421,15		102,33	509,15	
Cafeína**			16,5	408,15		-	-	
Cafeína***			16,47	426,15		104,07	512,15	

*Dong et al. (2006), (Pureza de 99,9%).

**Lehto, 1998.

***Cesaro e Starec (1980).

Definindo cristalinidade relativa (CR) como a relação entre o calor de transição e fusão de uma amostra processada por SAS e o calor de transição e fusão de literatura obtida para cafeína anidra (Dong et al., 2006), os resultados apresentados na Tabela 5.14 indicam que há uma variação de cristalinidade

nas amostras. Esta cristalinidade relativa pode ser usada para quantificar a proporção entre material cristalino e amorfo (através da relação entre as entalpias de fusão) assim como a proporção entre as formas polimórficas α e β (através da relação entre as entalpias de transição).

Dos resultados da entalpia de fusão e correspondente cristalinidade relativa, observa-se que as amostras processadas por SAS apresentam um grau de cristalinidade maior (90-95% na maioria dos casos) do que as partículas de cafeína não processada obtida por evaporação (88%). Para os experimentos em que há variação de pressão e concentração inicial, o calor de fusão é maior para a temperatura mais baixa indicando um maior ordenamento das moléculas e conseqüentemente um aumento na cristalinidade. A cristalinidade relativa para a temperatura mais baixa é de 95% e para a mais alta é de 90%. A Figura 5.17 apresenta as curvas de calorimetria por varredura das amostras de cafeína recristalizadas a diferentes temperaturas (303,15 K, 313,15 K e 333,15 K). A mesma tendência foi encontrada para cafeína recristalizada a partir de uma solução de clorofórmio pelo processo GAS (Park e Yeo, 2008) e para sulfabenzamida recristalizada a partir de solução de acetona (Park e Yeo, 2006).

Com relação aos resultados da cristalinidade relativa entre as formas polimórficas, podem-se observar grandes diferenças dependendo das condições de processamento. Enquanto a cafeína não processada possuía 56% da forma estável (β), a proporção para esta forma nas partículas recristalizadas por SAS vai desde 40% até cerca de 100%.

Para a amostra SAS6 (42%/44% da forma β de acordo com os resultados de DSC), o valor do calor de transição sugere que a amostra possui mais cafeína na forma α (metaestável) comparativamente com a amostra SAS12 (80% da forma β), porque é necessária uma quantidade menor de calor de transição entre as formas cristalinas. Para confirmar este resultado foram realizadas análises por difração de raios x.

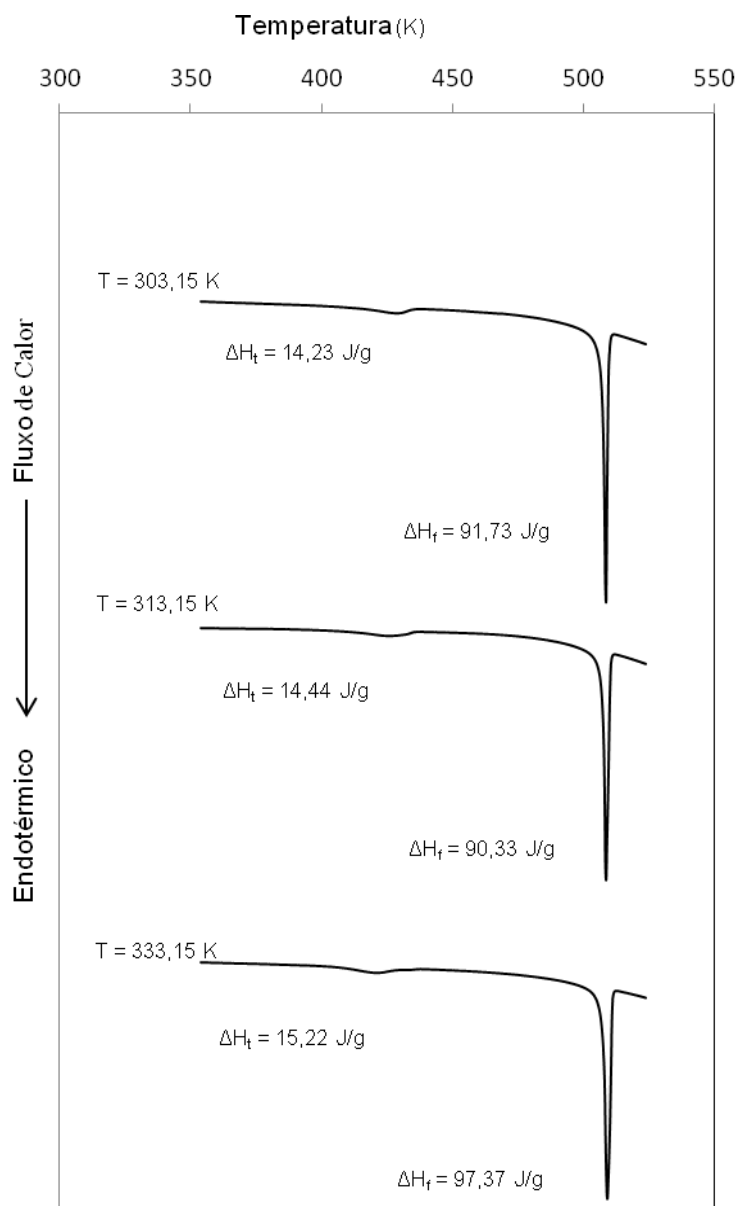


Figura 5.17. Curvas de calorimetria por varredura da cafeína obtidas a diferentes temperaturas. (P = 10 MPa e $c_0 = 0,054$ (g/mL)).

A Figura 5.18 apresenta as curvas obtidas por esta análise para as partículas de cafeína para as amostras SAS6 e SAS12.

Os resultados mostram, para a amostra SAS6, um pico bem definido na faixa de $25^\circ < 2\theta < 28^\circ$, característico da forma α (metaestável) da cafeína (Letho and Laine, 1998; Mazel et al., 2011). Para as partículas da amostra

SAS12, aparecem dois picos na mesma faixa, característicos da forma β ou estável (Descamps et al., 2005; Pirttimäki et al, 1993), justificando o valor maior para o calor de transição obtido nos resultados de calorimetria por varredura.

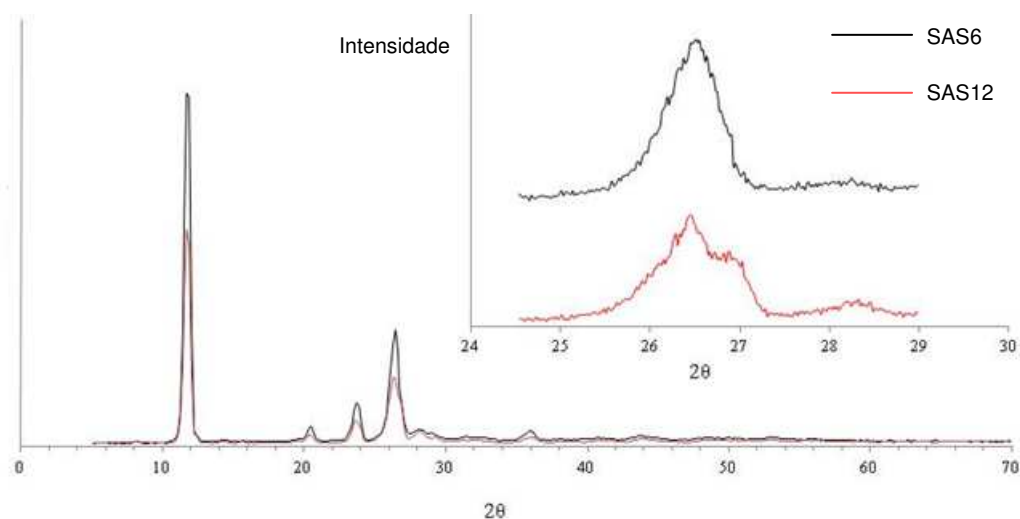


Figura 5.18. Difratograma das amostras SAS6 e SAS12.

Analisando a influência das condições de processo, a 10 MPa, a proporção da forma estável β aumenta quando aumenta a concentração inicial (de 40% na menor concentração até 80-100% nas maiores concentrações) e também quando a temperatura é incrementada (de 80% a 303,15 K para cerca de 86%/87 % a 333,15 K) Os resultados obtidos a baixa e alta pressão (8 MPa e 12 MPa) mostram uma menor proporção da forma estável β (65% e 55%).

Em resumo, as curvas de extração supercrítica foram obtidas para a faixa de pressões de 10,6 – 19,2 MPa e de temperatura de 313,2 – 337,3 K. Os dados experimentais foram ajustados pelo modelo de Sovová et al. (2007) e os dois períodos característicos da operação de extração foram identificados. A hipótese feita acerca da relação entre o rendimento da extração e a relação de solvente acumulado (q) está de acordo com o modelo matemático proposto indicando que o modelo utilizado é congruente com os dados experimentais obtidos.

A quantidade de cafeína na erva-mate, na erva-mate descafeinada e no extrato foi determinada através da cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC). No extrato, a quantidade de cafeína também foi determinada por um balanço de massa (diferença entre a cafeína da erva-mate antes e depois da extração). A composição da cafeína na erva-mate antes do processamento era de $1,146 \pm 0,001$ % similar ao citado na literatura (Andrade et al., 1995; Filip et al., 1998; Lopes et al., 2007). Os resultados demonstraram que o dióxido de carbono é seletivo para a cafeína e que a condição em que se obtém o maior rendimento de extrato de erva-mate é a de 15,0 MPa e 323,15 K (50°C). Nesta condição também foi encontrada a menor quantidade em massa de cafeína na erva-mate extraída e conseqüentemente, a maior quantidade em massa de cafeína no extrato.

A cafeína contida no extrato foi purificada por sublimação para as três amostras obtidas na condição de maior rendimento ($P = 15,0$ MPa e $T = 323,15$ K). A quantificação de cafeína na amostra de cafeína purificada foi realizada através de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) e obteve-se o valor médio de $91,11 \pm 0,08$ % em massa.

Na micronização não houve precipitação de partículas para os solventes etanol e acetato de etila. Das condições operacionais analisadas, a temperatura foi a que mais influenciou no tamanho da partícula obtida a partir da solução com diclorometano sendo que para a pressão não foi encontrada uma tendência clara de influência sobre a dimensão da partícula. Foi encontrado também que com adequada seleção dos parâmetros do processo como temperatura, pressão e concentração inicial, é possível produzir partículas de cafeína com distintos graus de cristalinidade e diferentes quantidades dos polimórficos α e β . A cristalinidade relativa variou de 88% para a cafeína não processada alcançando um valor máximo de 94%. Dependendo da aplicação desejada para o produto, podem-se eleger as condições de processamento (pressão, temperatura, concentração inicial e solvente) segundo os objetivos que o processo pode ter: a formação de micropartículas, quantidade de polimórficos e a purificação.

6. CONCLUSÕES

Este trabalho constou de duas etapas: a descafeinização da erva-mate pela extração supercrítica com dióxido de carbono e a obtenção de micropartículas de cafeína utilizando o fluido supercrítico como anti-solvente (SAS) a partir do extrato obtido do processo de descafeinização.

A redução média da cafeína na erva-mate foi de 40% na condição de 15,0 MPa e 323,15 K (50°C) chegando ao teor mínimo encontrado de 0,6%. A condição exigida pela legislação brasileira para erva-mate ser considerada descafeinada é de um teor menor que 0,1 %, o que não foi atingida nas condições estudadas, apesar de se ter conseguido descafeinar parcialmente a erva-mate. Os resultados obtidos com a adequada modelagem do processo de extração supercrítica poderão ser utilizados para subsidiar o *scale-up* para processo industrial.

Na segunda etapa do trabalho, partículas de cafeína foram micronizadas com sucesso a partir de soluções com o solvente diclorometano utilizando o dióxido de carbono como anti-solvente num processo semi-contínuo (SAS). A análise do produto apresentou uma faixa de tamanhos (d_{50}) de 2,5 a 6,5 μm (10 MPa and 313 K) com uma distribuição estreita de tamanhos em comparação com a cafeína não processada ($d_{50} = 12,2 \mu\text{m}$) que apresentava uma distribuição de tamanhos heterogênea. O processo também não causou degradação do produto, aumentando a pureza da cafeína de $92,96 \pm 0,10 \%$ para um máximo de $97,53 \pm 0,14 \%$.

A produção de partículas de cafeína através do processo semi-contínuo SAS representa uma alternativa com algumas vantagens sobre o processo tradicional: baixas temperaturas, partículas mais uniformes, fácil separação do solvente e maior pureza com menos operações intermediárias. A possibilidade

de obter partículas de cafeína por este processo partindo diretamente de soluções de erva-mate é um campo de investigação interessante que pode propiciar o desenvolvimento de um processo com menos etapas intermediárias na obtenção de partículas, descartando a operação de extração supercrítica. Esta combinação de fatores mostra-se interessante para aplicações industriais.

7. PROPOSTAS PARA TRABALHOS FUTUROS

Como possibilidade de trabalho futuro, na área de extração supercrítica com erva-mate, sugere-se investigar maiores vazões de dióxido de carbono, para verificar sua influência no teor de cafeína final da erva-mate.

Apesar do dióxido de carbono ser altamente seletivo para a cafeína, a solubilidade desta neste solvente é menor quando comparada a solventes orgânicos o que ocasiona a utilização de grandes quantidades de CO₂ e um acréscimo substancial nos custos de operação. A adição de pequenas quantidades de co-solventes polares resulta no aumento da solubilidade de cafeína em misturas de solventes supercríticos em comparação com o dióxido de carbono puro (Kopcak e Mohamed, 2005). Como investigação futura sugere-se a adição de co-solventes polares, como o etanol, em até 10% em massa, para aumentar a polaridade da mistura e conseqüentemente a solubilidade de soluto nesta mescla.

Em relação à micronização pelo processo SAS, a investigação de um outro espectro de condições operacionais para obter partículas com tamanhos menores e que se concentram na faixa caracterizada como nanopartículas é uma possibilidade.

Após o processamento com SAS, foi encontrada uma morfologia distinta das partículas de cafeína original, apresentando canais possibilitando a investigação futura de impregnação das partículas com fármaco ou cosmético aproveitando a característica da cafeína de ser solúvel em água e também possuir hidrofobicidade suficiente para atravessar as membranas biológicas ricas em lipídeos.

Em relação aos equipamentos e acessórios do processo, sugere-se a utilização de outros tipos de bocais de injeção que podem influir na formação

das partículas. Industrialmente, seria indispensável a recirculação do dióxido de carbono, de forma a aumentar o rendimento, diminuir custos e reduzir a quantidade de efluente gasoso a tratar, e implementar a automatização do sistema de recolhimento do produto precipitado.

8. REFERÊNCIAS

ADAMI, R.; Ósseo, L.S.; Huopalahti, R.; Reverchon, E. Supercritical AntiSolvent micronization of PVA by semi-continuous and batch processing. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 42, p. 288-298, 2007.

ALIKARIDIS, F. Natural constituents of *Ilex* species. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 20, n.2, p. 121-144, 1987.

ANASTAS, P. T.; **Green Chemistry: Theory and practice**. New York, Oxford University Press, 1998.

ANDRADE, J. B.; Pinheiro, H. L. C.; Lopes, W. A.; Martins, S.; Amorim, A. M. M.; Brandão, A. M. Determinação de Cafeína em Bebidas através de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE). **Química Nova**. v. 18, p. 379-381, 1995.

ANKLAM, E.; Müller, A. Extraction of caffeine and vanillin from drugs by supercritical carbon dioxide. **Pharmazie**, v. 50, p. 364-5, 1995.

ARAI, Y.; Sako, T.; Takebayashi Y. Supercritical Fluids Molecular Interactions, Physical Properties, and New Applications. Springer-Verlag, 2002. 451 p.

ARANCÍBIA, A.; Pezoa, R. Biodisponibilidad de medicamentos. In: **Simpósio Internacional I**. Editorial Universitária, Universidad de Chile, Santiago, 1992. 309 p.

BAHRAMI, M.; Ranjbarian, S. Production of micro and nano- composite particles by supercritical carbon dioxide. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 40, p. 263-283, 2007.

BECKMAN, E. J. Supercritical and near-critical CO₂ in green chemical synthesis and processing. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 28, p. 121-191, 2004.

BETTINI, R.; Menabeni, R.; Tozzi, R. Pranzo, M.B.; Pasquali, I.; Chierotti, M.R.; Gobetto, R.; Pellegrino, L. Didanosine polymorphism in a supercritical antisolvent process. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 99, p. 1855-1870, 2010.

BRASIL. Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária/ANVISA. Portaria nº234, de 25 de Março de 1998. Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade para Erva-Mate. **Diário Oficial da União**. Brasília, DF, 29 jun 1998.

_____. Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária/ANVISA. Legislação, 2002. Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/anvisaegis/resol/2002/302_02rdc.htm. Acesso em: dezembro de 2008.

BRENNECKE, J.F.; Eckert, C.A. Phase Equilibria for Supercritical Fluid Process Design. **AIChE Journal**, v. 35(9), p. 1409-1427, 1989.

BRUN, G.W.; Martín, Á.; Cassel, E.; Vargas, R.M.F.; Cocero, M.J. Crystallization of Caffeine by Supercritical Anti Solvent (SAS) Process: Analysis of Process Parameters and Control of Polymorphism. **Crystal Growth & Design**. Just Accepted Manuscript, DOI: 10.1021/cg2016758. Publication Date (Web): February 22, 2012.

BURGOS-SOLÓRZANO, G.I.; Brennecke, J.F.; Stadtherr, M.A. Solubility measurements and modeling of molecules of biological and pharmaceutical interest with supercritical CO₂. **Fluid Phase Equilibria**, v. 220, p. 57-69, 2004.

CASSEL, E.; Vargas, R.M.F; Bedinot, C. Unidad Piloto de Extracción Supercrítica Automatizada. In: **Aplicaciones Industriales de los Taninos Vegetales: Productos y Procesos**. EDIPUCRS, Porto Alegre, Brasil, 2007, p. 95-102.

CASSEL, E.; Vargas, R. M. F.; Brun, G.W. Supercritical Extraction of Essential Oil from *Ilex paraguariensis* Leaves. **Natural Product Communications**, v. 3(3), p. 373-378, 2008a.

_____. Processos de Extração Supercrítica Aplicados a Produtos Naturais. In: Eduardo Cassel; Leandro Machado Rocha. (Org.). **Fundamentos de Tecnología de Productos Fitoterapéuticos**. Porto Alegre: EDIPUCRS, 2008b.

CASSEL, E.; Vargas, R. M. F.; Brun, G.W.; Almeida, D. E.; Cogoi, L.; Ferraro, G.; Filip, R. Supercritical Fluid Extraction of Alkaloids from *Ilex paraguariensis* St. Hill. **Journal of Food Engineering**, v. 100, p. 656-661, 2010.

CASSEL, E.; Bedinot, C.; Vargas, R. M. F., **Unidade Piloto de Extração Supercrítica**, 2011 - Privilégio de Inovação PROV020110081175, EQUIPAMENTO DE EXTRAÇÃO SUPERCRÍTICA. 03 de Agosto de 2011 (Depósito).

CESARO, A.; Starec, G. Thermodynamic Properties of Caffeine Crystal Forms. **The Journal of Physical Chemistry**, v. 84, p. 1345-1346, 1980.

CHIOU, A. H.; Yeh, M.; Chen, C.; Wang, D. Micronization of meloxicam using a supercritical fluids process. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 42, p. 120-128, 2007.

CHING, L. C.; Mohamed, S. Alpha-tocopherol content in 62 edible tropical plants. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, n. 6, p. 3101-3105, 2001.

DESCAMPS, M.; Correia, N. T.; Derollez, P.; Danede, F.; Capet, F. Plastic and Glassy Crystal of Caffeine. **The Journal of Physical Chemistry**, v. 109, p. 16092-16098, 2005.

DOMINGO, C.; Wubbolts, F. E.; Rodriguez-Clemente, R.; van Rosmalen G. M. Solid crystallization by rapid expansion of supercritical ternary mixtures. **Journal of Crystal Growth**, v. 198/199, p. 760-766, 1999.

DONG, J.; Li, Q.; Tan, Z.; Zhang, Z.; Liu, Y. The Standard molar enthalpy of formation, molar heat capacities, and thermal stability of anhydrous caffeine. **The Journal of Chemical Thermodynamics**, v. 39, p. 108-114, 2007.

EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – Embrapa Florestas. Erva Mate, Projetos em Foco, 1995. Disponível em <http://www.cnpf.embrapa.br/pesquisa/erva_mate/ervamate.htm>. Acesso em julho de 2011, às 13:00 h.

_____. Cultivo da Erva-mate, segunda edição, versão eletrônica, 2010. Disponível em http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/#erva_mate. Acesso em 27/07/2011, às 11:35h.

FERREIRA S. R. S.; Nikolov Z. L.; Doraiswamy L. K.; Meireles M. A. A.; Petenate A. J. Supercritical fluid extraction of black pepper (*Piper nigrum* L.) essential oil. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 14, 235-245, 1999.

FILIP R.; Lopez P.; Coussio J.; Ferraro, G. Mate Substitutes or Adulterants: Study of Xanthine Content. **Phytotherapy Reserach**, v. 12, p. 129-131, 1998.

FILIP, R.; Lopez, P.; Giberti, G. ; Coussio, J. ; Ferraro, G. Phenolic compounds in seven South American *Ilex* species. **Fitoterapia**, v. 72, p. 774-778, 2001.

FILIP R.; Ferraro, G.;Bandoni, A.L.; Bracesco, N.; Nunes, E.; Gugliucci, A.; Dellacassa, E.; Mate (*Ilex paraguariensis*). In: Filippo Imperato. (Ed.). **Recent Advances in Phytochemistry**. India: Research Signpost, p. 113-131, 2009.

FREDHOLM, B.; Battig, K.; Holmén, J.; Nehlig, A.; Zvartau, E.E. Actions of caffeine in the brain with special reference to factors that contribute to its widespread use. **Pharmacological Reviews**, v. 51, n. 1, p. 83-133, 1999.

FROEHLICH, P.E.; Gasparotto, F.S. Mebendazol: identificação das formas polimórficas em diferentes matérias-primas e medicamentos (referência e genéricos) disponíveis no mercado nacional, **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 26, n. 3, p.205-210, 2005.

GASPAR, F.; Lu, T.; Santos, R.; Al-Duri, B. Modelling the Extraction of Essential Oils with Compressed Carbon Dioxide. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 25, 2003, p. 247.

GARCÍA-CARMONA, J., Fanovich, M.A., Llibre, J.; Rodríguez-Clemente,R.; Domingo, C. Processing of microporous VPI-5 molecular sieve by using supercritical CO₂; stability and adsorption properties. **Microporous and Mesoporous Materials**, v.54, n.1-2, p. 127-137, 2002.

GNOATTO, S.C.; Schenkel, E.P.; Bassani, V.L. HPLC method assay total saponins in *Ilex paraguariensis* aqueous extract. **Journal of Brazilian Chemical Society**, v.16, p.723-725, 2005.

GOKHALE, A.; Khusid, B.; Dave, R.N.; Pfeffer, R. Effect of solvent strength and operating pressure on the formation of submicrometer polymer particles in supercritical microjets. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 43, p. 341-356, 2007.

GUGLIUCCI, A. Antioxidant effects of *Ilex paraguariensis*: induction of decreased oxidability of human LDL *in Vivo*. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 224, p. 338–344, 1996.

HAKUTA, Y.; Hiromichi, H.; Arai, K. Fine particle formation using supercritical fluids. **Current Opinion in Solid State & Materials Science**, v. 7, p. 341-351, 2003.

HE, H.; Cai, Y.; Sun, M.; Corke, H. Extraction and purification of squalene from amaranthus grain. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, p.368, 2002

JUNG, J.; Perrut, M. Particle design using supercritical fluids: Literature and patent survey. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 20, p.179-219, 2001.

LELE, A.K.; Shine, A.D. Morphology of Polymers Precipitated from a Supercritical Solvent. **AIChE Journal**, v. 38, p. 742-752, 1992.

LESSA, B. **A História do Chimarrão**. Porto Alegre: Ed. Sulina, 1953. 120 p.

LETHO, V.; Laine, E. A kinetic study of polymorphic transition of anhydrous caffeine with microcalorimeter. **Thermochimica Acta**, v. 317, p. 47-58, 1998

LI, S.; Varadarajan, G.S.; Hartland, S. Solubilities of theobromine and caffeine in supercritical carbon dioxide: correlation with density-based models. **Fluid Phase Equilibria**, v. 68, p. 263-280, 1991.

LIEBERMAN, H.R.; William, J. T.; Shukitt-Hale, B. Speckman, K.L.; Tulley, R. Effects of caffeine, sleep loss, and stress on cognitive performance and mood during U.S. Navy SEAL training. **Psychopharmacology**, v. 164, n.3, p. 250-261, 2002.

LOPES, M. R. S.; Martinez, S. T.; Chaves, V. C.; Rocha, A. S. R.; Amarante, L. Determinação por HPLC de cafeína e Teobromina em folhas jovens e velhas de *Ilex paraguariensis*. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 5, p. 954-956, 2007.

KOPCAK, U. J.; Mohamed, R. S. Caffeine solubility in supercritical carbon dioxide/co-solvent mixtures. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 34, p. 209-214, 2005.

MARTÍN, A.; Cocero, M.J. Micronization processes with supercritical fluids: Fundamentals and mechanisms. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 60, p. 339-350, 2008.

_____. Numerical modeling of jet hydrodynamics, mass transfer, and crystallization kinetics in the supercritical antisolvent (SAS) process. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 32, p. 203-219, 2004.

MAZEL, V.; Delplace, C.; Busignies, V.; Faivre, V.; Tchoreloff, P.; Yagoubi, N. Polymorphic transformation of anhydrous caffeine under compression and grinding: a re-evaluation. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 37, n. 7, p. 832-840, 2011.

MAZZAFERA, P. Mate drinking: caffeine and phenolic acid intake. **Food Chemistry**, v. 60, p. 67-71, 1997.

MIGUEL, F.; Martín, A.; Gamse, T.; Cocero, M.J. Supercritical antisolvent precipitation of lycopene – Effect of the operating parameters. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 36, p. 225-235, 2006.

MONTGOMERY, D. C.; Runger, G. C. **Applied Statistics and Probability for Engineers**. 4. ed., New York: John Wiley & Sons Inc, 2007, 784 p.

MOSIMANN, A. L. P.; Wilhelm-filho, D.; Silva, E. L. Aqueous extract of *Ilex paraguariensis* attenuates the progression of atherosclerosis in cholesterol-fed rabbits. **Bio Factors**, v. 26, n. 1, p. 59-70, 2006.

PARK, S.; Yeo, S. Recrystallization of caffeine using gas antisolvent process. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 47, p. 85-92, 2008.

PEDROSO, G.L.; Mendes, R.H.; Persch, K.; Jahn, M.P.; Kucharski, L.C. Efeito do extrato aquoso de *Ilex paraguariensis* sobre o metabolismo de ratos machos. **Revista HCPA**, v. 30, p. 241-246, 2010.

PELLERIN, P. Supercritical fluid extraction of natural raw materials for the flavor and perfume industry. **Perfume Flavor**, v.16, p. 37-99, 1991.

PERRUT, M. Supercritical Fluid Applications: Industrial Developments and Economic Issues. **Industrial and Engineering Chemistry Research**, v. 39, p. 4531-4535, 2000.

_____, Supercritical Fluid Applications in the Pharmaceutical Industries. **Innovations in Pharmaceutical Technology**, December, p. 118-122, 2008.

PERRUT, M.; Clavier, J.Y.; Poletto, M.; Reverchon, E. Mathematical modeling of Sunflower Seed Extraction by Supercritical CO₂. **Industrial and Engineering Chemistry Research**, v. 36, p. 430-435, 1997.

PERRUT, M.; Clavier, M. Supercritical Fluid Formulation: Process Choice and Scale-up. *Industrial and Engineering Chemistry Research*, v. 42, p. 6375-6383, 2003.

PINTO, S.S.; Diogo, H.P. Thermochemical study of two anhydrous polymorphs of caffeine. *The Journal of Chemical Thermodynamics*, v. 38, p. 1515-1522, 2006.

PIRTTIMÄKI, J.; Laine, E.; Ketolainen, J.; Paronen, P. Effects of grinding and compression on crystal structure of anhydrous caffeine. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 95, p. 93-95, 1993.

PIRTTIMÄKI, J.; Laine, E.; Transformation of anhydrate and hydrate forms of caffeine at 100% RH and 0% RH. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 1, p. 203-208, 1994.

REGINATTO, F.H.; Athayde, M.L.; Gosmann, G.; Schenkel E..P.; Palavra A.M.F.; Marrone C.; Reverchon E. Methylxanthines accumulation in *Ilex* species - caffeine and theobromine in erva-mate (*Ilex paraguariensis*) and other *Ilex* species. *Journal of Brazilian Chemical Society*, v.10, n.6, p. 443-446, 1999.

REIS-VASCO E.M.C.; Coelho J.A.P.; Palavra A.M.F.; Marrone C.; Reverchon E. Mathematical modelling and simulation of pennyroyal essential oil supercritical extraction. *Chemical Engineering Science*, v. 55, p. 2917-2922, 2000.

REVERCHON, E.; Donsì, G.; Osséo, L.S. Modeling of Supercritical Fluid Extraction from Herbaceous Matrices. *Industrial and Engineering Chemistry Research*, v. 32, p. 2721-2726, 1993.

REVERCHON, E.; Pallado P. Hydrodynamic Modeling of the RESS Process. *The Journal of Supercritical Fluids*, v. 9, 216-221, 1996.

REVERCHON, E. Supercritical Fluid Extraction and Fractionation of Essential Oils and Related Products. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 10, n. 1, p. 1, 1997.

_____. Supercritical antisolvent precipitation of micro- and nano-particles. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 15, p. 1, 1999.

REVERCHON, E.; Caputo, G.; De Marco, I. Role of phase behavior and atomization in the supercritical antisolvent precipitation. **Industrial and Engineering Chemistry Research**, v. 42, p. 6406, 2003a.

REVERCHON, E.; Caputo, G.; De Marco, I.; Della Porta, G. Pilot scale micronization of amoxilin by supercritical antisolvent precipitation. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 26, n. 1 p. 1-7, 2003b.

REVERCHON, E.; Adami, R. Nanomaterials and Supercritical Fluids. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 37, p. 1-22, 2006.

REVERCHON, E.; Adami, R.; Caputo, G. Supercritical assisted atomization: performance comparison between laboratory and pilot scale. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 37, p. 298-306, 2007.

REVERCHON, E.; Caputo, G.; De Marco, I. ; Della Porta, G. Spherical microparticles production by supercritical antisolvent precipitation: Interpretation of results. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 47, p. 70–84, 2008.

REVERCHON, E.; De Marco, I. Mechanisms controlling supercritical antisolvent precipitate morphology. **Chemical Engineering Journal**, v. 169, p. 358-370, 2011a.

_____. Influence of pressure, temperature and concentration on the mechanisms of particle precipitation in supercritical antisolvent micronization.

The Journal of Supercritical Fluids, In Press, Corrected Proof, Available online 20 June 2011b.

RICHETTI, S. K. Análise da influência do tratamento in vitro com cafeína sobre a atividade e expressão de enzimas relacionadas com a hidrólise de nucleotídeos da adenina em cultura primária de astrócitos de ratos.

Revista de Graduação/PUCRS, v.2. Disponível em:

<http://revistaseletronicas.pucrs.br/ojs/index.php/graduacao/index>> Acesso em: 12 set. 2011.

RODRIGUES, M. A.; Padrela, L.; Geraldes, V.; Santos, J.; Matos, H.A.; Azevedo, E.G. Theophylline Polymorphs by Atomization of Supercritical Antisolvent Induced Suspensions. **The Journal of Supercritical Fluids**, In Press, Corrected Proof, Available online 27 May 2011.

ROY, C.; Vega-Gonzalez A.; Subra-Paternault, P. Theophylline formulation by supercritical antisolvents, **International Journal of Pharmaceutics**, v. 343, p. 79-89, 2007.

SALDAÑA, M.D.A.; Mohamed, R.S.; Baer, M.G.; Mazzafera, P. Extraction of purine alkaloids from mate (*Ilex paraguariensis*) using supercritical CO₂. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 47, p. 3804-3808, 1999.

SCHINELLA, G.; Fantinelli, J. C.; Mosca, S. M. Cardioprotective effects of *Ilex paraguariensis* extract: evidence for a nitric oxide-dependent mechanism. **Clinical Nutrition**, v. 24, p. 360 -366, 2005.

SHARIATI, A.; Peters, C.J. Recent developments in particle design using supercritical fluids. **Current Opinion Solid State & Materials Science**, v. 7, p. 371-383, 2003.

SHEKUNOV, B. Y.; York, P. Crystallization processes in pharmaceutical Technology and drug design. **Journal of Crystal Growth**, v. 211, p. 122-136, 2000.

SMITH, A. Effects of caffeine on human behavior. **Food and Chemical Toxicology**. v. 40, p. 1243-1255, 2002.

SOVOVÁ, H. Rate of Vegetable Oil Extraction with Supercritical CO₂ – I Modelling of Extraction Curves. **Chemical Engineering Science**, v. 49, n. 3, p. 409-414, 1994.

SOVOVÁ, H.; Kucera J.; Jez J. Rate of vegetable oil extraction with supercritical CO₂ – The extraction of grape oil. **Chemical Engineering Science**, v. 49, p. 415-420, 1994.

SOVOVÁ, H.; Opletal L.; Bártlová, M.; Sajfrtová, M.; Křenková, M. Supercritical fluid extraction of lignans and cinnamic acid from *Schisandra chinensis*. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 42, n.1, p. 88-95, 2007.

SUN, Y.; Rollins, H.W.; Bandara, J.; Meziani, J. M.; Bunker, C.E. Preparation and processing of Nanoscale materials by Supercritical Fluid Technology. In: **Supercritical Fluid Technology in Materials Science and Engineering**, Marcel Dekker Inc., 2002. p. 491-576.

TAI, C. Y.; Cheng, C-S Supersaturation and crystal growth in gas anti-solvent crystallization. **Journal of Crystal Growth**, v. 183, p. 622 -632, 1998.

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

THAKUR, R.; Gupta, R. B. Rapid expansion of supercritical solution with solid cosolvent (RESS_SC) process: Formation of 2-aminobenzoic acid and nanoparticle. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 37, p. 307-315, 2006.

TING, S.S.T., Tomasko, D.L., MacNaughton, S.J., Foster, N.R. Chemical-physical interpretation of co-solvent effects in supercritical fluids. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v. 37, n. 7, p. 1482-1487, 1993.

VALDUGA, E., Caracterização Química e Anatômica da folha de *Ilex paraguariensis* St. Hil. e de algumas espécies utilizadas na adulteração do Mate. Curitiba, 1994. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos), Universidade Federal do Paraná, Brasil.

VARGAS, R. M. F.; Cassel, E.; Gomes, G. M. F.; Longhi, L. G. S.; Atti-Serafini, L.; Atti-Santos, A. C. Supercritical Extraction of Carqueja Essential Oil: Experiments and Modeling. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v. 23, n.3, p. 375-382, 2006.

VÁSQUEZ, A.; Moyna, P. Studies on mate drinking. **Journal of Ethnopharmacology**, v.18, n. 3, p.267-272, 1986.

VEMAVARAPU, C.; Mollan, M. J.; Lodaya, M.; Needham, T. E. Design and process aspects of laboratory scale FSC particle formation systems. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 292, p. 1-16, 2005.

VILLERMAUX, J. Chemical Engineering Approach to Dynamic Modelling of Linear Chromatography. **Journal of Chromatography A**, v.11 , p. 406-411,1987.

WEBER, M.; Thies, M.C. Understanding the RESS Process in: **Ya-Ping Sun**, Supercritical Fluid Technology in Materials Science and Engineering, Marcel Dekker, Inc., 2002, p.387-438.

WELLNESSWEST. Supercritical Fluid Extraction: un upcoming “green” technology. **Technology Watch**, v.2, n.1, 2005. Disponível em: http://www.wellnesswest.ca/dmdoc/T_W_Supercritical_Fluid_Extraction.pdf. Acesso em 12/11/2011, às 11:43h.

WOOD, D.C.; Tan, B.; Zhang, H.; Cooper, A.I. Supercritical Carbon Dioxide as a Green Solvent for Polymer Synthesis. In: **Trevor M. Letcher (org.)**, Thermodynamics, Solubility and Environmental Issues, Elsevier B.V., 2007, p. 383-396.

YILDIZ, N.; Tuna, S.; Döker, O.; Çalimli, A. Micronization of salicylic acid and taxol (paclitaxel) by rapid expansion of supercritical fluids (RESS). **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 41, p. 440-451, 2007.