

UFRRJ
INSTITUTO DE TECNOLOGIA
DEPARTAMENTO DE TECNOLOGIA DE ALIMENTOS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E
TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

DISSERTAÇÃO

OBTENÇÃO DOS COMPOSTOS BIOATIVOS DO EXTRATO
DE MANJERICÃO (*Ocimum basilicum L*) ATRAVÉS DA
EXTRAÇÃO COM FLUIDO SUPERCRÍTICO

NÍDIA ALVES DE BARROS

2013



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE TECNOLOGIA
DEPARTAMENTO TECNOLOGIA DE ALIMENTOS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA
DE ALIMENTOS**

**OBTENÇÃO DOS COMPOSTOS BIOATIVOS DO EXTRATO DE
MANJERICÃO (*OCIMUM BASILICUM L*) ATRAVÉS DA EXTRAÇÃO
COM FLUIDO SUPERCRÍTICO**

NÍDIA ALVES DE BARROS

Sob Orientação do Professor

Prof^o. Dr. André von Randow de Assis

e co-orientação da Professora

Prof^a. Dr^a. Marisa Fernandes Mendes

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências**, no Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da UFRRJ.

Seropédica - RJ
Agosto de 2013

664.3

B277o

T

Barros, Nidia Alves de, 1973-

Obtenção dos compostos bioativos do extrato de manjeriçao (*Ocimum basilicum L*) / Nidia Alves de Barros - 2013.

81 f.: il.

Orientador: André von Randow de Assis.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Curso de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Bibliografia: f. 65-71.

1. Óleos vegetais - Teses. 2. Manjeriçao - Processamento - Teses. 3. Tecnologia de alimentos - Teses. 4. Dióxido de carbono - Teses. I. Assis, André von Randow de, 1977-. II. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Curso de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos. III. Título.

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE
ALIMENTOS**

NÍDIA ALVES DE BARROS

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências** no Curso de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia dos alimentos, área de Concentração em Ciência de Alimentos.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM 28/08/2013.

Prof. D. Sc. André von Randow Assis, UFRRJ
Orientador

Prof^a. Dr^a. Marisa Fernandes Mendes
Co-orientadora

Prof^a. D. Sc. Cristiane Hess de Azevedo Meleiro, UFRRJ
(Membro interno)

Prof. D. Sc Cleber Barreto, IFRJ
(Membro externo)

DEDICATÓRIA

Em memoria a meu pai Josias e meu irmão Romildo que infelizmente não estão mais entre nós para compartilharmos juntos a mais esta conquista. Mas que certamente vibram comigo em espirito.

A mulher que é a responsável pela minha existência, a ela que é a minha inspiração e que por ela não me permitir em nenhum momento fraquejar e desistir. A você minha mãe mais esta vitória.

A todos que de alguma forma contribuíram para a concretização de sonho. Em especial meu amigo e companheiro de hoje e de sempre Marcos Eli.

AGRADECIMENTOS

Ao meu Deus pela minha vida, por ter permitido que eu concluísse este curso. Aos professores: Marisa Mendes pelo incentivo e paciência e André von Randow, que me guiaram ao longo deste caminho. Aos amigos da turma: Michele, Dilson, Renata, Simone, Jair, por contribuírem esclarecendo as dúvidas nos momentos de dificuldades na compreensão dos conteúdos. Aos amigos agregados, que sugeriram ao longo do curso e que foram tão importantes contribuindo ativamente no meu trabalho: Marcus, Robson, David, Raquel, Cristiane, Juarez. A todos, meu muito obrigada!

RESUMO

BARROS, Nídia Alves de. **Obtenção dos compostos bioativos do extrato de manjeriço (*Ocimum basilicum L*) através da extração com fluido supercrítico.** 2013. 84 p Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Instituto de Tecnologia, Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, seropédica, RJ, 2013.

O óleo essencial de manjeriço (*Ocimum basilicum L.*) é valorizado no mercado internacional e amplamente usado nas indústrias de condimentos, cosméticos e medicinais. Entre todos os processos que podem ser aplicados na obtenção do óleo, a extração usando fluido supercrítico (EFSC) pode ser um método seletivo, eficiente e considerado “limpo”. A otimização das condições operacionais, como temperatura e pressão, faz desta tecnologia uma boa alternativa à extração. Este estudo teve como objetivo a obtenção do óleo essencial de manjeriço (*ocimum basilicum L*), para isso utilizou-se dióxido de carbono como solvente na EFSC e hexano na extração com soxhlet. Realizou-se um delineamento central composto rotacional, aplicando três pressões (100, 200 e 300 bar) e três temperaturas (30, 40 e 50 °C). Considerou-se com este trabalho que, as regiões de melhores condições na otimização do rendimento para o óleo essencial de manjeriço encontram-se na faixa de temperatura de 45 a 50 °C e pressões de 271 a 300 bar. Com a hidrodestilação obteve-se (0,26%) o menor rendimento, com Soxhlet 2,39% sendo superior comparado ao utilizando a EFSC, que foi de 0,43%. Os resultados obtidos nas análises de DPPH e FRAP, mostraram que todas as condições de processo empregadas para a extração do óleo essencial de manjeriço, usando CO₂-SC possuem atividade antioxidante, a média para a análise de DPPH foi de 83,43%. Os principais compostos identificados no óleo de manjeriço obtidos através das três metodologias utilizados foram: metileugenol, eugenol, cis-β-Farnesene, (-)-4-Terpineol, Humulene, Germacrene D, e Biciclo [4.4.0] dec-1en. 2-isopropil-5-metil-9-metileno. Considerando o planejamento e a utilização das condições empregadas, obteve-se como melhor condição para aquisição do metileugenol, 40 °C e 200 bar. Sendo este o composto de maior destaque em todas as condições empregadas, e para o eugenol, 47 °C e 129 bar.

Palavras-chave: Dióxido de carbono, soxhlet, planejamento experimental.

ABSTRACT

Barros, Nídia Alves de. **Obtaining bioactive compounds extract of basil (*Ocimum basilicum L*) by supercritical fluid extraction.** In 2013. 84 p Dissertation (MSc in Food Science and Technology). Institute of Technology, Department of Food Technology, Federal Rural University of Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2013.

The essential oil of basil (*Ocimum basilicum L.*) is valued on the international market and widely used in condiments, cosmetic and medical industries. Among all the processes that can be applied in obtaining oil by using supercritical fluid extraction (SFE) is a selective method, efficient and considered "clean". The optimization of the operating conditions such as temperature and pressure, this technology is a good alternative to extraction. This study aimed to obtain the essential oil of basil (*Ocimum basilicum L*) for this utilized carbon dioxide as a solvent in SFE and hexane in Soxhlet extraction. Held a central composite rotational design, applying three pressures (100, 200 and 300 bar) and three temperatures (30, 40 and 50 °C). It was felt that this work, regions better conditions for optimizing the performance for the essential oil of basil are in the temperature range 45-50 °C and pressures 271-300 bar. With the hydrodistillation was obtained (0.26%), the lowest yield Soxhlet 2.39% being superior compared to using SFE, which was 0.43%. The results obtained in the DPPH and FRAP analysis showed that all process conditions employed for the extraction of essential oil of basil, using SC-CO₂ have antioxidant activity, the average for the analysis of DPPH was 83,43%. The major compounds identified in the obtained basil oil via the three methods were used: methyleugenol, eugenol, cis-Farnesene, (-)-4-terpineol, Humulene, Germacrene D, and Bicyclo [4.4.0] dec-1-en-2-isopropyl-5-methyl-9-methylene. Considering the design and use of the conditions employed, were obtained as best condition for acquiring methyleugenol, 40 °C and 200 bar. This being the most prominent compound in all conditions employed, and eugenol, 47 °C and 129 bar.

Keyword: Carbon dioxide, soxhlet, experimental planning.

ÍNDICE DE TABELA

Tabela-1	Composição química (compostos majoritários) dos extratos de <i>Ocimum basilicum</i> L. obtidos com CO ₂ a altas pressões.	14
Tabela-2	Condições preestabelecidas das variáveis independentes como nível superior (+), nível inferior (-), intermediário (0).	23
Tabela-3	Condições preestabelecidas das variáveis independentes como nível superior (+), nível inferior (-), intermediário (0).	23
Tabela-4	Rendimento de extração em função do tempo na obtenção do óleo essencial de manjeriço	28
Tabela -5	Rendimento de extração em função do tempo na obtenção do óleo essencial de manjeriço	29
Tabela-6	Análise de variância do DCCR (2 ²) para o rendimento de óleo essencial de manjeriço extraído no período de 4 h.	29
Tabela-7	Parâmetros do modelo proposto por Esquivel et al. (1999) e percentuais dos desvios médios obtidos com a modelagem.	38
Tabela-8	Rendimento de óleo essencial de manjeriço extraído por diferentes metodologias.	40
Tabela -9	Atividade antioxidante do extrato de manjeriço em função das condições de operação (temperatura e pressão), através dos métodos de DPPH e FRAP.	41
Tabela-10	Atividade antioxidante do extrato de manjeriço em função das condições de operação (temperatura e pressão), através do método de DPPH.	42
Tabela-11	Atividade antioxidante do extrato de manjeriço em função das condições de operação (temperatura e pressão), através do método de FRAP.	43
Tabela-12	Composição química do composto do <i>Ocinum basilicum</i> , utilizando Extração Supercrítica, aplicando 33°C e 271 bar.	44
Tabela-13	Composição química do composto do <i>Ocinum basilicum</i> , utilizando Extração Supercrítica, aplicando 47°C e 271 bar.	45
Tabela-14	Composição química do composto do <i>Ocinum basilicum</i> , utilizando Extração Supercrítica, aplicando 40°C e 100 bar.	46
Tabela-15	Composição química do composto do <i>Ocinum basilicum</i> , utilizando Extração Supercrítica, aplicando 33°C e 129 bar	47
Tabela-16	Composição química do composto do <i>Ocinum basilicum</i> , utilizando Extração Supercrítica, aplicando 47°C e 129 bar.	48
Tabela-17	Composição química do composto do <i>Ocinum basilicum</i> , utilizando Extração Supercrítica, aplicando 30°C e 200 bar.	49
Tabela-18	Composição química do composto do <i>Ocinum basilicum</i> , utilizando Extração Supercrítica, aplicando 40°C e 200 bar (1).	50
Tabela-19	Composição química do composto do <i>Ocinum basilicum</i> , utilizando Extração Supercrítica, aplicando 40°C e 200 bar (2).	51
Tabela-20	Composição química do composto do <i>Ocinum basilicum</i> , utilizando Extração Supercrítica, aplicando 40°C e 200 bar (3).	51
Tabela-21	Composição química do composto do <i>Ocinum basilicum</i> , utilizando Extração Supercrítica, aplicando 50°C e 200 bar.	53
Tabela-22	Composição química do composto do <i>Ocinum basilicum</i> , utilizando Extração Supercrítica, aplicando 40°C e 300 bar.	54
Tabela-23	Composição química (composto majoritários) presentes nos extratos de <i>Ocimum basilicum</i> L. obtidos com CO ₂ Supercritico, soxhlet e hidrodestilação.	55

Tabela- 24	Composição química do (%) de óleo essencial da folha de manjeriço (<i>Ocinum basilicum.L</i>) em diferentes condições de extração, obtidos com CO ₂ supercrítico.	57
-----------------------	--	----

ÍNDICE DE FIGURA

Figura-1	Ilustração do <i>Ocimum basilicum</i> L (Fonte: http://flores.culturamix.com).	4
Figura-2	Estrutura dos compostos químicos responsáveis por intensificar o sabor do manjericão nos alimentos.	5
Figura -3	Estrutura dos principais compostos extraídos.	6
Figura -4	Estrutura de compostos extraídos por arraste a vapor.	6
Figura -5	Estrutura de compostos extraídos por hidrodestilação	6
Figura -6	Estrutura de compostos antioxidantes	8
Figura -7	Estabilização do radical livre DPPH (RUFINO <i>et al.</i> 2007)	9
Figura -8	Redução do complexo TPTZ (2,4,6-tri(2-piridil)-1,3,5-triazina) com Fe ³⁺ (RUFINO <i>et al.</i> 2007).	9
Figura-9	Sistema de Hidrodestilação.	12
Figura -10	Diagrama de fase pressão x temperatura e os equilíbrios entre os estados sólido, líquido e gasoso.	13
Figura 11	Estruturas química dos principais compostos químicos(Mazutti <i>et al.</i> 2006).	15
Figura- 12	Unidade de extração com CO ₂ supercrítico pertencente ao laboratório Termodinâmica Aplicada- DEQ-UFRRJ.	22
Figura -13	Diagrama do aparato experimental.	22
Figura- 14	Ilustração da reação química de FRAP.	26
Figura -15	Superfície de resposta do rendimento da extração com fluido supercrítico do extrato do óleo essencial de manjericão.	30
Figura-16	Curvas cinéticas de extração obtidas com a extração do óleo essencial de manjericão, através do CO ₂ supercrítico em função de 30 °C e 200 bar.	31
Figura -17	Curvas cinéticas de extração obtidas com a extração do óleo essencial de manjericão, através do CO ₂ supercrítico em função de 33 °C e 129 bar.	32
Figura -18	Curvas cinéticas de extração obtidas com a extração do óleo essencial de manjericão, através do CO ₂ supercrítico em função de 33 °C e 271 bar de pressão.	32
Figura -19	Curvas cinéticas de extração obtidas com a extração do óleo essencial de manjericão, através do CO ₂ supercrítico 40 °C e 200 bar (1).	33
Figura- 20	Curvas cinéticas de extração obtidas com a extração do óleo essencial de manjericão, através do CO ₂ supercrítico 40 °C e 200 bar (2).	33
Figura 21	Curvas cinéticas de extração obtidas com a extração do óleo essencial de manjericão, através do CO ₂ supercrítico 40 °C e 200 bar (3).	33
Figura 22	Curvas cinéticas de extração obtidas com a extração do óleo essencial de manjericão, através do CO ₂ supercrítico em função de 40 °C e 300 bar.	34
Figura 23	Curvas cinéticas de extração obtidas com a extração do óleo essencial de manjericão, através do CO ₂ supercrítico em função de 129 bar e 47 °C.	34
Figura 24	Curvas cinéticas de extração obtidas com a extração do óleo essencial de manjericão, através do CO ₂ supercrítico em função de 47 °C e 271 bar.	35
Figura 25	Curvas cinéticas de extração obtidas com a extração do óleo essencial de manjericão, através do CO ₂ supercrítico em função de 50 °C e 200 bar.	35

Figura 26	Curvas cinéticas de extração obtidas com a extração do óleo essencial de manjeriço, através do CO ₂ supercrítico em função de 40 °C e 100 bar.	36
Figura 27	Curva isobárica de rendimento do extrato de manjeriço, utilizando CO ₂ supercrítico.	36
Figura 28	Curva isobárica de rendimento do extrato de manjeriço, utilizando CO ₂ supercrítico.	37
Figura 29	Curva de rendimento em função da variação de pressão aplicada.	38
Figura 30	Comparação dos dados experimentais com a curva ajustada ao modelo de Esquível <i>et al.</i> (1999).	39
Figura 31	GC/MS para o cromatograma do óleo essencial de manjeriço obtido por EFSC em 271 bar e 33 °C.	44
Figura 32	GC/MS para o cromatograma do óleo essencial de manjeriço obtido por EFSC em 271 bar e 47 °C.	45
Figura 33	GC/MS para o cromatograma do óleo essencial de manjeriço obtido por EFSC em 100 bar e 40 °C.	46
Figura 34	GC/MS para o cromatograma do óleo essencial de manjeriço obtido por EFSC em 129 bar e 33 °C.	47
Figura 35	GC/MS para o cromatograma do óleo essencial de manjeriço obtido por EFSC em 129 bar e 47 °C.	48
Figura 36	GC/MS para o cromatograma do óleo essencial de manjeriço obtido por EFSC em 200 bar e 30 °C.	49
Figura 37	GC/MS para o cromatograma do óleo essencial de manjeriço obtido por EFSC em 200 bar e 40 °C (1).	50
Figura 38	GC/MS para o cromatograma do óleo essencial de manjeriço obtido por EFSC em 200 bar e 40 °C (2).	51
Figura 39	GC/MS para o cromatograma do óleo essencial de manjeriço obtido por EFSC em 200 bar e 40 °C (3).	52
Figura 40	GC/MS para o cromatograma do óleo essencial de manjeriço obtido por EFSC em 200 bar e 50 °C.	53
Figura 41	GC/MS para o cromatograma do óleo essencial de manjeriço obtido por EFSC em 300 bar e 40 °C.	54
Figura 42	Estrutura dos compostos químicos com provável atividade antioxidante do óleo de manjeriço.	56

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	1
1.1	Objetivos.....	3
1.1.1	Objetivo geral.....	3
1.1.2	Objetivos específicos.....	3
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	4
2.1	Manjeriço (<i>Ocimum basilicum. L.</i>).....	4
2.1.2	Uso do manjeriço na culinária.....	5
2.1.3	Utilizações do manjeriço na medicina popular.....	5
2.1.4	Óleo essencial – composição.....	5
2.2	Potencial antioxidante.....	7
2.2.1	Determinação da atividade antioxidante pelo método de sequestro do radical DPPH.....	8
2.2.2	Determinação da atividade antioxidante pelo método de redução do ferro FRAP.....	9
2.3	Cromatografia.....	10
2.3.1	Métodos de extração dos compostos do manjeriço.....	10
2.4	Extração por soxhlet.....	11
2.5	Extração por hidrodestilação.....	12
2.6	Extração por fluido supercrítico (EFSC).....	12
2.7	Óleos essenciais extraídos por EFSC utilizando como matéria-prima condimentos.....	13
2.8	Densidade.....	16
2.9	Utilização do dióxido carbônico como solvente.....	16
2.9.1	Vantagens na aplicação do método de extração com EFSC.....	16
2.9.2	Desvantagens na aplicação do método de extração com EFSC.....	17
2.10	Modelagem matemáticas do processo de extração.....	17
2.10.1	Modelo de Esquível et. al. (1999).....	17
2.10.2	Modelo empírico.....	17
2.11	Planejamento experimental.....	18
2.11.1	Delineamento composto central rotacional (DCCR).....	19
3	MATERIAIS E MÉTODOS.....	20
3.1.	Materiais.....	20
3.2.	Procedimento experimental.....	20
3.2.1.	Preparo da matéria-prima.....	20
3.2.2.	Extração do óleo usando metodologia convencional.....	20
3.2.3.	Procedimento para extração com o uso do soxhlet.....	20
3.2.4.	Processo de extração por hidrodestilação.....	21
3.2.5.	Extração do óleo usando EFSC.....	21
3.2.6.	Planejamento experimental.....	23
3.2.7.	Análises de estatísticas.....	24
3.3.	Modelagem matemática do processo de extração usando EFSC.....	24
3.4	Identificação das substâncias antioxidantes.....	24
3.4.1	Atividade antioxidante total pela captura do radical livre DPPH do óleo essencial de manjeriço (<i>Ocimum basilicum L.</i>).....	24
3.4.2	Avaliação da atividade antioxidante total pelo método de FRAP do óleo	25

	essencial de manjeriço (<i>Ocimum basilicum L</i>).....	
3.5	Análises de cromatografia – GC/MS.....	26
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	27
4.1	Resultado da extração do óleo usando metodologia convencional.....	27
4.1.1	Resultado da extração através do extrator soxhlet.....	27
4.1.2	Resultado da extração através da hidrodestilação.....	27
4.1.3	Resultado da extração do óleo essencial usando extração com fluido supercrítico.....	27
4.1.4	Resultado da análise estatística do planeamento experimental.....	28
4.2	Resultado das curvas cinéticas de extração, obtidas na EFSC.....	31
4.3	Análise das isotermas de rendimento global.....	36
4.4	Resultados da modelagem matemática.....	38
4.5	Resultados dos rendimentos das metodologias aplicadas.....	40
4.6	Resultado das análises de atividade antioxidante.....	41
4.7	Análises de cromatografia gasosa com espectrometria de massas de óleo essencial de manjeriço da espécie folha miúda.....	43
4.8	Composição química dos compostos do óleo essencial de manjeriço existente nas amostras obtidos em três metodologias de extração.....	55
4.8.1	Composição química dos principais compostos com atividade antioxidante indentificados no óleo de manjeriço (<i>Ocimum basilicum</i>).	56
5	CONCLUSÕES.....	57
6	SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS.....	60
7	APÊNDICE.....	61
8	REFERÊNCIAS.....	65

1-INTRODUÇÃO

A medicina popular reconhece as plantas medicinais como sendo aquelas planta cujo princípio ativo é capaz de aliviar ou auxiliar nos tratamentos de enfermidades. As ervas aromáticas adicionadas nas preparações realçam os aspectos sensoriais. Já as condimentares são usadas como conservadores aumentando a vida útil dos alimentos. Entretanto, existem também plantas que apresentam as três propriedades citadas simultaneamente: são aromáticas, medicinais e condimentares. Entre essas espécies de plantas destaca-se o manjeriço, planta pertencente ao gênero *Ocimum* L, da família das Lamiaceae, composto de mais de 50 espécies que crescem amplamente por todas as regiões temperadas do mundo. É cultivada em vários países do Leste da Ásia, Europa, América e a Austrália visando principalmente a produção de óleo essencial e condimento.

Dentre as espécies existentes desponta o *Ocimum basilicum* L (manjeriço), conhecido principalmente na culinária devido às características sensoriais que proporcionam aos alimentos. Entre as ervas aromáticas, o manjeriço possui importância econômica no Brasil, sendo consumido tanto *in natura* quanto usado para processamento industrial. O óleo essencial é valorizado no mercado internacional e amplamente usado nas indústrias de condimentos, cosméticos e medicinais.

A obtenção do extrato vegetal pode ser feita utilizando métodos convencionais (hidrodestilação, destilação a vapor, extração com solvente, empregando Soxhlet) e não-convencionais usando CO₂ supercrítico (SC-CO₂).

Na aplicação de métodos convencionais, utilizam-se solventes orgânicos para obtenção de extrato de manjeriço. De um modo geral os extratos que são obtidos usando essas metodologias contêm substâncias com elevado grau de impurezas, tais como a clorofila e outras moléculas orgânicas que diminuem a purificação do extrato.

No entanto, a escolha da técnica a ser aplicada depende do objetivo a ser alcançado com a pesquisa. Entre todos os processos usados na obtenção do óleo, a extração com fluido supercrítico (EFSC) apresenta a característica do meio extrator ser um gás, porém com elevada densidade de modo que interações polares e com isso a alta seletividade do poder extrativo são mais intensas. A otimização das condições operacionais, como temperatura e pressão, envolve alta taxa de transferência de massa, que somado ao aumento e a densidade do CO₂, faz desta tecnologia uma boa alternativa na extração, de modo que a mesma é seletiva para substâncias específicas como a cafeína, carotenoides, nicotina, aromas e etc.

A EFSC é um método extremamente dinâmico para obtenção de produtos naturais e outros compostos termicamente instáveis, pelo fato de utilizar, na maioria dos estudos, temperaturas baixas no processo, preservando as substâncias que são perdidas quando submetidas a calor intenso, evitando perdas consideráveis preservando assim os compostos termo-sensíveis que influenciam no rendimento do extrato.

A concretização da escolha da matéria-prima para o desenvolvimento deste trabalho foi definida por diversas razões, porém o principal motivo foi a importância que os pesquisadores tem dado aos produtos naturais para obtenção de compostos antioxidantes e antimicrobianos.

A fim de contribuir positivamente com grande parte da população, através desta pesquisa espera-se obter resultados que atendam ao público que buscam mudar os hábitos alimentares, dando prioridade aos alimentos isentos de conservadores artificiais que ao longo do tempo por acúmulo no organismo podem levar ao desenvolvimento de doenças cancerígenas que aliados a pré-disposição genética o risco é ainda maior.

Com isso o objetivo geral deste estudo foi a obtenção dos compostos bioativos do extrato de manjeriço através da extração supercrítica. Os objetivos específicos deste trabalho

foram verificar as variáveis dos parâmetros de processo usando três pressões e três temperaturas diferentes; comparar a eficiência da EFSC na extração de óleo de manjeriço com os métodos convencionais (hidrodestilação e soxhlet), aplicando um delineamento composto central rotacional (DCCR); caracterizar e identificar os extratos obtidos através dos métodos de extração supercrítica, hidrodestilação e soxhlet; determinar o rendimento obtido nas extrações; verificar a atividade antioxidante dos extratos adquiridos através da EFSC; obter da curva cinética de extração e aplicação de modelagem matemática.

1.1 - OBJETIVOS

1.1.1 - Geral

Comparação dos compostos bioativos do extrato de manjeriço através da extração supercrítica utilizando dióxido de carbono como solvente, hidrodestilação e soxhlet usando hexano como solvente.

1.1.2 - Específicos

- Aplicação de um delineamento composto central rotacional (DCCR 2²);
- Verificar as variáveis dos parâmetros de processo usando três pressões e três temperaturas diferentes;
- Determinação do rendimento obtido nas extrações supercrítica, hidrodestilação e soxhlet;
- Obtenção da curva cinética de extração e aplicação de modelagem matemática.
- Comparar a eficiência da EFSC na extração de óleo de manjeriço com os métodos convencionais (hidrodestilação e soxhlet);
- Verificar a atividade antioxidante dos extratos adquiridos através da EFSC;
- Caracterizar e identificar os extratos obtidos através dos métodos de extração supercrítica, hidrodestilação e soxhlet, através de análises de cromatografia gasosa e de massas;
- Utilizar o rendimento obtido na extração convencional por soxhlet para cálculo de rendimento do extrato obtido na extração supercrítica e na modelagem matemática.

2 - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Neste tópico são descritos as principais definições arrespeito do Manjeriçã, as características, cultivo, produçã, aplicaçã na culinaria e na medicina popular, as principais técnicas de extraçã de óleo essencial. Além de alguns trabalhos científicos mostrando o que já foi realizado utilizando o manjeriçã como materia-prima.

2.1 - Manjeriçã (*Ocimum basilicum. L*)

O *ocimum basilicum* conhecido popularmente como manjeriçã, pertence ao gênero *Ocimum* que vem da família das Lamiaceae e pode ser encontrada na Ásia Tropical, África, América Central e América do Sul, formando uma diversidade de, aproximadamente, 50 a 150 espécies reconhecidas. Vale ressaltar que a migraçã posterior a regiões geográficas longínquas foi o que ocasionou a grande diversidade da espécie, devido aos cruzamentos naturais. As diferenças morfológicas são difíceis de serem definidas devido à presença de formas intermediárias nas populações nativas, tornando o reconhecimento quase impossível (SANTOS, 2007).

A espécie *O.basilicum* L, compreende plantas herbáceas, anuais ou perenes, de 60 cm de altura, com ramos quadrangulares, pilosos quando novos, muito ramificados, de folhas opostas e ovais. Outra característica da espécie é que as flores são brancas a levemente rosadas, organizadas em inflorescência tipo espiga ou racemos terminais, com fruto do tipo aquênio contendo pequenas sementes pretas oblongas. O período de florescência é no verão e outono, sendo o clima subtropical, quente e úmido as melhores opções para o crescimento (SANSON, 2009).

Segundo Darrah (1980), e Phippn (2000) a espécie do *Ocimum basilicum* L, possui sete tipos diferentes. Desta forma, estes autores classificaram a espécie como: tipo robusto de folha larga, anã com folhas pequenas, folhas grandes, compactos também descritos como *O. Basilicum*var púrpuros com tradicional sabor doce, púrpuro como ‘*Dark Opal*’ e híbrido entre *Basilicum* e *O. forkolei* e *O. citriodorum*, que apresenta aroma de limão. Entre as espécies destaca-se apresentada na Figura 1 utilizada nesta pesquisa.



Figura 1 - Ilustração do *Ocimum basilicum* L (Fonte: <http://flores.culturamix.com>).

2.1.2 - Uso do manjericão na culinária

Muito utilizado na culinária em várias partes do mundo, inclusive no Brasil, as folhas do manjericão possuem aroma forte e característico. O manjericão de folha miúda *O. minimum* é utilizado principalmente nos países meridionais como condimento, para aromatizar pratos de carnes, saladas, guisados, entre outros. *O. basilicum* L é muito cultivado comercialmente na Europa. As espécies, *O. basilicum* L e *O. basilicum* var. *purpurascens* são ricas em eugenol e metil chavicol, usado principalmente no intuito de intensificar o sabor dos alimentos e também usado em produtos de confeitaria, além de ser utilizado para aromatizar molhos, *ketchups*, pickles, coberturas, vinagre e molho de carne (SANTOS, 2007).

A Figura 2 mostra as estruturas dos principais compostos encontrado por Santos (2007) em seu estudo, sendo estes os principais compostos responsáveis por intensificar o sabor do manjericão nos alimentos.

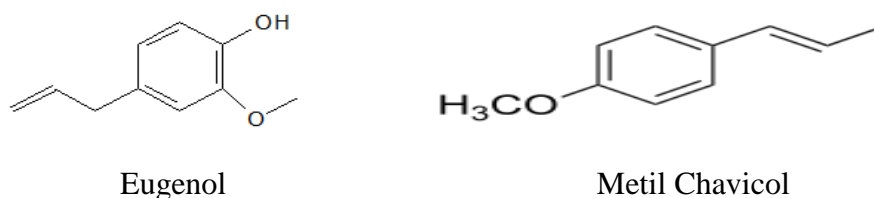


Figura 2 - Estrutura dos compostos químicos responsáveis por intensificar o sabor do manjericão nos alimentos.

2.1.3 - Utilizações do manjericão na medicina popular

Considerado, popularmente, como uma erva de grande relevância medicinal, ao manjericão são atribuídas funções como: anti-inflamatório, anti-espasmódico, carminativo e estimulante digestivo. É indicado também no alívio de desconfortos intestinais, usado para tratar enjôos, vômitos e dores no estômago, no tratamento de infecções da pele, picadas de insetos e cistite. Ainda deve ser evitado durante os três primeiros meses de gravidez (KWEE, 2011).

Ainda como efeito medicinal, o manjericão combate cólica intestinal e ativa os órgãos sexuais e a menstruação. Age sobre o aparelho urinário, melhorando o funcionamento dos rins. Em casos gripais, alivia tosses, bronquite e rouquidão. Usa-se o chá das folhas do manjericão em gargarejo para dores de garganta; em bochechos ajuda na cicatrização de aftas; tônico, auxilia no tratamento de úlcera, reduzindo a acidez gástrica (efeito registrado com o extrato metanólico) (HUSSAIN *et al.*, 2008).

Na região do Mediterrâneo, as famílias fazem plantação da erva na beiradas das janelas para repelir mosquitos e moscas domésticas. Outras funções que têm sido demonstradas são as atividades antimicrobianas, além de seu uso na conservação de grãos (SANSON, 2009).

2.1.4 - Óleo essencial-composição

Os óleos essenciais constituídos da espécie *Ocimum basilicum*, de acordo com Waterman, (1993) citado por Leonardo (2007), são substâncias muito complexas, que pode ter na sua constituição mais de cem compostos orgânicos, sendo os terpenos e os fenilpropenos as classes de compostos de maior concentração no óleo essencial desta espécie. Por serem

voláteis, os monoterpenos, geralmente, são predominantes nos óleos essenciais, formando estruturas acíclicas, monocíclicas e bicíclicas.

Cada planta contém componentes característicos que são determinantes no sabor e aroma que elas possuem, e são percebidos quando usadas principalmente nas preparações alimentares e estas características são atribuídas aos óleos essenciais. Esses são produzidos em vias externas e glândulas internas das plantas que se constituem em uma mistura complexa de terpenos, sesquiterpenos, derivados oxigenados e outros compostos aromáticos. Esses componentes são característicos e determinantes no aroma do manjeriço, que têm como precursores a presença de 1,8-cineol, metil cinamato e linalol. A Figura 3 corresponde as estruturas químicas dos princípios ativos de maior relevância das substâncias voláteis mencionadas.

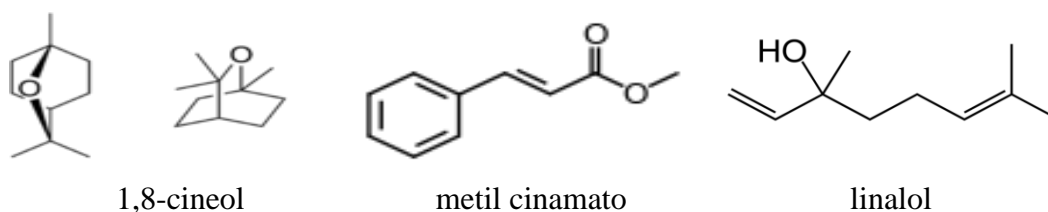


Figura 3 - Estrutura dos principais compostos extraídos.

De modo geral, estas substâncias são voláteis e estão presentes em baixas concentrações (KLIMÁNKOVA, 2007).

Javanmardi (2002) constatou a existência de outras substâncias como estragol, lineol, alcanfor, ácido caféico e esculosídeo. Extraíndo o óleo essencial de manjeriço utilizando extração por arraste a vapor para obter o óleo enquanto Luz (2009) observou em suas análises, geraniol, calareno e D-germacreno, através do método de hidrodestilação. Na Figura 4 estão alguns dos compostos de impacto obtidos na análise do óleo essencial de manjeriço pelos autores mencionados. Assim como a Figura 5.



Figura 4 - Estrutura de compostos extraídos por arraste a vapor.

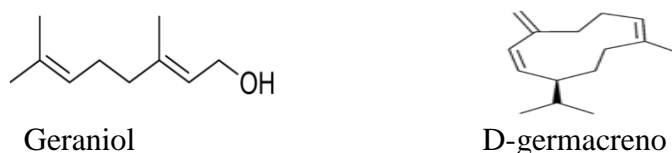


Figura 5 - Estrutura de compostos extraídos por hidrodestilação

Estudo feito por Mazutti *et al.* (2006) mostrou que o teor de óleo essencial extraído está relacionado com a espécie da planta utilizada, região geográfica de plantio, clima, época da colheita entre outros fatores.

O óleo de manjeriço tem alto valor econômico devido à presença de substâncias específicas como estragol, lineol, linalol, eugenol, metil cinamato, limoneno, geraniol, calareno e chavicol (Sifola & Barbieri, 2006). As espécies mais conhecidas do gênero *Ocimum* apresentam como constituintes em maior quantidade em seu óleo essencial o metilchavicol, eugenol, linalol, 1,8-cineol (BARITAUX *et al.*, 1992), cinamato de metila (PEREZ *et al.*, 1995), geraniol (CHARLES & SIMON, 1990) e timol (NTEZURUBANZA *et al.*, 1984). Essas substâncias apresentam características aromáticas e medicinais de destaque na indústria alimentar e farmacêutica. Estudos sobre os óleos provenientes de plantas aromáticas e medicinais crescem pelo fato destas espécies serem conhecidas especificamente por possuírem atividade biológica, tais como antibacteriana, antifúngica e propriedades antioxidantes (POLITEO, 2007).

Estudos mostram que essas moléculas são extremamente sensíveis ao calor e, por isso estão sujeitas a alterações químicas, podendo ocorrer perdas de alguns compostos voláteis em maior ou menor concentração. Isto porque dependendo do método utilizado no processo de extração, pode resultar em baixo rendimento devido à degradação de compostos insaturados ou ésteres provenientes de efeitos térmicos ou hidrolíticos (LUCCHESI *et al.*, 2004).

O óleo essencial de *Ocimum basilicum* é um produto de alto valor comercial devido aos compostos ativos existentes podendo ser usado como, agente anti-microbiano e antioxidante natural, analgésico, e anti-inflamatório. Segundo Javanmardi *et al* (2002), o óleo essencial de manjeriço tem sido muito utilizado como condimento em carnes, bebidas não alcoólicas, sorvetes, na indústria de perfumes e em produtos de higiene bucal.

2.2 - Potencial antioxidante

Atualmente, a grande preocupação dos órgãos de saúde pública é reduzir o consumo de alimentos que contenham na sua formulação conservadores sintéticos que representam risco para a saúde, por serem consumidos diariamente. Com isso vem crescendo a demanda por alimentos naturais e, conseqüentemente, a procura por antioxidantes naturais, sendo estes produtos de origem natural capaz de prevenir ou retardar a oxidação de óleos e gorduras (CARVALHO JUNIOR, 2004).

Os antioxidantes podem ser classificados como qualquer substância que, presente em baixa concentração, quando comparado a um substrato oxidável, atrasa ou inibe a oxidação desse substrato de maneira eficaz (MOREIRA & SHAMI, 2004).

Os sintéticos têm sido largamente utilizados como conservadores alimentares, devido à sua eficácia; os mais utilizados são os derivados de estruturas fenólicas, como hidroxianisol butilado (BHA), muito eficiente contra oxidação de gorduras animais, hidroxitolueno butilado (BHT), tertbutylhydroxiquinone (TBHQ), inibidor de oxidação dos óleos vegetais, entre outros (RAMALHO e JORGE, 2006).

Na Figura 6 constam as estruturas químicas dos antioxidantes sintéticos mais usados em alimentos para inibir a oxidação lipídica.

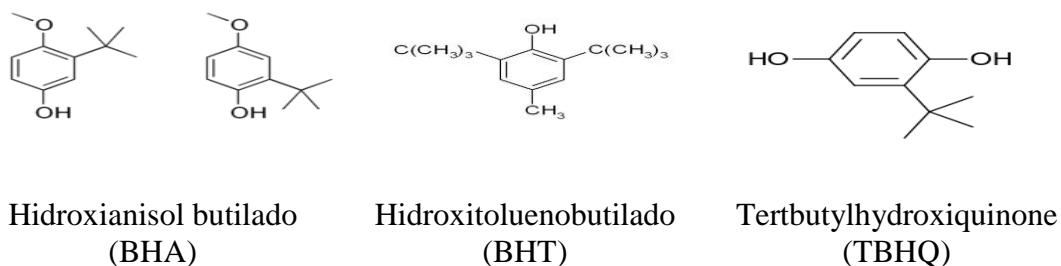


Figura 6 - Estrutura de compostos antioxidantes

Contudo, considerando a preocupação atual com efeitos adversos que os antioxidantes sintéticos podem causar ao organismo, tais como: peroxidação lipídica, que é associada ao câncer, envelhecimento precoce, aterosclerose e diabetes, os antioxidantes naturais para a indústria de alimentos são importantes não apenas pela sua utilidade na prevenção da oxidação, mas também devido a seus efeitos benéficos para a saúde (CARVALHO JUNIOR, 2004).

Os antioxidantes naturais são geralmente moléculas presentes em várias partes das plantas (folhas, cascas, sementes e / ou frutos). Entre os antioxidantes naturais, tem-se o tocoferol (vitamina E, lipossolúvel) e ácido ascórbico (vitamina C, hidrossolúvel). Outras moléculas naturais com características antioxidantes são carotenos (β -caroteno, licopeno, entre outros), flavonóides (catequinas, quercetina, rutina e morina entre outros). Os antioxidantes naturais podem proteger substratos sensíveis por diferentes mecanismos, o principal modo de ação consiste na remoção de iniciadores de radicais livres e propagadores (OLIVEIRA, *et al.* 2009).

Diante do exposto, pesquisas com ervas aromáticas da família Lamiaceae vem mostrando que as mesmas são fontes de compostos polifenólicos, principalmente ácidos fenólicos. E que os polifenóis são metabolitos secundários de plantas que além das variadas estruturas e funções que desempenham em plantas, são estudadas também a sua ação antioxidantes na dieta humana (KWEE, 2011).

Leal *et al.* (2006), através da extração com CO₂ supercrítico, obtiveram o extrato de manjeriço e avaliaram a presença de substâncias antioxidantes. A atividade foi avaliada pela reação de β -caroteno e ácido linolênico, na qual variou de 62 a 84% comparado ao controle.

Pereira e Maia (2007), ao estudar alfavaca (*Ocimum gratissimum L.*), observaram que os extratos de plantas com propriedades medicinais podem ser utilizadas como uma fonte e alternativa de antioxidantes naturais. Para os autores, tanto o extrato como o óleo, podem ser utilizados como uma fonte acessível de antioxidantes, bem como um conservador contra a deterioração oxidativa.

Diante da importância em certificar, se o manjeriço em estudo contém em sua composição química potencial antioxidante utilizou as metodologias de FRAP e DPPH.

2.2.1 - Determinação da atividade antioxidante pelo método de sequestro do radical DPPH

Um dos métodos mais usados para verificar a capacidade antioxidante (BRAND-WILLIAMS *et al.* 1995), consiste em avaliar a atividade sequestradora do radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazila (DPPH[•]), de coloração púrpura, que absorve em um comprimento de onda de 515 nm. Por ação de um antioxidante ou uma espécie radicalar (R[•]), o DPPH[•] é reduzido formando 2,2-difenilpicril-hidrazina (DPPH-H) de coloração amarela, com conseqüente desaparecimento da banda de absorção, sendo a mesma monitorada pelo

decréscimo da absorvância. A partir dos resultados obtidos, determina-se a porcentagem de atividade antioxidante (quantidade de DPPH[•] consumida pelo antioxidante) ou sequestradora de radicais e/ou a porcentagem de DPPH[•] remanescente no meio reacional. De acordo com a Figura 7, o DPPH é um radical livre que pode ser obtido diretamente por dissolução do reagente em meio orgânico (RUFINO *et al.* 2007).

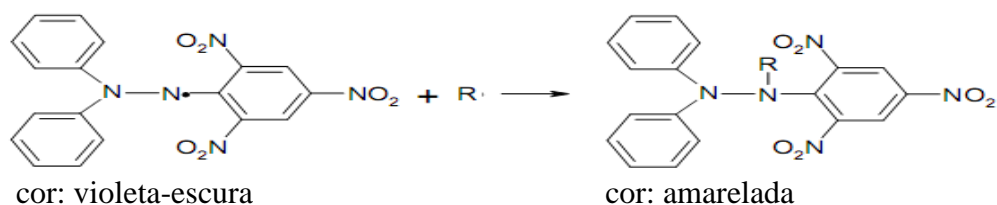


Figura 7 - Estabilização do radical livre DPPH (RUFINO *et al.* 2007)

2.2.2 - Determinação da atividade antioxidante pelo método de redução do ferro FRAP

O método FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) – Poder Antioxidante de Redução do Ferro, descrito por Pulido *et al.* (2000), como uma alternativa desenvolvida para determinar a redução do ferro em fluidos biológicos e soluções aquosas de compostos puros. O método além de ser aplicado para estudos da atividade antioxidante em extratos de alimentos e bebidas, pode ser usado também, para o estudo da eficiência antioxidante de substâncias puras, os resultados são comparados à respostas obtidas através de metodologias mais complexas. O poder redutor do íon férrico está relacionado com a capacidade de um composto doar elétrons, mecanismo de ação, ligado a atividade antioxidante de varias substâncias naturais. A Figura 8 descreve as reações do mecanismo de ação do método descrito.

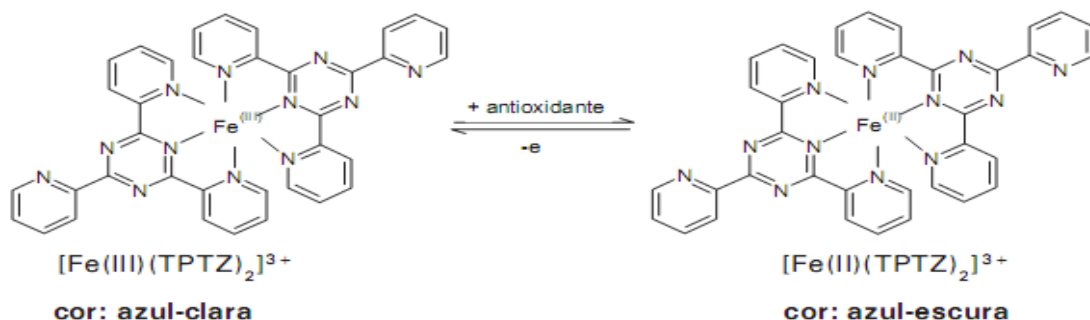


Figura 8 - Redução do complexo TPTZ (2,4,6-tri(2-piridil)-1,3,5-triazina) com Fe³⁺ (RUFINO *et al.* 2007).

Embora existam diferentes métodos de análises para avaliar o potencial antioxidante, é importante conhecer qual o mais indicado para este fim e que é necessário considerar o tipo de matéria-prima que originou o extrato analisado e que cada uma dos métodos responde de maneira diferente. Utilizando os métodos ABTS, DPPH, FRAP e ORAC Thaipong *et al.* (2006) em seu estudo, estimaram a atividade antioxidante total de extratos obtidos de frutos

de goiaba, e verificaram que a metodologia de FRAP foi a técnica mais eficaz e a que apresentou maior correlação com os teores de ácido ascórbico e grupos fenólicos.

2.3 - Cromatografia

De acordo com a literatura cromatografia é um método físico-químico de separação dos componentes de uma mistura, e sua concretização é através da distribuição destes elementos entre duas fases devendo estar em contato íntimo. Uma das fases permanece estacionária enquanto que a outra move-se através dela. No ato da passagem da fase móvel sobre a fase estacionária, os componentes da mistura são distribuídos entre as duas fases, de modo que cada um dos componentes é seletivamente retido pela fase estacionária, resultando em migrações diferenciadas destes componentes (COLLINS, BRAGA, BONATO, 2006).

Um dos detectores super potente para cromatografia gasosa é o espectrômetro de massas. A junção da cromatografia a gasosa e espectrometria de massas é conhecida como CG-MS. Um espectrômetro mede a razão massa/carga (m/z) de íons que são produzidos pela amostra (SKOOG; HOLLER; NIEMAN, 2002).

De acordo com Simões e Pitzer (2003), cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM) por impacto de elétrons, é uma das técnicas mais aplicadas na caracterização de misturas complexas. Esta técnica permite a separação dos constituintes pela cromatografia gasosa, que são introduzidos individualmente em ordem de eluição na câmara de ionização do espectrômetro de massas. O espectro de massas obtido para cada um dos constituintes geralmente indica a massa molecular e o seu padrão de fragmentação. O padrão de fragmentação pode ser comparado eletronicamente com aqueles constantes da biblioteca de espectros de massas, permitindo a elucidação estrutural da amostra por análise comparativa. Sendo assim mesmo que esse sistema constitua um grande avanço, o analisador tem de decidir, finalmente, se a resposta do computador é correta. Por isso, para a identificação com segurança também é importante considerar os índices de retenção.

2.3.1 - Métodos de extração dos compostos do manjeriço

A obtenção do extrato de manjeriço pode ser feita utilizando métodos convencionais (hidrodestilação, destilação a vapor, extração com solvente, empregando Soxhlet, Enfloração entre outras técnicas) e não convencionais, usando CO_2 supercrítico (SC- CO_2). As metodologias empregadas para a extração de óleos voláteis dependem da localização do óleo na planta, bem como da qualidade do óleo que se deseja obter. Para isso existem várias técnicas, dentre elas podemos destacar:

Enfloração (enfleurage) é utilizada para a obtenção de óleo de pétalas de flores com esta técnica obtém-se um óleo com alto valor comercial, porém o rendimento é muito baixo. Essa técnica consiste em depositar as pétalas de flores em gordura, até o esgotamento das mesmas as quais são trocadas até a saturação da gordura. Após a saturação, a gordura é tratada com álcool o qual é destilado a baixa temperatura obtendo assim um produto puro, livre de resíduos, com alto valor comercial (GUENTHER 1960, OLIVEIRA & JOSE 2007).

Prensagem ou expressão de acordo com Simões & Spitzer (2003), esta é uma técnica empregada na extração de óleos voláteis de pericarpos de frutos cítricos no qual jatos de água exercem uma ação áspera no pericarpo rompendo as células que secretam ao fim da centrifugação o óleo se separa da fase aquosa.

Na aplicação de métodos convencionais, utilizam-se solventes orgânicos na obtenção de extrato. De um modo geral, os extratos que são obtidos usando estas metodologias contêm substâncias com elevado grau de impurezas, tais como a clorofila e outras moléculas orgânicas que dificultam a purificação do extrato (QUISPE-CONDORI, 2005).

No entanto, a escolha da técnica a ser aplicada depende do objetivo a ser alcançado com a pesquisa. Entre todos os processos que podem ser usados na obtenção do óleo, a extração com fluido supercrítico (EFSC) pode ser um método seletivo e considerado “limpo” que pode gerar extratos sem resíduos orgânicos (CARRILHO, 2006). A otimização das condições operacionais, como temperatura e pressão, envolve alta taxa de transferência de massa, que somado ao aumento da densidade do CO₂ faz desta tecnologia uma boa alternativa na extração (SILVA *et al.* 2004).

A EFSC é um método extremamente dinâmico para obtenção de produtos naturais e outros compostos termicamente instáveis, pelo fato de utilizar, na maioria dos estudos, temperaturas baixas no processo, preservando as substâncias que são perdidas quando submetidas a calor intenso, evitando perdas consideráveis, preservando assim os compostos termo-sensíveis que influenciam no rendimento do extrato (LEAL *et al.* 2008).

De acordo com Bimakr *et al.* (2009), é tradição a extração de compostos bioativos de ervas por meio de destilação a vapor e extração com solvente orgânico usando maceração, percolação e técnica de Soxhlet. No entanto, fatores como: tempo de extração longo, baixo rendimento, resíduos de solventes tóxicos, mão de obra intensiva e degradação de compostos termo-sensíveis estão envolvidos no uso de tais técnicas acarretando problemas na aquisição do produto final de qualidade.

Nos últimos anos, a demanda internacional por óleos essenciais obtidos de matéria-prima vegetal tem aumentado o interesse por novos processos de extração, visando melhorar a qualidade do produto final dos extratos obtidos na qual o mesmo não tenha resíduo de solvente. Vários estudos têm sido feitos para identificar os diversos tipos de substâncias naturais existentes em plantas que são cultivadas nas regiões brasileiras onde o uso da extração com fluido supercrítico vem ganhando espaço por propiciar tais características (CRUZ, 2010).

2.4 - Extração por soxhlet

A extração em Soxhlet é um método de extração a quente, é realizado seguindo algumas metodologias, como por exemplo, a metodologia de 920.39C da AOAC (ASSOCIATION, 2000), utilizando-se está técnica para a obtenção de óleo, normalmente os seguintes solventes são usados: hexano, diclorometano, acetato de etila e etanol.

Soxhlet é um tipo de extração relativamente barata que oferece certas desvantagens como a alta quantidade de solvente orgânico, que na maioria das vezes é tóxico, sendo este o motivo de um cuidado especial na manipulação. Outra desvantagem é o pós-tratamento necessário para recuperar o solvente, que pode resultar na perda de compostos importantes, no caso de compostos termo sensíveis (ZOUAGH *et al.* 2004).

2.5 - Extração por hidrodestilação

Para ilustrar o processo usado na extração por hidrodestilação, a Figura 9 mostra um aparelho de *Clevenger*, muito utilizado em laboratórios para extração de óleos.



Entre os processos para obtenção de óleos essenciais, a hidrodestilação é o mais antigo. O óleo é obtido em aparelho *Clevenger*, este tipo de extração é usado principalmente em laboratórios (GOMES, 2003). Nesta técnica são obtidos dois produtos: o óleo volátil e o hidrolato (água não alcoólica condensada), separados um do outro por decantação. Uma quantidade mínima de compostos aromáticos está presente no hidrolato, proporcionando aroma agradável. Alguns hidrolatos possuem grande potencial de uso como fragrância

Figura 9 - Sistema de hidrodestilação

Nas indústrias de cosméticos, alimentos e farmacêuticas. Porém, é verídico o descarte dos hidrolatos pelas destilarias desperdiçando uma quantidade de substâncias que poderiam ser utilizadas (LEAL, 2008).

Para a realização da técnica, o material é colocado no interior de um balão de fundo redondo com água suficiente para encobri-lo, onde é mantido em manta de aquecimento e acoplado ao *Clevenger*. No aquecimento, a água evapora, arrastando os componentes voláteis presentes na planta. Logo após, no condensador do próprio aparelho, ele se condensa na forma de óleo. De acordo com a espécie de planta usada na extração para obtenção de óleo, a hidrodestilação pode propiciar um rendimento de 1 a 25% de óleo essencial (GOMES, 2003).

Borges *et al.* (2012), na determinação de óleos essenciais de alfavaca (*Ocimum gratissimum L.*), orégano (*Origanum vulgare L.*) e tomilho (*Thymus vulgaris L.*) através da hidrodestilação, obtiveram o rendimento na extração da folha seca comercial de 1,02 %, 0,62 % e 0,80 %, respectivamente, para cada espécie mencionada.

Luz *et al.* (2009), na avaliação do teor, rendimento e composição química do óleo essencial de manjeriço sob doses de cama de frango, obtiveram rendimento do óleo que variou de 19,73 a 26,49 %, utilizando a matéria-prima seca.

2.6 - Extração com fluido supercrítico (EFSC)

Por volta da década de 50, vários pesquisadores de diferentes países como a União Soviética, Estados Unidos e Alemanha deram início a estudos sobre a extração supercrítica. A extração de produtos naturais através do método da extração supercrítica alavancou somente no final dos anos sessenta, onde surgiram várias patentes de produtos extraídos usando este método na extração de aromas e lipídios (GENENA, 2005).

Williams (1981), após concluir alguns estudos, definiu que a extração com fluido supercrítico é um método unitário, na qual a técnica empregada usa solvente sempre acima de pontos críticos para extraírem componentes solúveis de mistura.

Starmans *et al.* (1996) colocaram que entre os principais parâmetros de processo que afetam a extração estão o pré-tratamento das matrizes herbáceas, pressão, temperatura de extração e a taxa de fluxo do solvente.

Pereira (2010) menciona em seu trabalho, que a extração com fluidos supercríticos facilita extrair os compostos bioativos, tais como compostos que conferem aroma e sabor, corantes e outras biomoléculas. O substrato sólido pode ser tratado como uma matriz de

celulose, que geralmente é inerte ao solvente e ao soluto ou a mistura de solutos que forma o extrato.

De acordo com Lanças (2002), o fluido supercrítico pode ser conceituado como qualquer substância da qual a temperatura e pressão esteja acima do ponto crítico, frequentemente estabelecido a partir do diagrama de fases de uma substância pura (Figura 10). Porém, o que ocorre nos experimentos utilizando o estado supercrítico é um aumento simultâneo da temperatura e da pressão de uma substância (ou mistura de substâncias). O estado supercrítico normalmente é obtido devido a mudanças de agregações entre as moléculas ocasionando transformações na densidade da substância e gerando modificações no comportamento da extração ocasionado pelo seu poder de solvatação.

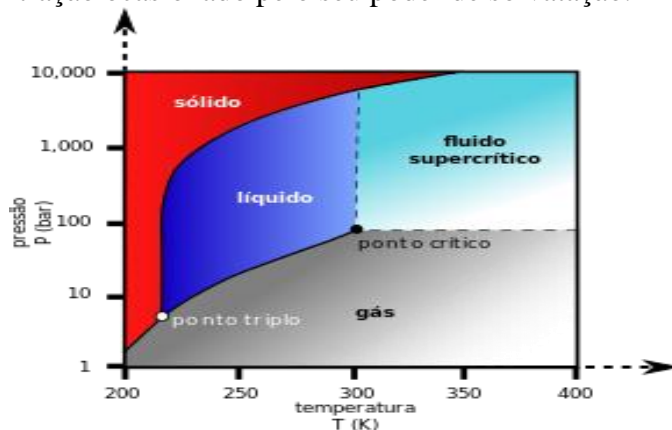


Figura 10 - Diagrama de fase pressão x temperatura e os equilíbrios entre os estados sólido, líquido e gasoso.

No entanto, o fluido supercrítico possui propriedades físico-químicas intermediárias entre líquido e gás. O fato de apresentar densidade próxima a dos líquidos eleva seu potencial de solvatação e sua capacidade calorífica. Existe um relacionamento direto entre a densidade de um fluido supercrítico e seu poder de solvatação ao qual, devido à sua alta compressibilidade, é extremamente dependente da pressão (CARRILHO *et al.* 2001).

A baixa viscosidade, próxima a dos gases, favorece a transferência de massa o que possibilita difundir facilmente através de materiais sólidos, resultando em melhores rendimentos nas extrações (BRUNNER, 1994).

A densidade e a eficácia do solvente e, conseqüentemente, a eficiência da extração podem ser controladas por pequenas alterações de temperatura e pressão (GHOREISHI, 2001).

2.7 - Óleos essenciais extraídos por EFSC utilizando como materia-prima condimentos

Diaz-Maroto *et al.* (2002), na extração de voláteis a partir de especiarias, e fazendo uma comparação simultânea entre a destilação e a extração com CO₂ supercrítico, observaram que as substâncias de maiores rendimentos no manjeriço foram o linalol, timol e carvacrol, na extração com CO₂ supercrítico. Na extração de orégano e manjeriço a quantidade de sesquiterpenos foi semelhante em ambos os extratos. A extração por CO₂ supercrítico provou ser adequado para obter componentes voláteis de especiarias. A otimização foi realizada utilizando orégano como materia-prima, densidades de CO₂ entre 0,25 e 20,90 g/ mL e temperaturas entre 40 e 60,8°C. Os rendimentos ótimos de substâncias voláteis foram obtidos a uma temperatura de 40,8 °C, densidade de 0,72 CO₂ g/mL e pressão de 120 bar.

Em um estudo feito por Silva *et al.* (2004), sobre a composição de óleos essenciais a partir de três espécies *Ocimum*, obtido por destilação a vapor, microondas e CO₂ supercrítico

levaram os pesquisadores às seguintes conclusões: o eugenol esteve presente nos óleos de três espécies; ele foi o principal componente extraído pelos três métodos nos óleos essenciais obtido a partir de *O. gratissimum* e *O. micranthum*; a concentração relativa de anetol em *O. selloi* e eugenol em *O. micranthum* e *O. gratissimum* foi menor usando CO₂ supercrítico.

Quispe Condori (2005), em seu estudo sobre o gênero *Ocimum*, utilizou a espécie *Ocimum Selloi Benth* para separar diferentes frações de compostos. A técnica de extração fracionada foi aplicada onde o composto de interesse foi o anetol. Os ensaios foram realizados a 50 °C utilizando pressões de 95, 150, 200 e 250 bar, e vazão de CO₂ de 6,8 x 10⁻⁵ kg de CO₂/s. O autor concluiu que para o sistema *O. Selloi* + CO₂, a 50 °C e 95 bar, obteve-se uma fração rica em óleo volátil, especificamente rica em anetol.

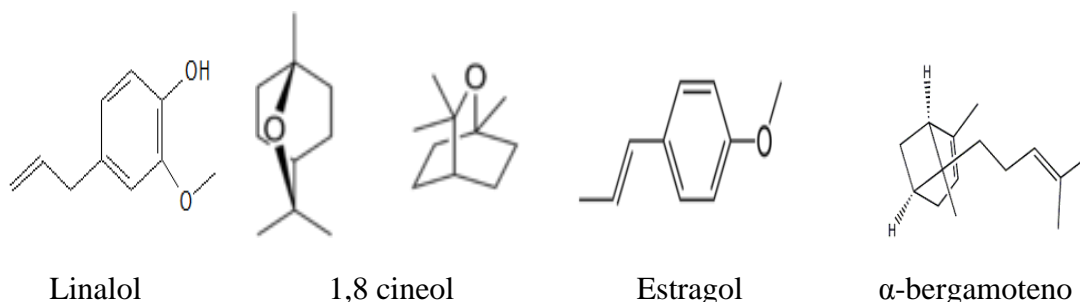
No estudo feito por Mazutti *et al.* (2006), foi possível verificar a influência da temperatura e da pressão como mostra a Tabela 1, em que foram obtidos rendimentos diferenciados para cada composto existente na espécie de *Ocimum basilicum L.* em diferentes condições de processo. As extrações foram conduzidas à pressão e temperatura constantes por, aproximadamente, 3 h. A vazão de dióxido de carbono foi mantida constante em 2 g min⁻¹ para todos os experimentos. O intervalo de temperatura investigado foi de 20 a 50 °C e pressões entre 100 e 250 bar.

Tabela 1 - Composição química (compostos majoritários) dos extratos de *Ocimum basilicum L.* obtidos com CO₂ a altas pressões.

Compostos	20 °C		35 °C	50 °C	
	100 bar	250 bar	175 bar	100 bar	250 bar
Linalol	47,3	45,3	38,6	45,9	38,6
1,8 cineol	4,2	3,8	2,6	3,1	2,6
Estragol	22,6	18,4	17,6	25,4	17,7
α-bergamoteno	2,2	2,4	1,9	2,4	1,9
Cadineno	1,8	1,4	1,7	1,8	1,7
δ-guaieno	1,6	1,4	1,3	2,0	1,3
Viridiflorol	2,8	2,0	2,0	3,5	2,0
Total	82,5	74,7	65,7	84,1	65,8

Adaptado de Mazutti *et al.* (2006).

As estruturas químicas dos compostos seguem logo abaixo da Tabela 1 de composição na Figura 11.



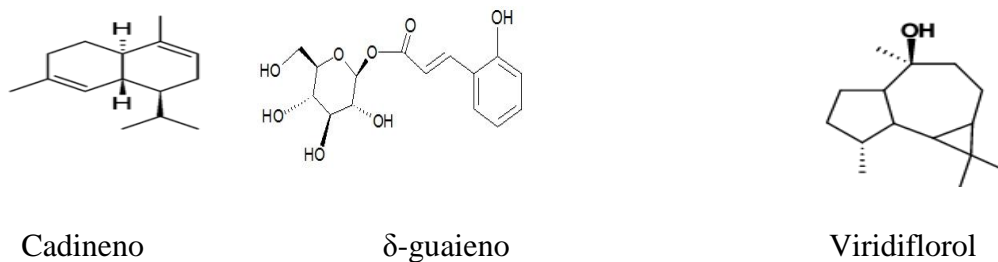


Figura 11 - Estruturas químicas dos principais compostos químicos (Mazutti *et al.* 2006).

Mazutti *et al.* (2006) constataram que temperatura e densidade baixas exerceram influência significativa para os monoterpênicos, monoterpênicos oxigenados, sesquiterpênicos e sesquiterpênicos oxigenados e que condições de baixas temperaturas poderiam ser utilizadas para remoção de tais compostos. Quanto aos hidrocarbonetos lineares, temperatura e densidade elevadas conduziram a melhores resultados. Devido a falta de padrão apenas os sesquiterpênicos oxigenados linalol e estragol, foram possíveis de serem identificados.

Leal *et al.* (2006) estudaram o rendimento global dos extratos obtidos pela extração com fluido supercrítico, composição química e atividades antioxidantes (AA) do basil cravo (*Ocimum Gratissimum L.*). O rendimento global foi determinado a 40 °C e pressões que variaram de 100 a 300 bar. Eles concluíram que o rendimento global foi afetado pela dosagem de fertilizante orgânico, no período de colheita, e pela pressão de extração. Os principais compostos do extrato de manjeriço foram eugenol e β selineno, substâncias com elevado poder antioxidante.

Zheljzakov *et al.* (2008), avaliaram os genótipos e fenótipos de manjeriço (*ocimum basilicum*), provenientes de diversas partes do mundo e cultivados apenas em Mississipi; o rendimento do óleo essencial variou de 0,07 a 1,92%.

Babovic *et al.* (2010), usaram folhas secas de ervas selecionadas pertencentes à família Lamiaceae, sendo elas: Rosemary (*R. officinalis*), sálvia (*S. officinalis*), tomilho (*T. vulgaris*) e hissopo (*officinalis Hyssop*) através do método de EFSC, com o objetivo de isolar frações antioxidantes. Primeiro extraiu-se a fração de óleo essencial usando as condições de 11,5 MPa e temperatura de 40 °C. A fração de antioxidante foi obtida utilizando pressão de 35 MPa e temperatura de 100 °C. As condições de extração (100 °C e 35 MPa) foram escolhidas com base em investigações anteriores. A taxa de fluxo de CO₂ foi de 0,3 kg/h em todas as experiências. Sálvia e tomilho apresentaram as maiores quantidades de diterpenos fenólicos, indicando seu uso potencial na indústria de alimentos como suplementos nutricionais, componentes de alimentos funcionais antioxidantes.

2.8 - Densidade

Entre os parâmetros operacionais da EFSC, o controle da pressão é o mais importante uma vez que a densidade do fluido é extremamente influenciada pela pressão (CARRILHO, 2001).

Segundo Moura (2004), nas proximidades do ponto crítico, a solubilidade é fortemente influenciada pela temperatura e moderadamente influenciada pela pressão, entretanto acima do ponto crítico, ambos os efeitos (temperatura e pressão) exercem influência significativa na solubilidade, sendo que a solubilidade aumenta com o aumento da pressão e diminui com o aumento da temperatura. O efeito da temperatura sobre a solubilidade apresenta dois efeitos, visto que, com o aumento da temperatura ocorre uma

elevação da pressão de vapor do soluto, promovendo uma maior solubilidade, por outro lado, a densidade do solvente diminui, provocando também uma diminuição da solubilidade.

2.9 - Utilização do dióxido carbônico como solvente

As extrações supercríticas são realizadas, geralmente, utilizando o dióxido de carbono (CO₂) como solvente, devido às vantagens que o seu uso apresenta, principalmente, no contexto atual contribuindo com a preservação do meio ambiente, pois seu uso não causa prejuízos ambientais por não ser tóxico e nem inflamável, ser inodoro e sem atividade sob o ponto de vista químico, podendo ser usado na indústria alimentícia e de fármacos (ALMEIDA, 2009).

O CO₂ tem a densidade próxima à de um líquido, baixa viscosidade, podendo ser usado na extração de uma grande faixa de substratos naturais. O dióxido de carbono possui temperatura crítica ligeiramente acima da temperatura ambiente (31 °C), o que evita a evaporação de substâncias termossensíveis. A pressão crítica é de 73,8 bar ou 1071 psi. É facilmente obtido com alta pureza a um baixo custo (BRUNNER, 1994 *apud* SANTOS et al, 2011). Sua utilização como solvente possibilita que o oxigênio sem qualquer dificuldade seja removido da matriz do soluto, evitando que ocorram oxidações e reações de auto-oxidação o que ocasionaria a hidrólise dos compostos a extrair (ALMEIDA, 2009).

2.9.1 - Vantagens na aplicação do método de extração com EFSC

- a) Uso do dióxido de carbono como solvente, que não é inflamável, é fácil de ser obtido e purificado, possui custo inferior aos solventes orgânicos;
- b) Uso de outros tipos de solvente além do dióxido de carbono como co-solventes;
- c) Permite a extração a baixas temperaturas, o que é especialmente adequado quando compostos termossensíveis estão presentes;
- d) Fácil recuperação do solvente supercrítico após o processo de extração, apenas pelo ajuste de pressão e/ou temperatura, sendo que o mesmo pode ser continuamente reciclado. Isto elimina uma das etapas mais dispendiosas dos processos de extração convencionais que é a separação entre produto extraído do solvente orgânico;
- e) Obtenção de produtos com alto grau de pureza já que o processo não deixa resíduos de solvente no produto final;
- f) Rapidez no processamento dos materiais, devido à baixa viscosidade, alta difusividade e grande poder de solubilização do solvente supercrítico, e eficiência de separação, com alta seletividade entre os produtos extraídos, tornando-a um processo competitivo frente a outras tecnologias (MICHIELIN *et al*, 2005).

2.9.2 - Desvantagens na aplicação do método de extração com EFSC

Embora a técnica da extração com CO₂ supercrítico, ofereça vantagens de processo, quando é comparado a outros métodos, ele também apresenta algumas desvantagens, frente aos processos convencionais sendo estas:

- a) Periculosidade envolvida nas operações inerentes aos processos a altas pressões;
- b) Elevado custo na montagem de uma unidade experimental como industrial;
- c) Quando faz uso de solventes como o etanol, hexano, entre outros, também deixa resíduos;
- d) Menor rendimento comparado a alguns métodos convencionais (STEFFANI, 2003).

2.10 - Modelagem matemáticas do processo de extração

No processo de extração supercrítica, a modelagem matemática é fundamental para a representação do processo experimental e potencial “scale-up” para a aplicação em escalas maiores. A modelagem matemática pode ser realizada através da elaboração de equações diferenciais com base na transferência de massa na fase fluida (solvente) e na fase sólida ao longo do leito, além disso é usada para facilitar a compreensão do fenômeno. Modelos matemáticos facilitam o diagnóstico do processo e na previsão do que acontece em condições diferentes daquelas experimentais utilizada no de ajuste dos parâmetros (BARROSO *et al.* 2011).

Um modelo não deve ser apenas um instrumento matemático, e sim deve ter a função de informar o significado físico da estrutura sólida nas observações experimentais (STEFFANI, 2003).

O modelo de Esquível *et al.* (1999), por exemplo, necessita de apenas duas informações: o que são a massa de alimentação no extrator e o rendimento global, já o modelo de Sovová (1994), ao contrário reúne um número de variáveis superior, a fim de descrever com maior precisão as cinéticas obtidas experimentalmente.

De acordo com Brunner (1994), a descrição dos fenômenos físicos que ocorrem durante o processo é importante para a compreensão dos modelos a serem apresentados.

2.10.1 - Modelo de Esquível *et al.* (1999)

Este modelo, na sua forma original é representado pela Equação 97, ele se enquadra em uma categoria de modelos que depende da forma hiperbólica. A teoria do modelo de Esquível *et al.* (1999) trata-se do uso da equação cinética de crescimento microbiano proposto por Mond para representar o rendimento da extração em função do tempo de extração.

2.10.2 - Modelo empírico

Embora o processo utilizando SC-CO₂ apresente vantagens em comparação aos outros processos, seu investimento inicial é alto. No entanto, torna-se viável economicamente para a extração de compostos de alto valor agregado (PEREIRA & MEIRELES, 2009).

Com a finalidade de avaliar matematicamente os dados experimentais, usado um modelo empírico, sendo este de transferência de massa, conhecido como modelo de Esquível *et al.* (1999).

O modelo empírico baseia-se, primariamente, na equação de Langmuir e esta equação foi usada por Esquível *et al.* (1999) para descrever curvas de extração globais. O modelo empírico não considera interações entre o soluto e a matriz sólida e tem apenas dois parâmetros de ajuste: e_{lim} e b , onde e é o rendimento que expressa a razão entre a massa de óleo extraída no tempo t e a massa inicial da carga livre de soluto (g de extrato/g de carga livre de soluto), e_{lim} é o rendimento após um tempo infinito de extração e b é parâmetro que não possui significado físico

O parâmetro e_{lim} é definido como a quantidade máxima de óleo possível, presente em uma determinada matriz, dada a uma condição operacional (SILVA, 2006).

No processo de extração supercrítica, a modelagem matemática é fundamental para a representação do processo experimental e potencial “scale-up”. Nesse caso, foi utilizado um modelo empírico, simples, que tem representado bem os processos de extração usando fluido supercrítico, utilizando diferentes matérias-primas, vegetal ou animal, sólida ou líquida.

De forma geral, os modelos matemáticos reportados da literatura pertencem a uma das categorias que segue mencionadas:

- ✓ Modelos Empíricos;
- ✓ Modelos baseados em analogia de transferência de calor;
- ✓ Modelos de diferencial de integração de balanço de massa das fases fluidas e sólidas.

O modelo proposto por Esquivel *et al.* (1999) é um modelo empírico, descrito na Equação 1:

$$e = elim \left(\frac{t}{b + t} \right) \quad (\text{Eq:1})$$

As curvas relacionam a massa acumulada extraída em função do tempo de extração. Com o valor de e_{lim} , conhecido a partir da extração convencional através do método Soxhlet, obteve-se o percentual de óleo existente na amostra analisada de acordo com Equação (3)

2.11 - Planejamento Experimental

A importância de um bom planejamento consiste da essência de projetar um experimento de forma que ele seja capaz de fornecer o tipo de informação que se procura. No entanto torna-se prescindível saber delimitar muito bem o que se deseja alcançar, definindo claramente o que pretende obter com os experimentos e disso dependerá o tipo de planejamento a ser utilizado com base em princípios estatísticos (LEMOS, 2009).

Os métodos analíticos podem ser realizados através do emprego de diversas técnicas estatísticas. A otimização das condições experimentais na aplicação da extração supercrítica, torna-se um instrumento de grande eficiência por ser uma metodologia que proporciona efeito em diversas variáveis que são fundamentais na apresentação dos resultados da extração. Em muitos casos, a falta de planejamento pode ser a causa do fracasso de uma análise, sendo raros os pesquisadores que realizam uma análise estatística antes de realizarem seus experimentos (BIMAKR *et al.*, 2009).

Os procedimentos de extração supercrítica em escala piloto são utilizados basicamente no desenvolvimento de processo, visando o scale-up para processos industriais e também na produção de extratos de elevado valor agregado e que são produzidos em menores volumes. Dentre as aplicações mais utilizadas destacam-se as extrações de substâncias aromáticas e fragrâncias de alto valor agregado.

2.11.1 - Delineamento composto central rotacional (DCCR)

De acordo com Rodrigues e Iemma (2005) delineamento de Experimentos (DOE) é o plano formal para a condução do experimento, sendo assim são testes conduzidos de forma planejada, onde os fatores (ou variáveis controladas) são alterados de modo a avaliar-se seu impacto sobre uma variável resposta. Quando se necessita desenvolver ou melhorar um processo, o pesquisador precisa planejar um experimento para avaliar os efeitos que suas variáveis independentes têm sobre as respostas. Para tal há pesquisadores que diz ter três caminhos e um problema experimental podem ser apresentados de forma esclarecedora. Para conduzir experimentos de duas ou três variáveis, por exemplo, o Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR) é uma destas opções.

O número de planejamentos experimentais fatoriais necessários depende principalmente do número de variáveis independentes a serem estudadas inicialmente. No caso de duas ou três variáveis independentes ou fatores, não devemos realizar um fatorial

fracionado, sendo mais recomendado um Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR) ou Planejamento Fatorial com Pontos Axiais ou ainda Planejamento Estrela (RODRIGUES & IEMMA, 2005)

3 – MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 - Materiais

A matéria-prima utilizada foi o manjeriço (*Ocimum basilicum L*), adquirida no CEASA-RJ, no mês de agosto de 2012, vindo da região serrana de Teresópolis-RJ. O dióxido de carbono (White Martins S.A, Rio de Janeiro) tinha 99,995% de pureza mínima. Para realizar o processo de extração com Soxhlet, foi utilizado hexano (Vetec Química Fina, Rio de Janeiro-Brasil), o processo de extração através da hidrodestilação, a H₂O destilada foi o único solvente utilizado.

As extrações foram realizadas no Laboratório de Termodinâmica Aplicada no Departamento de Engenharia Química (DEQ/UFRRJ). Todos os extratos obtidos nas extrações foram mantidos em refrigerador ao abrigo da luz para evitar perda de compostos por incidência da luz.

Após todas as extrações as amostras foram encaminhadas para o Instituto Federal do Rio de Janeiro (IFRJ) para o Laboratório de Química Orgânica, onde foram realizadas as análises qualitativa e quantitativa da composição do óleo essencial de manjeriço.

3.2 - Procedimento experimental

3.2.1 - Preparo da matéria-prima

Após aquisição, as folhas foram submetidas ao processo de secagem, a fim de reduzir o teor de umidade inicial (90 %) para que o mesmo não interferisse no rendimento do extrato. A secagem foi feita em estufa com circulação e renovação de ar (modelo SL-102, marca SOLAB, Brasil). A temperatura de secagem foi de 50 °C, mantida por 5 horas, até umidade constante. O processo foi realizado no Laboratório de Análise de Alimentos do Departamento de Tecnologia de Alimentos –DTA-UFRRJ.

Após a secagem, as folhas foram cortadas e posteriormente moídas em processador e homogeneizadas. Não foi realizada nenhuma classificação quanto ao tamanho, por não haver necessidade, uma vez que, após a trituração, os tamanhos das partículas atendiam ao objetivo que era aumentar a superfície de contato e facilitar a penetração do solvente. As amostras foram acondicionadas em sacos plásticos fechados e armazenados em refrigerador (Marca Consul Biplax, modelo CRD48F-450 L, Brasil), com umidade controlada ao abrigo da luz.

3.2.2 - Extração do óleo usando metodologia convencional

3.2.3 - Procedimento para extração com o uso do soxhlet

Utilizando o Soxhlet, com objetivo de determinar o percentual de óleo inicial existente na matéria-prima, 5 g de folhas de manjeriço foram colocados em um cartucho de celulose e alimentados em um extrator. Em um balão de 250 mL, adicionou-se 200 mL de hexano, que foi aquecido por uma manta (Fisatom, modelo 702), permanecendo sob refluxo contínuo. Nesta fase ocorreu à evaporação do solvente, condensando-se sobre o material sólido, em seguida a este processo, os solutos são concentrados no balão. Após a destilação, os produtos foram direcionados para um evaporador rotativo (Fisatom, modelo 804) sendo necessária a utilização de uma bomba de vácuo (Fisatom, modelo 424237) para finalizar o

processo de eliminação do solvente. O tempo de extração foi de 4 horas. O cálculo do rendimento, foi feito utilizando a Equação 2:

$$\text{Óleo extraído (g)} = \frac{\text{Óleo extraído} \times 100}{\text{Massa alimentada}} = \frac{\text{Óleo}}{100} \quad \text{Eq.(2)}$$

Onde **Óleo extraído** é a quantidade de óleo obtido após a eliminação do solvente e **Massa alimentada** é a massa de matéria-prima utilizada na extração do óleo essencial.

3.2.4 - Processo de extração por hidrodestilação

Na extração por hidrodestilação, usou-se 300 mL de água destilada e, 30 g do manjeriço foram alimentados a um balão de destilação de fundo redondo de 500 ml, através do aparelho Clevenger. A mistura a ser destilada foi aquecida em uma manta (Classe 300-1000 mL - modelo 102 e 102 E) durante 4 horas de extração, após este período foi adicionado 10 mL de hexano para a formação de duas fases distintas: uma contendo água e impurezas e a outra hexano e componentes orgânicos, o extrato foi colocado em um funil de separação de 100 mL. Acrescentou-se sulfato de sódio (Na₂SO₄) na amostra recolhida, garantindo assim a retirada da água e outras impurezas. Realizada a filtração para eliminação da água, solvente e soluto foram separados através de rotaevaporador (Fisatom, modelo 804), para a eliminação do hexano, obtendo-se o extrato livre do solvente. O cálculo do rendimento foi feito utilizando a Equação 2.

3.2.5 - Extração do óleo usando EFSC

Para a realização deste trabalho foi usada uma unidade de extração com fluido supercrítico, onde foram estudados os rendimentos globais e a cinética de extração. A unidade está montada no Laboratório de Termodinâmica Aplicada e Biocombustíveis, no Departamento de Engenharia Química (DEQ/UFRRJ), composto por um extrator de aço inoxidável 316S de 42 mL de volume com telas de 260 mesh no topo e no fundo para evitar a passagem de qualquer material, evitando o entupimento da linha. O extrator é acoplado a um banho termostático (marca Haake, modelo K15, Brasil) para o monitoramento e controle da temperatura da extração. Uma bomba de alta pressão (Palm Tecnologia em Alta pressão, modelo G100, Brasil), específica para bombeamento de CO₂, é responsável pela alimentação do solvente. Um manômetro é responsável pela medida da pressão durante todo o experimento. Todo o aparato experimental montado pode ser visto nas Figuras 12 e 13, bem como em Mendes (2002) e Silva *et al.* (2008).

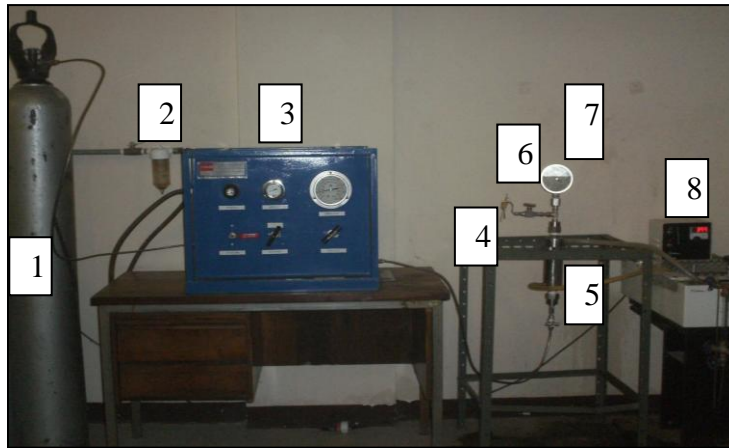


Figura 12 - Unidade de extração com CO₂ supercrítico pertencente ao laboratório Termodinâmica Aplicada- DEQ-UFRRJ. Cilindro de CO₂ = 1, Filtro de CO₂ = 2, Bomba = 3, Válvula Coletora = 4, Extrator = 5, Válvula micrométrica = 6, Manômetro = 7, Banho Termostático = 8

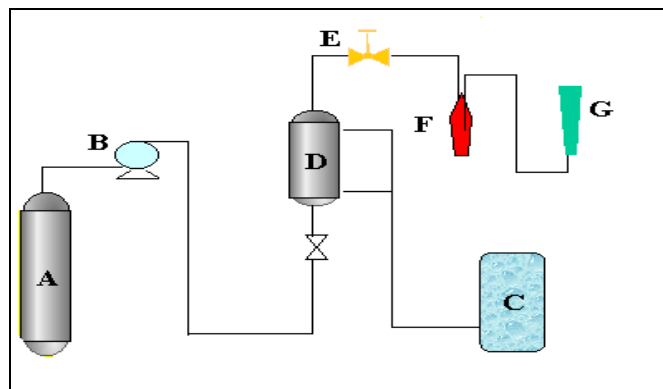


Figura 13 - Diagrama do aparato experimental. A = CO₂ cilindro, B = bomba de alta pressão, C= banho de aquecimento, D= extrator, E = Válvula micrométrica F= refinado, Manômetro = G.

As extrações foram realizadas com, aproximadamente, 4,5 g de matéria-prima. As amostras e os tubos coletores foram pesados em balança digital analítica (marca: Gehaka, modelo: AG 200, e = ± 0,0001 g).

O tempo estático de extração teve uma duração de 20 minutos. O extrato de manjeriço era coletado nos frascos, pesados em intervalos de tempo de 10 minutos para fazer o cálculo da massa do extrato obtido. O tempo de extração foi de quatro horas, a vazão de dióxido de carbono foi mantida em torno de 16,4 mL/min para as condições empregadas e os intervalos de temperatura ficaram na faixa de 30 a 50 °C e pressões entre 100 e 300 bar, a escolha das condições empregadas foi com base em dados contidos na literatura. O rendimento foi calculado como a razão entre o óleo extraído e a massa alimentada, utilizando a Equação 3:

$$e (\%) = \frac{\text{Massa de óleo extraída}}{\text{Massa alimentada} - \text{massa de óleo inicial}} \times 100 \quad \text{Eq.(3)}$$

Onde:

Massa de óleo extraída: é o valor da massa obtida após o processo de extração;

Massa alimentada: é a massa de matéria-prima utilizada na extração do óleo essencial;

Massa de óleo inicial: é a quantidade de massa de óleo presente na matéria-prima (valor obtido através da extração com soxhlet).

3.2.6 - Planejamento experimental

O estudo da extração do óleo essencial de manjeriço foi realizado utilizando um DCCR 2² com duas variáveis, três pontos centrais, mais quatro pontos axiais, totalizando onze ensaios, ao nível de significância de 95%. As variáveis selecionadas foram temperatura e pressão, representadas por X₁ e X₂, variáveis codificadas adimensionais. A Tabela 2 mostra os parâmetros que foram usados para determinar as condições dos ensaios na obtenção do rendimento dos extratos analisados. A Tabela 3 correlaciona os valores codificados e reais de cada variável. Três repetições no ponto central da concepção foram realizados para permitir a estimativa do erro puro (Ensaio 9, 10 e 11). Com o objetivo de investigar o efeito das duas variáveis sobre o rendimento da massa extraída do extrato de manjeriço, foi usado o cálculo do ANOVA, ao nível de 5% de significância.

Tabela 2 - Condições preestabelecidas das variáveis independentes como nível superior (+), nível inferior (-), intermediário (0).

Variáveis	Códigos	Níveis				
		-1,41	-1	0	+1	+1,41
Temperatura (°C)	X1	30	33	40	47	50
Pressão (bar)	X2	100	129	200	271	300

Tabela 3 - Condições preestabelecidas das variáveis independentes como nível superior (+), nível inferior (-), intermediário (0).

Ensaio	Temperatura		Pressão	
	Cod.	Real (°C)	Cod.	Real (bar)
1	-1	(33)	-1	(129)
2	1	(47)	-1	(129)
3	-1	(33)	1	(271)
4	1	(47)	1	(271)
5	-1,41	(30)	0	(200)
6	+1,41	(50)	0	(200)
7	0	(40)	-1,41	(100)
8	0	(40)	+1,41	(300)
9	0	(40)	0	(200)
10	0	(40)	0	(200)
11	0	(40)	0	(200)

As extrações foram conduzidas à pressão e temperatura constantes por 4h. A vazão de dióxido de carbono foi mantida constante em 16,4 mL/min para todos os experimentos. O intervalo de temperatura investigado foi de 30 a 50 °C e pressões entre 100 e 300 bar.

3.2.7 - Análises estatísticas

Para efetuar o planejamento foi utilizado o Software STATISTICA 7.0, com o objetivo de investigar o efeito de duas variáveis sobre o rendimento da massa extraída do extrato de manjeriço. O mesmo foi usado para o cálculo da análise de variância (ANOVA) ao nível de 5% de significância.

Através do programa SISVAR 7.5 foi realizado um Teste Skott-Knott ao nível de significância de ($p < 0,05$).

3.3 - Modelagem matemática do processo de extração usando EFSC

No processo de extração supercrítica, a modelagem matemática é fundamental para a representação do processo experimental e potencial “scale-up”. Nesse caso, foi utilizado um modelo empírico, simples, que tem representado bem os processos de extração usando fluido supercrítico, utilizando diferentes matérias-primas, vegetal ou animal, sólida ou líquida. Ele é aplicado às curvas de extração, para todas as condições operacionais estudadas e as curvas relacionam a massa acumulada extraída em função do tempo de extração. O modelo empírico baseia-se, primariamente, na equação de Langmuir e esta equação foi usada por ESQUIVEL et al. (1999) para descrever curvas de extração globais.

O modelo empírico não considera interações entre o soluto e a matriz sólida e tem apenas dois parâmetros de ajuste: $elim$ e b , onde e é o rendimento expressado pela razão entre a massa de óleo extraída no tempo t e a massa da carga livre de soluto (g de extrato/g de carga livre de soluto) e $elim$ é o rendimento após um tempo infinito de extração e b é um parâmetro que não possui significado físico (SILVA, 2006).

Com o valor de $elim$, conhecido a partir da extração convencional através do método Soxhlet, obteve-se o percentual de óleo existente na amostra analisada de acordo com Equação 1.

Os parâmetros do $elim$ são definidos como a quantidade máxima de óleo, presente em uma determinada matriz, dada a uma condição operacional aplicada.

O desvio relativo médio (DRM %) foi calculado através da Equação 4, sendo DRM o desvio relativo médio e N_{exp} é o número de pontos experimentais utilizados.

$$DRM \% = \frac{100}{N_{exp}} \sum \left(\frac{(e_{experimental}) - (e_{calculado})}{(e_{experimental})} \right) \quad \text{Eq (4)}$$

3.4 - Identificação das substâncias antioxidantes

3.4.1 - Atividade antioxidante total pela captura do radical livre DPPH do óleo essencial de manjeriço (*Ocimum basilicum L*)

A solução de DPPH foi obtida a partir de uma solução estoque 0,6 mM e, desta solução, 10 mL foram transferidos para um balão de 100 mL que teve seu volume completado com metanol. Esta solução foi lida em espectrofotômetro e ajustada para uma absorbância média de 700 nm, sendo utilizada então para os testes de atividade antioxidante total (ATT).

A partir das amostras de extrato seco obtido através da extração supercrítica, prepararam-se as soluções das amostras. Utilizou-se 1 mL de diclorometano mais o extrato.

Colocou-se a solução no aparelho de ultrassom, mantendo a amostra em agitação por 10 min. Em seguida, adicionou-se esta solução em um balão com 3 mL de diclorometano. Este procedimento foi utilizado para 9 amostras obtidas em diferentes condições de extração do óleo essencial de manjeriço por CO₂ supercrítico.

A partir do extrato obtido no item anterior ao abrigo de luz, transferiu-se uma alíquota de 0,15 mL de cada diluição do extrato para os tubos de ensaio em duplicata com 2,85 mL de DPPH. A solução foi homogeneizada em agitador de tubos por aproximadamente, 1 min.

Um controle negativo foi feito pela adição de 0,15 mL de diclorometano mais 2,85 mL do radical DPPH. Utilizou-se metanol como branco para calibrar o espectrofotômetro. As amostras foram mantidas ao abrigo da luz por 60 min para então iniciar o procedimento de leitura da absorbância no espectrofotômetro a 515 nm.

A capacidade de eliminar o radical DPPH (% de atividade antioxidante) foi calculada, utilizando-se a Equação 5.

$$AA \% = \left(\left(\frac{Abs \text{ amostra}}{Abs \text{ DPPH}} - Abs \text{ branco} \right) \times 100 \right) \quad \text{Eq.(5)}$$

3.4.2 - Avaliação da atividade antioxidante total pelo método de FRAP do óleo essencial de manjeriço (*Ocimum basilicum L*)

De acordo com Pulido *et al.* (2000) que descrevem o método cujo o reagente tem o Poder Antioxidante de Redução do Ferro (FRAP) para esta análise foi obtido a partir da combinação de 25 mL de tampão acetato 0,3 M, 2,5 mL de uma solução de TPTZ 10 mM e 2,5 mL de uma solução aquosa de cloreto férrico 20 mM, na qual foi usado imediatamente após sua preparação. A solução padrão de sulfato ferroso 2 mM foi preparada dissolvendo 27,8 mg de sulfato ferroso em água destilada. O volume do balão foi completado até 50 mL com água destilada, na qual foi homogeneizada e a solução transferida para um frasco de vidro âmbar devidamente etiquetado.

Em ambiente escuro, transferiu-se uma alíquota de 90 µL de cada diluição do extrato de manjeriço para tubos de ensaio, acrescentar 270 µL de água destilada, misturou-se com 2,7 mL do reagente FRAP, homogenizou-se em agitador de tubos e manteve-se em banho-maria a 37 °C. Realizou-se a leitura (595 nm) após 30 minutos da mistura preparada e utilizou-se o reagente FRAP como branco para calibrar o espectrofotômetro.

Esta metodologia foi adaptada por Rufino *et al* (2006). Na Figura 14 estão algumas das amostras após o processo de reação química causada pelo FRAP, mostrando a coloração da reação bem como a separação do óleo.

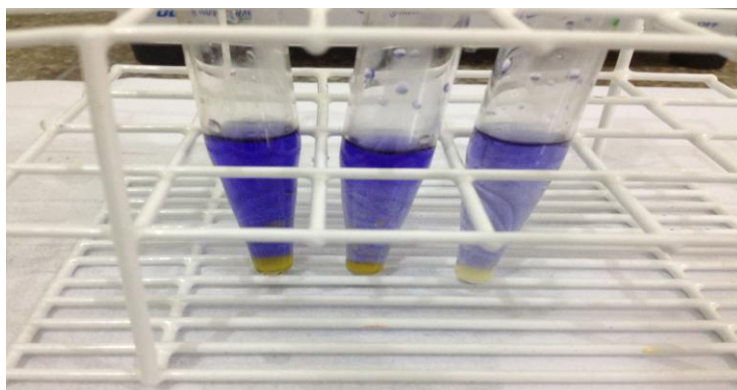


Figura 14 - Ilustração da reação química de FRAP

3.5 - Análises de cromatografia – GC/MS

As amostras foram encaminhadas para o Instituto Federal do Rio de Janeiro (IFRJ) para o Laboratório de Química Orgânica, onde foram realizadas as análises qualitativa e quantitativa da composição do óleo essencial de manjeriço. As análises foram realizadas por cromatografia gasosa em cromatógrafo HP 5890 série II com detector de FID (CG-FID), sob condições: coluna VF-5 ms (30 m x 0,25 mm x 0,25 mm) Varian.

A temperatura da coluna foi de 60 °C a 2 °C / min, 110 °C a 3° / min, 150 °C a 15 °C / min, 290 °C a 15 °C / min, detector em 250 °C (FID), injetor em 220 °C, e gás o de arraste foi o hélio com fluxo de 1 mL / min e pressão de 12 psi. Os óleos essenciais e os padrões analíticos foram diluídos em diclorometano e injetados em cromatógrafo em fase gasosa.

A identificação dos constituintes foi realizada através dos tempos de retenção das substâncias do óleo em comparação com os padrões (linalol, eugenol, 1,8 cineol, α -terpineol e α -trans bergamoteno) e os índices de Kovats (IK) foram calculados através da co-injeção com a série homóloga de hidrocarbonetos (C8-C20).

4 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nesta parte do estudo são apresentados todos os resultados provenientes da extração do óleo essencial de manjeriço, Os resultados do processo que envolveu diferentes metodologias de extração foram analisados, apresentados e discutidos.

4.1 - Resultado da extração do óleo usando metodologia convencional

4.1.1 - Resultado da extração através do extrator soxhlet

Utilizando a Equação 2 para o cálculo do rendimento, através do método de soxhlet (hexano como solvente) o rendimento obtido foi de 2,39%. É sabido que nesta técnica além do óleo essencial, obtém-se outros compostos lipofílicos devido a polaridade do solvente(apolar), por isso o rendimento apresentado é na maioria das vezes superior quando comparado a outros métodos, bem como ocorreu neste estudo.

O resultado foi considerado satisfatório em se tratando de óleo essencial e por ser pequena a quantidade da amostra.

4.1.2 - Resultado da extração através da hidrodestilação

Na hidrodestilação assim como no soxhlet, utilizou-se a Equação 2 para obtenção do resultado referente ao rendimento do óleo extraído. A quantidade foi de 0,26%, valor bem menor que o extraído na técnica já mencionada. Este resultado pode ser atribuído ao grau de polaridade da água que favorece apenas a extração de substâncias polares, e na composição do óleo existem substâncias apolares e de alto peso molecular, não sendo extraídos pela água, resultando em menor rendimento.

4.1.3 - Resultado da extração do óleo essencial usando extração com fluido supercrítico

Para esta técnica empregada o resultado foi superior quando feita a comparação entre ela e a hidrodestilação. O rendimento foi calculado de acordo com a Equação 3, que resultou no valores muito próximos entre as condições empregada, mas com maiores valores para 33 °C e 271 bar e 50 °C e 200 bar sendo estes rendimentos de 0,43% de óleo essencial extraído.

A Tabela 4 mostra o percentual de extração para todas as diferentes condições operacionais com exceção das repetições do ponto central do planejamento experimental; através dela é possível verificar qual foi o rendimento em cada hora de extração que totalizou 240 minutos para cada condição aplicada.

Tabela 4 - Rendimento de extração em função do tempo na obtenção do óleo essencial de manjeriço

Condições	Tempo de extração				
	10 min	60 min	120 min	180 min	240 min
30°C/ 200 bar	0,21	0,26	0,32	0,36	0,41
33°C/ 129 bar	0,17	0,23	0,30	0,33	0,33
33°C/ 271 bar	0,21	0,26	0,31	0,36	0,43
40°C/ 100 bar	0,17	0,25	0,30	0,39	0,39
40°C/ 200 bar	0,18	0,25	0,31	0,38	0,41
40°C/ 300 bar	0,21	0,26	0,30	0,42	0,43
47°C/ 129 bar	0,16	0,26	0,32	0,37	0,38
47°C/ 271 bar	0,16	0,24	0,28	0,31	0,32
50°C/ 200 bar	0,15	0,23	0,31	0,38	0,43
Média de rendimento	0,18	0,25	0,31	0,37	0,39
Aumento (%)		39	24	20	5,4
Desvio padrão	0,02	0,01	0,01	0,03	0,02

Pode-se observar com estes resultados que, nas primeiras horas de extração, obteve-se o maior percentual de óleo extraído e que a partir da terceira hora, o rendimento foi pouco significativo, média de 0,02 %, e desvio padrão também 0,02 %. Iniciando-se o processo de esgotamento do conteúdo extraído. Esta queda ocorreu em praticamente todas as condições empregadas.

Os melhores rendimentos foram observados a 33 °C e 271 bar, 50 °C e 200 bar, 40 °C e 200 bar iguais a 0,43 % e o menor rendimento foi a 47 °C e 271 bar (0,32 %).

Levando em consideração apenas as condições empregadas, Quisper Condori (2005), em seu estudo, também obteve o rendimento máximo de óleo essencial de manjeriço da espécie de (*Ocinum Selloi*) a 200 bar e 40 °C, condição operacional semelhante a encontrada neste trabalho.

4.1.4 - Resultado da análise estatística do planejamento experimental

Diante dos dados obtidos na extração EFSC, foi possível fazer as análises estatísticas do planejamento experimental, na qual realizou-se um DCCR 2², e os resultados da primeira análise estatística que verificou o Coeficiente de regressão através do programa Statistica 7.0, estão apresentados na Tabela 5, que mostra a análise de variância (ANOVA) referente aos ensaios do planejamento. Nesta análise, os parâmetros estatisticamente não significativos foram incorporados ao resíduo. Neste caso, o modelo foi validado pela análise de variância.

Tabela 5 - Rendimento de extração em função do tempo na obtenção do óleo essencial de manjeriço

Fatores	Coefficiente Regressão	Desvio Padrão	t (5)	p-valor
Média *	0,41	0,02	24,26	0,00
(X1)Temperatura (L)	Ns	0,01	-0,37	0,72
(X1)Temperatura (Q)	Ns	0,01	-0,40	0,71
(X2) Pressão (L)	Ns	0,01	0,14	0,89
(X2) Pressão (Q)	-0,02	0,01	-2,04	0,09
Temp, X Pressão *	-0,04	0,01	-2,61	0,05

ns - não são estatisticamente significativos para 95% de confiança.

* fatores estatisticamente significativos para 95% de confiança.

Observa-se que apenas a média e a interação das duas variáveis (X1 L e X2 L) foram estatisticamente significativas ao nível de significância de 95% ($p < 0,05$), Sendo assim, o mesmo teve seus valores validados através da análise de ANOVA descritos na Tabela 6 e os parâmetros estatisticamente não significativos foram incorporados ao resíduo.

Tabela 6 - Análise de variância do DCCR (2^2) para o rendimento de óleo essencial de manjeriço extraído no período de 4 h.

Fonte de Variação	Soma dos Quadrados	Graus de Liberdade	Quadrado Médio	F_{calculado}	p-valor
Regressão	0,0061	1	0,0061		
Resíduo	0,0083	9	0,0009	6,8	0,0499
Total	0,0141	10			

Porcentagem de variação explicada (R^2) = 69,1% $F_{\text{tabelado } 0,05;1;9} = 5,12$

Observou-se que porcentual de variação explicado pelo modelo foi adequado ($R^2 = 69,1\%$) e o $F_{\text{calculado}}$ para a regressão foi maior que F_{tabelado} , demonstrando que o modelo é representativo e a superfície de resposta pode ser obtida.

De acordo com o modelo, a superfície de resposta descrita na Figura 15 determina as regiões de máxima extração do óleo essencial de manjeriço.

Gráfico de Superfície; Variável: Rendimento
 2 Fatores, 1 Bloco, 11 Ensaios; MS Residual =,0008776
 DV: Rendimento

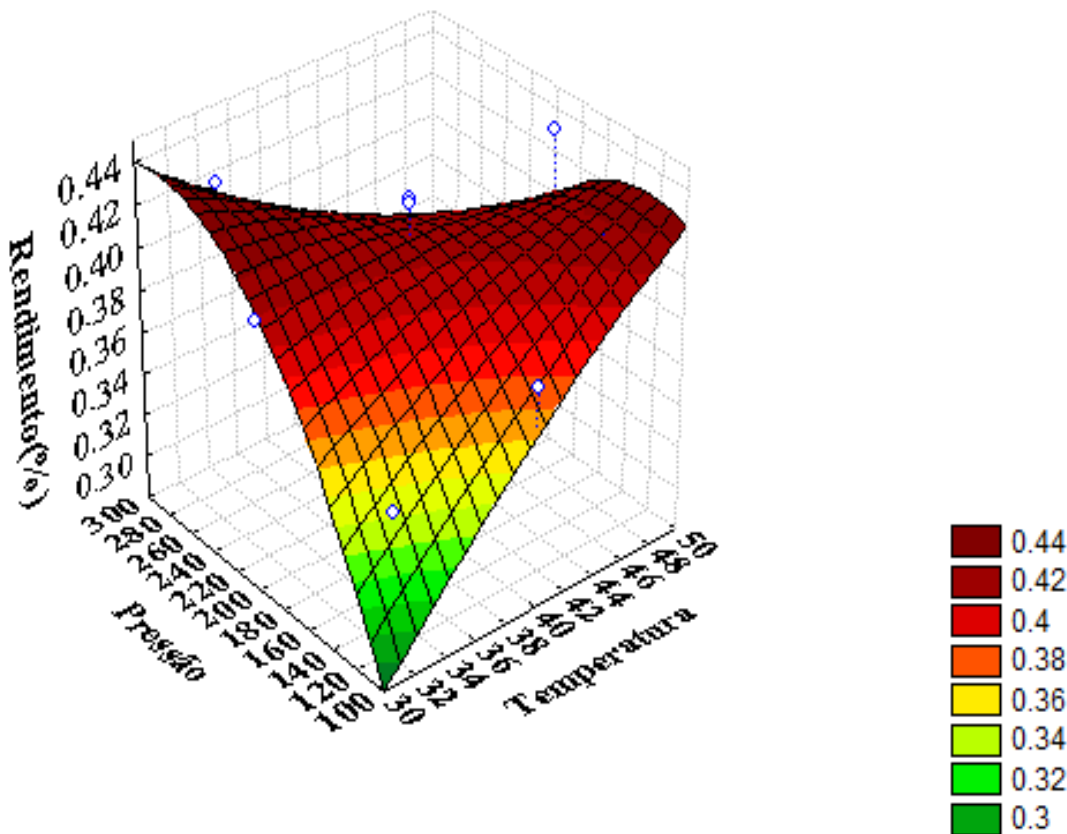


Figura 15 - Superfície de resposta do rendimento da extração com fluido supercrítico do extrato do óleo essencial de manjeriço.

A Figura 15 determina as regiões de temperatura e pressão onde ocorre a máxima extração do óleo essencial de manjeriço. Verificou-se, através da análise, duas regiões de provável otimização. A primeira encontra-se na faixa de temperatura de 30 a 33 °C e pressão de 271 a 300 bar. Isso implica considerar que, sob condições de baixas temperaturas e elevadas pressões consegue-se um bom resultado na extração do óleo essencial de manjeriço; além disso, baixas temperaturas preservam a presença dos compostos aromáticos nos extratos. A segunda região está na faixa de 45 a 50 °C e 100 a 129 bar. Para estas condições térmicas, a densidade do solvente aumenta à medida que a temperatura aumenta, resultando em um aumento no poder de solvatação do CO₂ e conseqüentemente, no maior rendimento global (STAHL *et al.*, 1988).

Verificou-se, nesta análise, que para tornar ótimo o processo de extração e, conseqüentemente, aumentar o rendimento, é necessário combinar baixas temperaturas com elevadas pressões ou elevadas temperaturas com baixas pressões. Menakera *et al.* (2004) mencionaram em seu estudo com manjeriço que as melhores condições de temperatura de extração com CO₂ em estado supercrítico, varia de 40 a 50 °C a 100 bar, como corrobora os resultados encontrados.

Entre as metodologias utilizadas para extrair o óleo de manjeriço, na hidrodestilação obteve-se o menor rendimento (0,26%). Este resultado pode ser atribuído ao grau de polaridade da água que favorece apenas a extração de substâncias polares, e na composição do óleo existem substâncias apolares e de alto peso molecular, não sendo extraídos pela água. A alta temperatura também facilita a dispersão de substâncias voláteis pelo aquecimento, justificando assim o baixo rendimento. Diferentemente do ocorrido na extração convencional, a extração com CO₂-SC teve maior rendimento (0,43%) e este resultado é proveniente da seletividade deste método, nas condições empregadas. Os resultados com Soxhlet forneceram rendimentos da ordem de 2,39%, sendo superior ao encontrado com CO₂-SC. O hexano, usado na extração com Soxhlet, temperatura (69°C) e índice de polaridade (P=2,7), propiciou a extração de maiores quantidades de substâncias apolares e também de outras menos apolares de forma indiscriminada por se tratar de um solvente apolar de peso molecular superior ao do CO₂ utilizado na EFSC, favorecendo ao aumento do rendimento, porém com menor grau de pureza.

Na extração com CO₂-SC, o controle das condições operacionais pode proporcionar um menor rendimento, porém uma maior seletividade em relação aos compostos extraídos. Este comportamento também foi observado por CONDORI (2005), na extração do óleo de *Artemisia annua*, através dos mesmos métodos de extração. Obteve-se um menor rendimento na hidrodestilação (0,49%), 5,27% com CO₂-SC e 7,28% utilizando Soxhlet.

4.2 – Resultado das curvas cinéticas de extração, obtidas na EFSC

Os gráficos a seguir mostram as curvas cinéticas de extração, de acordo com as condições aplicadas para aquisição do óleo essencial de manjeriço, usando metodologia da extração supercrítica, com base nos parâmetros do planejamento experimental DCCR 2², na qual o tempo máximo de extração foi de 4 horas. As Figura a seguir, apresentam as curvas cinéticas de extração obtidas na extração utilizando CO₂ supercrítico, a Figura 16 refere-se as condições de 30 °C e 200 bar.

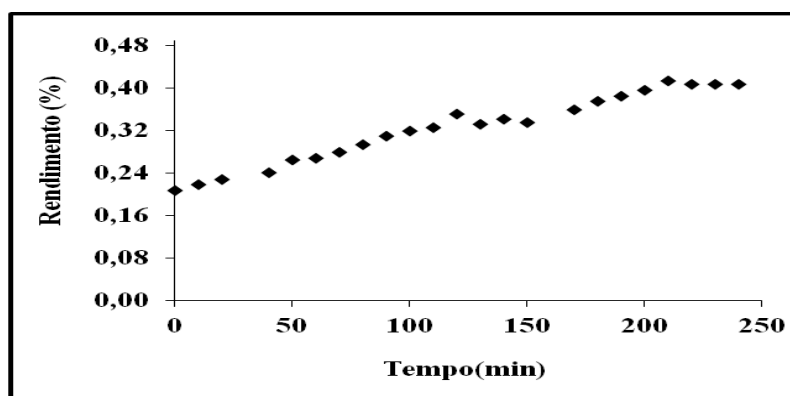


Figura 16 - Curvas cinéticas de extração obtidas com a extração do óleo essencial de manjeriço, através do CO₂ supercrítico em função de 30 °C e 200 bar.

Para condição aplicada de 30 °C de temperatura e 200 bar de pressão, através curva cinética observou-se que ocorreu um aumento constante no rendimento de extração nas duas primeiras horas, após este tempo houve uma pequena redução, mantendo-se constante por alguns minutos e um novo aumento a partir de 170 minutos aproximadamente. Após três horas de extração observou-se que a curva volta a ficar constante iniciando o esgotamento do

material de interesse. A curva mostra que economicamente não é viável utilizando esta condição, continuar extraindo depois de 3 horas. Na Figura 17 está o resultado da curva obtida através da extração que para obtenção do óleo utilizou-se 33 °C temperatura e 129 bar de pressão.

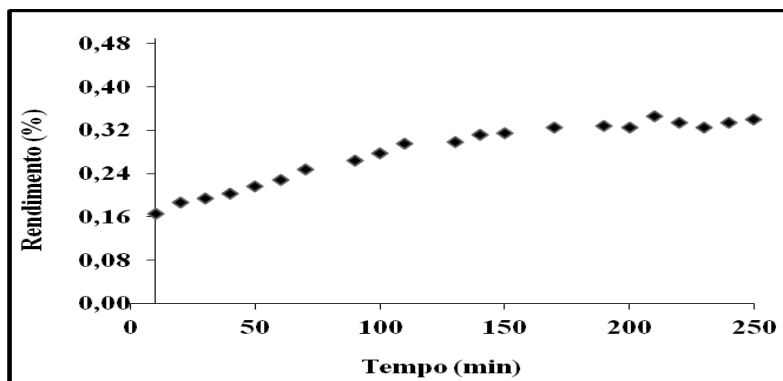


Figura 17 - Curvas cinéticas de extração obtidas com a extração do óleo essencial de manjeriço, através do CO₂ supercrítico em função de 33 °C e 129 bar.

Observou-se que, a baixa condição de pressão e temperatura aplicada neste processo, reduziram o poder de solvência do dióxido de carbono. Isso implica dizer que o solvente proporcionou somente a remoção do óleo existente na camada superficial da matriz vegetal, sendo esta de fácil penetração do solvente. É possível visualizar este fato através da curva devido o comportamento que a mesma apresentou durante os 150 minutos iniciais, após este período de extração praticamente o comportamento da curva manteve-se inalterado até o final do tempo máximo de 240 minutos de extração.

A Figura 18 apresenta os resultados que foram obtidos após usar para extração do óleo essencial as condições de extração de 33 °C temperatura e 271 bar de pressão.

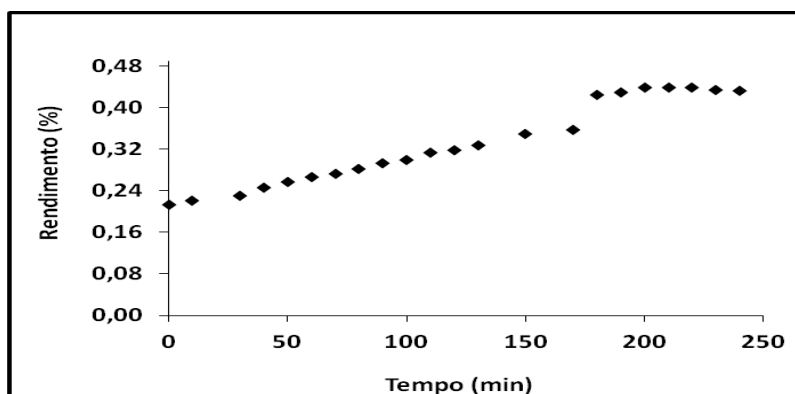


Figura 18 - Curvas cinéticas de extração obtidas com a extração do óleo essencial de manjeriço, através do CO₂ supercrítico em função de 33 °C e 271 bar de pressão.

Observou-se que o conjunto de elevada pressão e baixa condição de temperatura, contribuíram para que a curva apresentasse essa inclinação. Comportamento semelhante aos

apresentados no gráficos anteriores nas duas horas iniciais de trabalho. Verificou-se que após 180 minutos ocorreu um aumento na quantidade de óleo extraído, a alta pressão e baixa temperatura aplicada proporcionaram o aumento no poder do solvente.

As curvas das Figuras 19, 20 e 21 foram obtidas através da condição de 40 °C e 200 bar de temperatura e pressão respectivamente, sendo estas três condições as repetições do planejamento experimental.

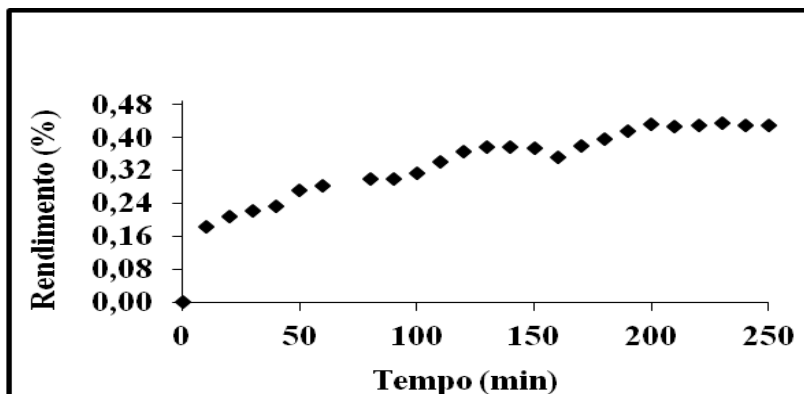


Figura 19 - Curvas cinéticas de extração obtidas com a extração do óleo essencial de manjeriço, através do CO₂ supercrítico 40 °C e 200 bar (1).

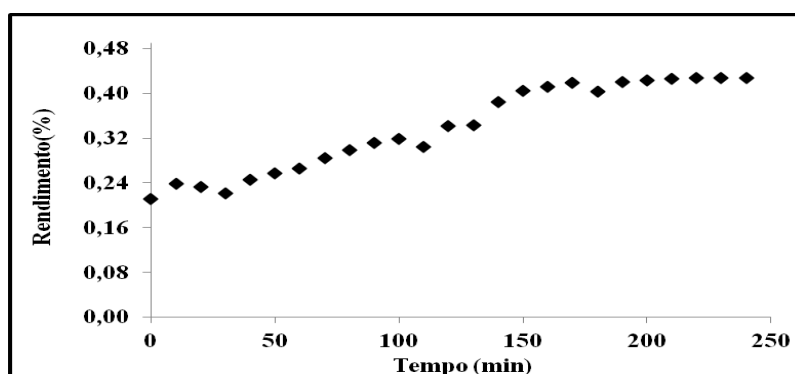


Figura 20 - Curvas cinéticas de extração obtidas com a extração do óleo essencial de manjeriço, através do CO₂ supercrítico 40 °C e 200 bar (2).

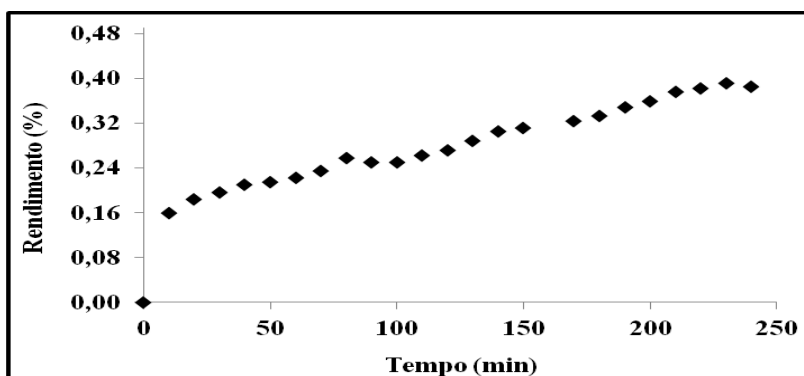


Figura 21 - Curvas cinéticas de extração obtidas com a extração do óleo essencial de manjeriço, através do CO₂ supercrítico 40 °C e 200 bar (3).

As curva das Figuras 19 e 20, apresentaram comportamento semelhantes, o mesmo ocorreu quanto ao rendimento, no qual os valores foram próximos justificando a mesma

condição empregada. De acordo com a curva formada, esta condição de operação facilitou o poder de solvência do CO₂.

A curva da Figura 21 apresentou comportamento semelhante aos das 19 e 20, porém o rendimento foi menor, o que não era esperado sendo a matéria-prima e a condição de extração as mesmas, observou-se que na primeira hora tem-se uma taxa de extração constante, mas no decorrer do tempo, a inclinação da curva é menor em relação as outras duas. A resistência a transferência de massa, pode ter sido provocada por fatores como umidade, as partículas estarem maiores dificultando a transferência e ainda uma queda na pressão dentro do extrator devido formação de caminhos preferenciais dentro do leito. A Figura 22 apresenta a curva de extração da condição de 40 °C de temperatura e 300 bar de pressão.

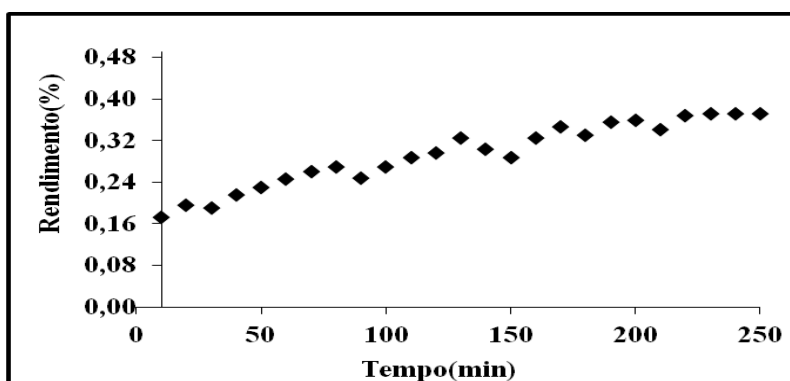


Figura 22 - Curvas cinéticas de extração obtidas com a extração do óleo essencial de manjeriço, através do CO₂ supercrítico em função de 40 °C e 300 bar.

Observou-se que para esta condição aplicada o rendimento não foi o esperado, pois quanto mais elevada a pressão, maior o poder do solvente e menor a seletividade, porém pela inclinação da curva acredita-se que o aumento da pressão não aumentou a densidade do solvente, o que provocou baixa na taxa de transferência de massa, resultando em um menor rendimento, a curva mostra que a partir de 170 minutos de extração rendimento foi praticamente constante. Na Figura 23 está a curva cinética de extração para os parâmetros operacionais de 47 °C e 129 bar.

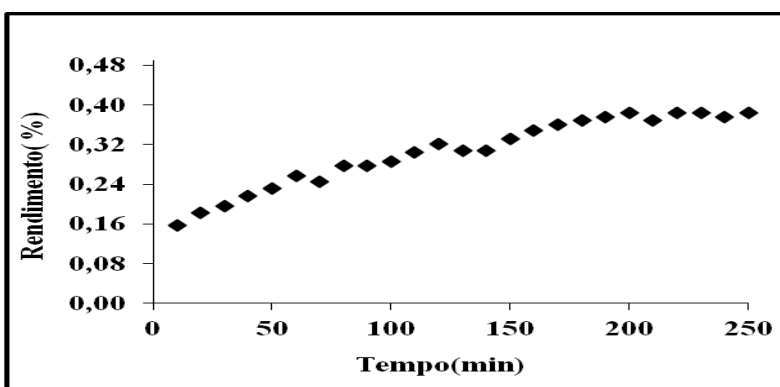


Figura 23 - Curvas cinéticas de extração obtidas com a extração do óleo essencial de manjeriço, através do CO₂ supercrítico em função de 129 bar e 47 °C.

Através da curva, verificou-se que houve um aumento constante até os 190 minutos de extração e que a curva tornou-se constante após esse tempo.

No gráfico da Figura 24 consta a curva de extração da condição aplicada no processo para aquisição do óleo em função de 47 °C e 271 bar.

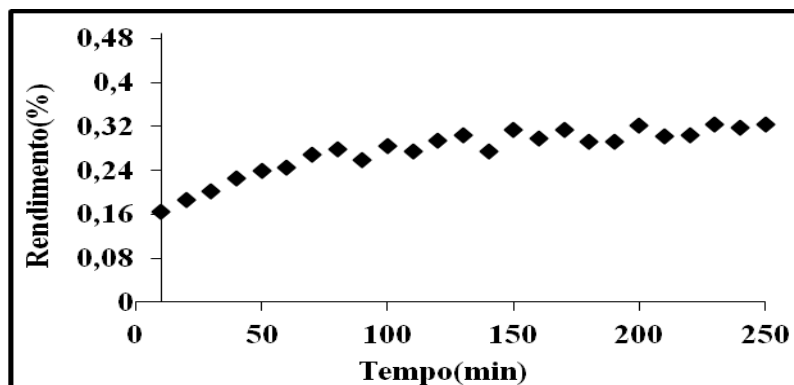


Figura 24 - Curvas cinéticas de extração obtidas com a extração do óleo essencial de manjeriço, através do CO₂ supercrítico em função de 47 °C e 271 bar.

Observou-se que para esta condição de operacional, o pico de extração ocorreu até as duas primeiras horas, após este tempo, a temperatura elevada pode ter acarretado efeito contrário a uma pressão contante causou redução na densidade do CO₂ provocando diminuição na solvência do mesmo. A curva faz uma inclinação até 120 minutos aproximadamente e após esse tempo manteve-se constante.

Consta na Figura 25 a curva cinética de extração da condição de 50 °C de temperatura e 200 bar de pressão.

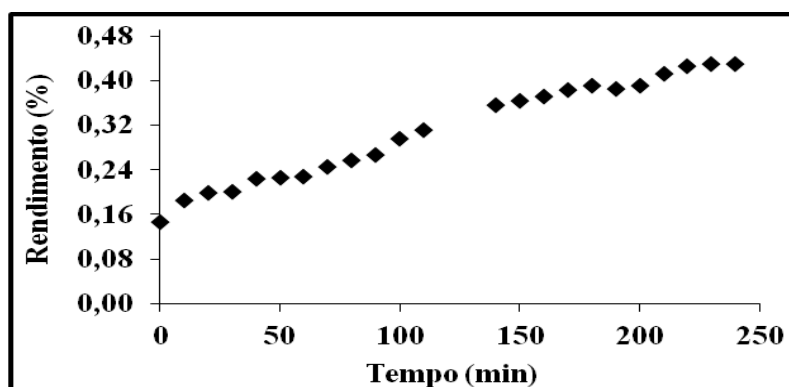


Figura 25 - Curvas cinéticas de extração obtidas com a extração do óleo essencial de manjeriço, através do CO₂ supercrítico em função de 50 °C e 200 bar.

Ao contrário do comportamento observado na curva anterior, este gráfico mostra que o efeito da temperatura pode ter aumentado a pressão de vapor dos compostos extraídos provocando um aumento na solubilidade do solvente. O que acarretou na elevação por aproximadamente 3 horas e meia de extração.

A Figura 26 representa a curva cinética obtida através aplicação das condições de processo utilizando 40 °C e 100 bar.

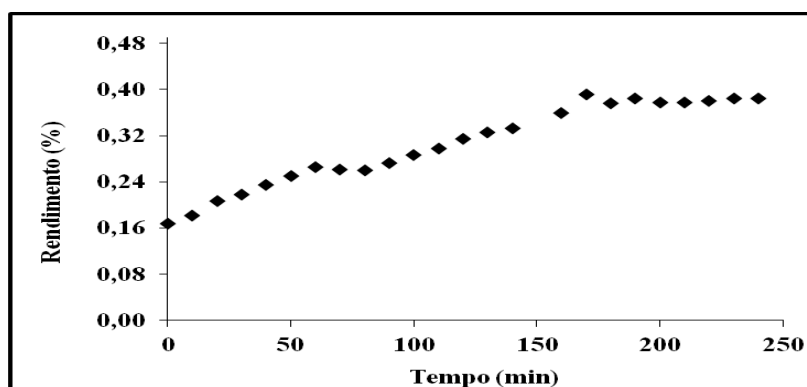


Figura 26 - Curvas cinéticas de extração obtidas com a extração do óleo essencial de manjeriço, através do CO₂ supercrítico em função de 40 °C e 100 bar.

Observou-se com esta curva que o comportamento foi semelhante ao obtido com a extração utilizado 47 °C e 129 bar, sendo que para esta condição o tempo de esgotamento foi mais rápido, iniciando-se aos 160 minutos aproximadamente.

O intuito da utilização do planejamento experimental foi otimizar o processo, para evitar custos com a extração supercrítica. Com as análises das curvas, observou-se que o tempo de extração para obtenção do óleo de manjeriço, utilizando a matriz seca, pode ser de três horas e não quatro, pois em três horas de extração para todas as condições testadas as curvas ficaram constantes a partir de 180 minutos de extração. Quisper Condori (2005), através da EFSC utilizando dióxido de carbono em três horas, extraiu o óleo essencial de *Artemisia annua L*, que é uma espécie de manjeriço.

De acordo com Brunner (1994), a curva de extração não depende apenas de um único fator, mas sim de parâmetros operacionais e de todos os fenômenos presentes durante o processo no interior do leito fixo.

4.3 – Análise das isotermas de rendimento global

No processo de extração supercrítica, através do rendimento acumulado em função do tempo de extração, tem-se as curvas que são apresentadas na Figura 27, sendo estas as melhores condições de extração do óleo de manjeriço.

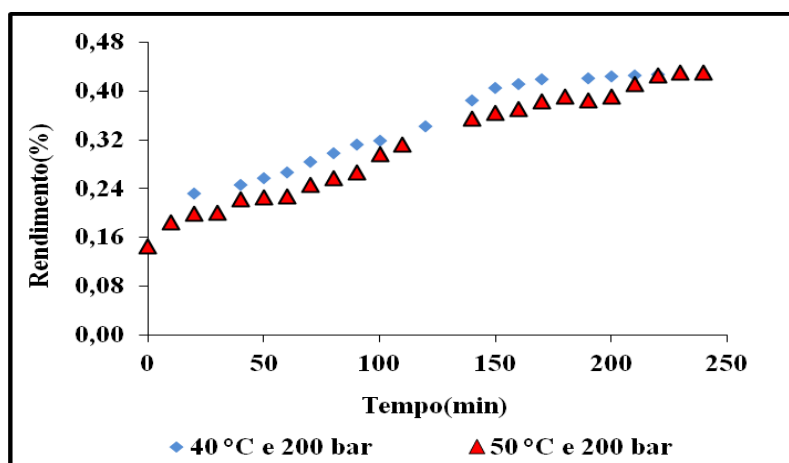


Figura 27- Curva isobárica de rendimento do extrato de manjeriço, utilizando CO₂ supercrítico.

O gráfico da Figura 28 apresenta a diferença de comportamento entre as curvas obtidas, fixando a pressão a 200 bar e elevando a temperatura de 40 °C para 50 °C, Com o aumento da temperatura, a pressão constante, reduziu-se o poder de solvência do CO₂, em virtude da diminuição da densidade, explicando a diferença no rendimento, Esse resultado já era esperado, apesar de que em alguns casos, o aumento da temperatura proporciona o aumento da pressão de vapor do soluto e, conseqüentemente, do rendimento da extração (QUISPER CONDORI, 2005).

Na Figura 28, constam as curvas provenientes do maior e menor rendimento de extração do óleo.

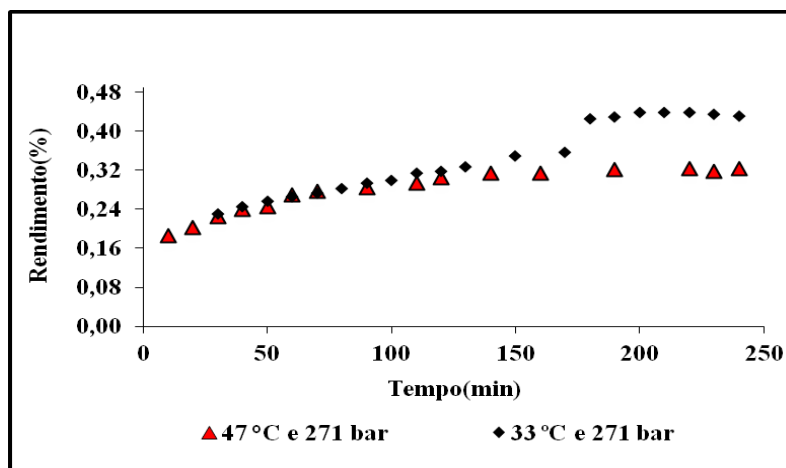


Figura 28 - Curva isobárica de rendimento do extrato de manjeriço, utilizando CO₂ supercrítico.

O maior rendimento de óleo extraído foi obtido na condição de 33 °C e 271 bar. O aumento no rendimento observado na curva, no intervalo de 170 min, é consequência da extração de compostos de alto peso molecular, facilitada pela elevada pressão operacional empregada, Isso foi evidenciado pela coloração do óleo extraído que, nesse caso, apresentou-se esverdeado.

Pourmortazavi & Hajimirsadeghi (2007), em seu estudo de revisão, afirmaram que a utilização de pressões e temperaturas mais elevadas favorecem o aumento no rendimento global na extração dos óleos essenciais, mas ocorre também a co-extração de ceras.

O maior rendimento atribuído a essa condição explica-se pela alta pressão e baixa temperatura aplicada, o que favorece o aumento do poder de solvência do CO₂ e, por conseguinte, uma maior quantidade de óleo extraído. Fixando a pressão e aumentando a temperatura para 47 °C ocorreu à redução no rendimento. Esta queda está relacionada com a diminuição na densidade do CO₂ e, conseqüentemente, na solubilidade do extrato de manjeriço. A Figura 29 apresenta a diferença de comportamento entre os resultados obtidos, fixando a temperatura em 40 °C e variando a pressão.

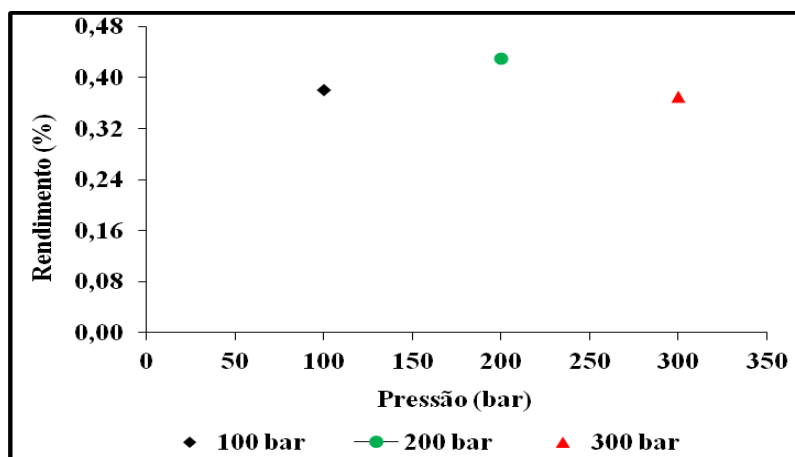


Figura 29 - Curva de rendimento em função da variação de pressão aplicada.

Verifica-se que o efeito da pressão foi significativo para estas condições, ocorreu um rendimento acentuado com a elevação da pressão de 100 para 200 bar, porém o mesmo não foi evidenciado quando utilizou-se a condição de 300 bar, ocorrendo uma queda no rendimento da extração. Isso mostra que a utilização pressões acima de 200 bar na temperatura de 40 °C, não são ideais para obter óleo de manjeriço. Esse resultado não era esperado, geralmente elevadas pressões obte-se maior rendimento devido a extração de outras substâncias além do óleo essencial.

4.4 - Resultados da modelagem matemática

Na Tabela 7 têm-se os valores dos parâmetros do modelo que foram ajustados às curvas globais de extração, assim como o desvio relativo médio para todos os experimentos.

Tabela 7 - Parâmetros do modelo proposto por Esquivel et al. (1999) e percentuais dos desvios médios obtidos com a modelagem.

Condições de Processo	<i>elim</i>	B	DRM (%)
30 °C - 200 bar	0,403	22,114	0,105
33 °C - 129 bar	0,346	21,677	0,062
33 °C - 271 bar	0,623	102,930	0,063
40 °C - 100 bar	0,408	32,666	0,046
40 °C - 200 bar (1)	0,507	49,070	0,043
40 °C - 200 bar (2)	0,453	31,302	0,136
40 °C - 200 bar (3)	0,402	36,946	0,100
40 °C - 300 bar	0,377	24,519	0,052
47 °C - 129 bar	0,465	51,477	0,033
47 °C - 271 bar	0,3507	21,43	0,021
50 °C - 200 bar	0,6078	108,29	0,044

Observa-se que o modelo representou bem os dados experimentais de extração, devido aos baixos valores dos desvios relativos. A 271 bar, o valor do *elim* diminuiu com o aumento da temperatura, devido ao próprio comportamento experimental do rendimento. Já a

200 bar, o valor do parâmetro aumentou com a elevação da temperatura, fortalecendo o comportamento do aumento da pressão de vapor do soluto a 50 °C.

Verificou-se que o modelo empírico que não possui parâmetros com significado físico de alta relevância, forneceu valores de *elim* um pouco diferentes para cada operação de processo, na verdade o que se esperava, eram valores de *elim* mais próximos entre si uma vez que este depende unicamente da matriz que foi utilizada para a extração do óleo.

Avaliando os desvios observa-se que os mesmos foram baixos; com isso, pode ser dito que a quantidade de óleo presente na matriz é proeminente aos dados experimentais e que devido aos baixos valores dos desvios relativos, o modelo foi bem representado, resultado diferente ao encontrado por Silva *et al.* (2008), que na EFSC do óleo essencial de Macadâmia (*macadâmia integrifolia*), encontraram em seu estudo valores elevados para os desvios.

As curvas de extração da Figura 30 correspondem aos que apresentam a comparação com os dados experimentais e o ajuste do modelo empírico de Esquível *et al.* (1999), para a extração realizada com CO₂ supercrítico. As outras Figuras comparativas entre as curvas geradas pelo aplicativo do Software STATISTICA 7.0, de acordo com as operações, encontram-se disponíveis nos anexos.

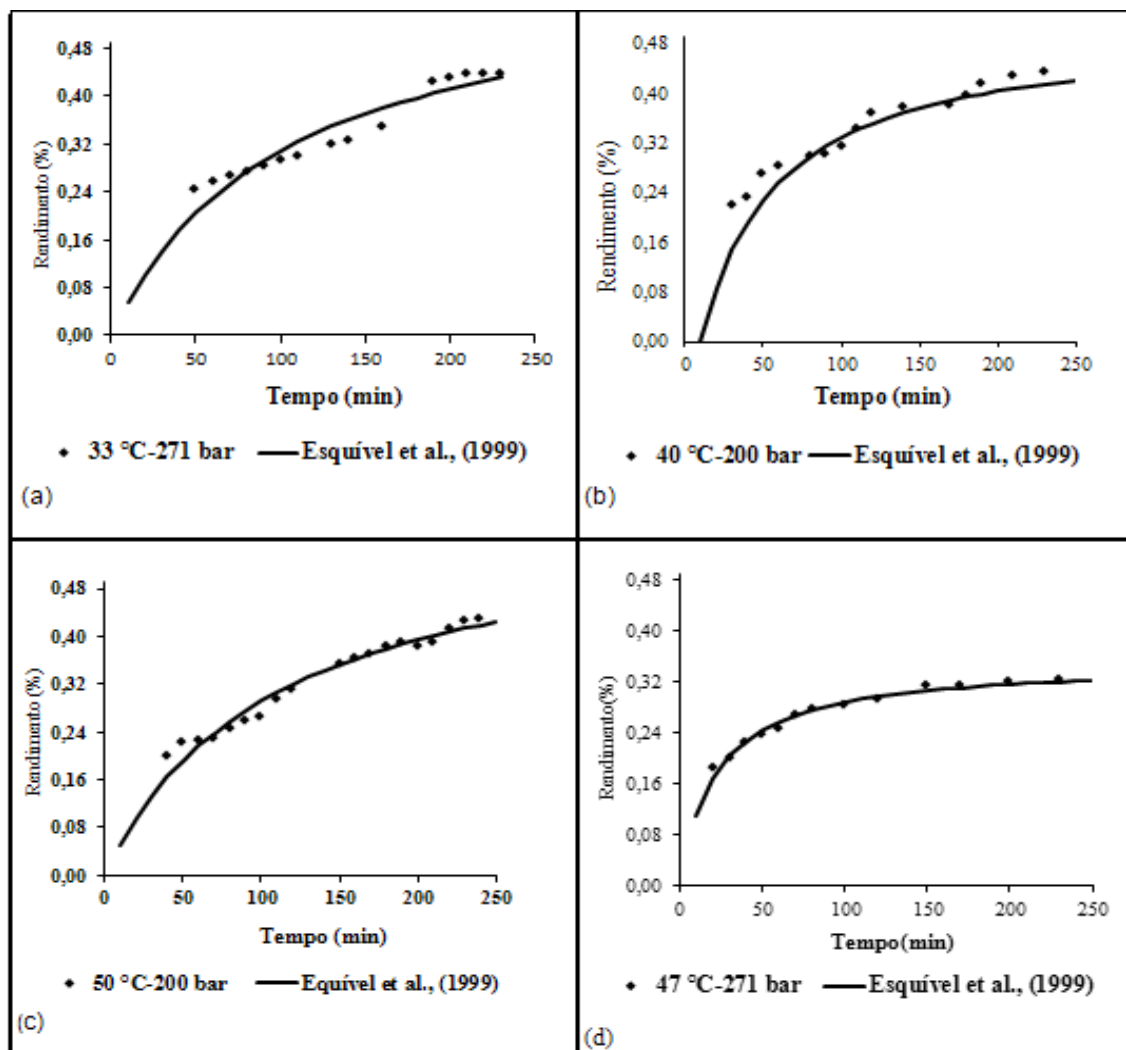


Figura 30 - Comparação dos dados experimentais com a curva ajustada ao modelo de Esquível *et al.* (1999).

As curvas de extração apresentam as comparações dos dados experimentais e o ajuste do modelo empírico de ESQUIVEL *et al.* (1999), para as extrações realizadas a 33 °C e 271 bar, 40 °C e 200 bar, 50 °C e 200 bar e 47 °C e 271 bar. Observa-se que o modelo matemático aplicado neste estudo representou bem os dados experimentais de acordo com a configuração das curvas. O modelo proposto por ESQUIVEL *et al.* (1999), mesmo não necessitando dos parâmetros físicos como granulometria, volume do leito, porosidade, velocidade, altura do leito empacotado, mostrou que o percentual máximo de óleo presente na matriz está de acordo com os dados experimentais. CARVALHO JUNIOR *et al.* (2005), na obtenção de extrato de alecrim, usou vários modelos e verificou que o modelo de ESQUIVEL *et al.* (1999) também apresentou bom comportamento para todas as condições operacionais.

4.5 - Resultados dos rendimentos das metodologias aplicadas

Entre as metodologias utilizadas para extrair o óleo de manjeriço, a Tabela 8 apresenta o melhor rendimento em cada método aplicado.

Tabela 8 - Rendimento de óleo essencial de manjeriço extraído por diferentes metodologias.

Metodologia	Temperatura (°C)	Pressão (bar)	Rendimento (%)
SC-CO ₂	33	271	0,43
Soxhlet	69	-----	2,39
Hidrodestilação	100	-----	0,26

Comparando todos os rendimentos obtidos pelas tecnologias estudadas, na hidrodestilação obteve o menor rendimento (0,26 %), já os resultados com Soxhlet (hexano como solvente), forneceram rendimentos da ordem de 2,39 %, sendo superior ao encontrado com CO₂-SC (0,43 %). Esta última ocorrência pode ser explicada pelo fato do CO₂ em estado supercrítico (pela baixa polaridade) ser menos efetivo para a extração de compostos com maior polaridade em fontes naturais.

O rendimento obtido na extração com fluido supercrítico foi superior ao encontrado na hidrodestilação, Isso pode ser explicado pela alta temperatura da hidrodestilação, que pode provocar degradação nos compostos voláteis, causando a diminuição no rendimento, Além dos compostos voláteis, a baixa eficiência também pode ser atrelada à composição do óleo, rico em substâncias apolares e de alto peso molecular, não sendo extraídos pela água.

O tipo de solvente usado na extração com Soxhlet pode propiciar a extração de substâncias apolares ou polares, favorecendo ao aumento ou diminuição do rendimento.

Na extração com CO₂-SC, o controle das condições operacionais pode proporcionar um menor rendimento, porém uma maior seletividade em relação aos compostos extraídos. Este comportamento também foi observado por Quispe Condori (2005), na extração do óleo de *Artemisia annua*, através dos mesmos métodos de extração, Como resultado, obteve-se um menor rendimento na hidrodestilação (0,49%), 5,27% com CO₂-SC e 7,28% utilizando Soxhlet, Menakera *et al.* (2004), usando CO₂-SC, em 1 hora de extração, encontrou rendimento inferior ao encontrado neste estudo, sendo extraído 0,0044 g de óleo essencial.

Utilizando o tempo de extração semelhante ao deste estudo, cerca de 4,5 h, Luchesi *et al*, (2004) extraíram por hidrodestilação 0,028% de óleo essencial de manjeriço, quantidade também inferior ao obtido neste estudo.

4.6 - Resultado das análises de atividade antioxidante

A fim de analisar a atividade antioxidante do óleo de manjeriço utilizou-se as metodologias de FRAP e DPPH. As técnicas aplicadas confirmaram bem, como descrito na literatura, que a espécie de *Ocimum basilicum* analisada apresenta atividade antioxidante. Sendo assim, a Tabela 9 apresenta os resultados para as diferentes condições de processos aplicadas na EFSC, os resultados e médias encontradas com estas análises.

Tabela 9 - Atividade antioxidante do extrato de manjeriço em função das condições de operação (temperatura e pressão), através dos métodos de DPPH e FRAP.

DPPH (%)		FRAP ($\mu\text{M}/\mu\text{L}$)	
47-129	90,37	33-129	19,09
50-200	86,57	33-271	18,98
30-200	86,32	47-129	15,48
40-200	86,23	30-200	13,88
33-271	85,22	40-200	13,56
47-271	82,18	40-100	12,75
33-129	79,65	40-300	12,68
40-100	79,05	47-271	10,96
40-300	75,25	50-200	10,41
Média	83,43	Média	14,20

Os resultados obtidos nas análises de DPPH mostraram que todas as condições de processo empregadas para a extração do óleo essencial de manjeriço, usando $\text{CO}_2\text{-SC}$ possuem atividade antioxidante, com média de 83,43 %. Estes dados comprovaram que na espécie estudada existe uma concentração significativa de substâncias que atuam na atividade antioxidante, entre eles compostos fenólicos. O método e as condições de processo para a aquisição do extrato embora tenha reduzido a atividade antioxidante, comparando a melhor condição com a de menor atividade (47 °C/129 bar e 40 °C/300 bar), mesmo reduzindo observa-se que a interferência ainda está dentro dos parâmetros, pois o menor percentual (75,25 %) é superior a 50% que é o mínimo de atividade para ser considerado composto antioxidante.

Analisando as médias encontradas utilizando a metodologia de FRAP, observa-se que as condições de maior atividade antioxidante foram às mesmas detectadas pelo método de DPPH, comprovando o potencial antioxidante do óleo extraído.

Para verificar se as diferentes condições operacionais de temperatura e pressão empregadas no processo de extração com fluido supercrítico haviam interferido na atividade antioxidante do extrato de manjeriço, aplicou-se o Test Skott-Knott ($P < 0,05$), para os resultados das análises de FRAP e DPPH.

Através dos resultados analisou-se quais foram as perdas obtidas em consequência das condições operacionais utilizadas e se as mesmas interferiram na atividade antioxidante dos extratos. As Tabelas 10 e 11 apresentam os resultados nas diferentes atividades antioxidantes,

condições de processos aplicadas na extração supercrítica e os resultados das médias encontradas nas análises feitas utilizando o programa Sisvar 5.1.

Tabela 10 - Atividade antioxidante do extrato de manjeriço em função das condições de operação (temperatura e pressão), através do método de DPPH.

Tratamentos	Condições	Médias
T3	40 °C-300 bar	0,146 ^A
T1	40 °C-100 bar	0,124 ^A
T2	33 °C-129 bar	0,120 ^A
T9	47 °C-271 bar	0,105 ^A
T8	33 °C-271 bar	0,087 ^B
T5	40 °C-200 bar	0,081 ^B
T4	30 °C-200 bar	0,081 ^B
T7	50 °C-200 bar	0,079 ^B
T6	47 °C-129 bar	0,057 ^B

Médias de tratamento com letras diferentes diferem significativamente entre si pelo teste de Skott-Knott ($P < 0,05$).

Diante do exposto, evidenciou-se que a utilização de diferentes condições de processo causou redução da atividade antioxidante em 44% das amostras.

Estatisticamente não há diferença entre o percentual de atividade antioxidante para os tratamentos T3, T1, T2 e T9, que apresentaram menores valores de atividade, porém há diferença deles para os demais. Os resultados também mostraram que a pressão não influenciou na extração, quando associada a temperatura de 40° C à 100 e 300 bar. Portanto, não se faz necessário o uso de altas pressões associadas à temperatura de 40°C.

Observa-se que entre as médias das condições de maiores atividades antioxidantes, não há diferença estatística entre os valores obtidos nas condições de 33°C e 271 bar para 50° C e 200 bar, assim como 30 °C e 300 para 47 °C e 129 bar. Tal informação é de suma importância na escolha do melhor parâmetro de extração do óleo essencial de manjeriço, em se tratando de uma matéria-prima com substâncias voláteis na composição, além da economia de custo no processo como um todo.

A Tabela 14 mostra que utilizando a metodologia de FRAP, apenas duas amostras entre as condições operacionais aplicadas, apresentaram estatisticamente diferença na atividade antioxidante de acordo com o Teste de Skott-Knott ($P < 0,05$).

Tabela 11 - Atividade antioxidante do extrato de manjeriço em função das condições de operação (temperatura e pressão), através do método de FRAP.

Tratamentos	Condições	Médias
T7	50 °C-200 bar	0,937 ^A
T1	40 °C-100 bar	0,932 ^A
T9	47 °C-271 bar	0,749 ^B
T5	40 °C-200 bar	0,665 ^B
T8	33 °C-271 bar	0,649 ^B
T6	47 °C-129 bar	0,606 ^B
T4	30 °C-200 bar	0,603 ^B
T3	40 °C-300 bar	0,513 ^B
T2	33 °C-129 bar	0,484 ^B

Médias de tratamento com letras diferentes diferem significativamente entre si pelo teste de Skott-Knott ($P < 0,05$),

Utilizando o método de FRAP, a redução na atividade antioxidante entre as amostras foi menor; apenas 22 % apresentaram diferença estatística, que correspondem aos tratamentos T7 e T1, que não se diferem entre si, porém estatisticamente apresentaram menor atividade antioxidante em relação as outras condições operacionais aplicadas.

Kwee & Niemeyer (2011) avaliaram a atividade antioxidante de 15 espécies de *Ocimum basilicum*, através dos métodos de FRAP e DPPH e encontraram, em algumas espécies, variações na capacidade, sendo estas de 0,28 g/ μm /100 g a 11,5 μm /100g. Lagouri & Nisteroplou (2009), através da metodologia de DPPH encontraram 0,49 % de atividade antioxidante para o manjeriço, sendo este valor inferior ao encontrado neste estudo, que foi de 83 %.

Babovic *et al.*(2010) analisaram os extratos de plantas pertencente a família das Lamiaceais (alecrim (*R. officinalis*), sálvia (*S. officinalis*), tomilho (*T. vulgaris*) e hissopo (*officinalis* Hyssop), obtidos através de EFSC e verificaram a atividade antioxidante utilizando a metodologia de DPPH e encontraram média de 71 % de atividade antioxidante para os extratos na concentração de 2,0 mg/mL.

4.7 – Análises de cromatografia gasosa com espectrometria de massas de óleo essencial de manjeriço da espécie folha miúda

A fim de compreender os objetivos propostos para este estudo, foram realizadas análises, no intuito de identificar a composição do óleo essencial de manjeriço da folha miúda de acordo com o processo operacinal aplicado na extração supercrítica. As análises quantificaram os compostos presentes no óleo essencial de manjeriço (*Ocimum basilicum* L).

Na Tabela 12, bem como em outras que seguem na sequência, estão os principais compostos obtidos na extração utilizando CO₂ Supercrítico para todas as condições usadas de acordo com as análises de cromatograma do detector de massas.

Tabela 12 - Composição química do composto do *Ocimum basilicum*, utilizando Extração Supercrítica, aplicando 33°C e 271 bar.

Peak	R.T*	Composto	% total
1	18.02	Chavibetol (m-Eugenol)	3.04
2	28.681	Eugenol	3.34
3	31.47	Metileugenol	13.13
4	32.841	Ciclohexeno, 1 - (1,1-dimetiletoxi)	2.77
5	34.008	Cis- β -Farneseno	2.62
6	39.688	Ciclopropanocarboxílico 2,2,3,3-Tetrametil, éster octilo	2.34
7	40.71	Acido oxálico. isobutyl hexadecil ester	5.44
8	42.356	O ciclo-hexano, metanol, Alfa-metil-.alpha	2.54
9	42.56	Bis 2-etil-hexil metilfosfonato	13.04
10	43.37	2.4.4.6.6.8.8-heptametil-1-noneno	7.33
11	49.21	Ácido sulfuroso. ciclohexilmetil tridecil ester	10.94

*RT- Tempo de retenção em minuto

Observou-se nesta condição, que os compostos de maior prevalência foram metileugenol e Bis 2-etil-hexil metilfosfonato, com 13,13 % e 13,04 % respectivamente. Estudando a composição química e capacidade antioxidante do óleo essencial de agliconas de manjeriço (*Ocimum basilicum* L.) Politeo & Milos (2007), encontraram 3,1% de metileugenol, quantidade bem inferior ao encontrada nesta análise.

Na Figura 31 consta a imagem dos fragmentos característicos dos compostos encontrados nesta amostra.

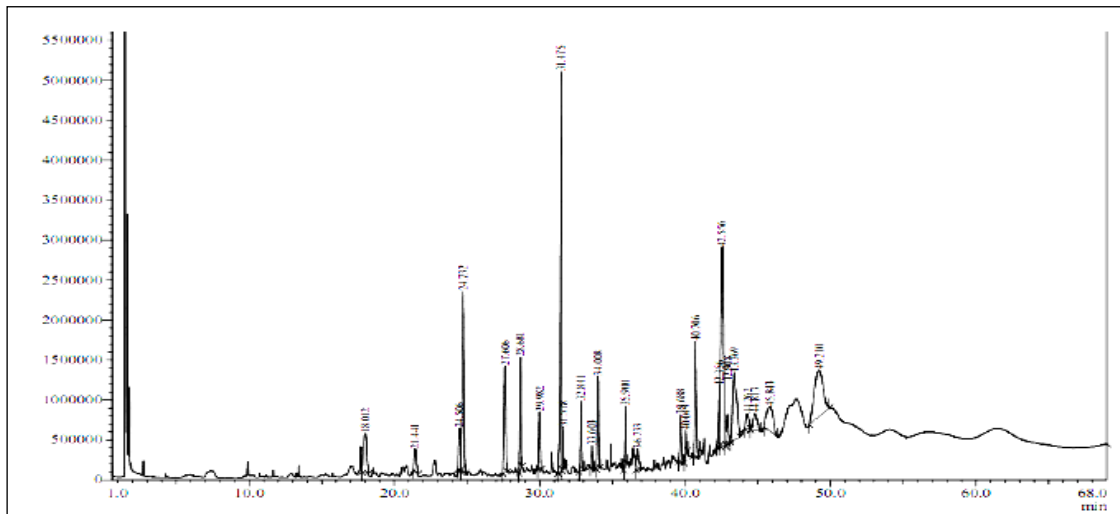


Figura 31 – GC/MS para o cromatograma do óleo essencial de manjeriço obtido por EFSC em 271 bar e 33 °C.

A Tabela 13 descreve que o número de compostos extraídos que comparados ao apresentado na Tabela 15, em quantidade foi inferior, porém com percentual de extração mais elevado para o composto majoritário.

Tabela 13 - Composição química do composto do *Ocinum basilicum*, utilizando Extração Supercrítica, aplicando 47°C e 271 bar.

Peak	R.T*	Composto	% total
1	9.944	Eucalipitol	0,21
1	28.653	Eugenol	8.52
2	31.42	Metileugenol	63.26
3	32.805	Biciclo [3.1.1] hept-2-eno, 2,6-dimetil-6-(4-metil-3-pentenil)...	3.38
4	34.001	Cis-β-Farneseno	7.18

*RT- Tempo de retenção em minuto

Para esta condição operacional houve uma redução dos compostos extraídos, mas o de maior concentração continuou sendo o metileugenol, eugenol e Cis-β-Farneseno com percentual de 63,26 %, 8,52 % e 7,18 % respectivamente.

Usando extração por hidrodestilação Zamfirache *et al.* (2011) em pesquisa sobre a composição química do óleo volátil de algumas espécies pertencentes ao género *Ocimum*, obtiveram com extrato de manjeriço 0,58 % de β- Farneseno enquanto que neste estudo com CO₂ supercrítico obteve-se 7,18 % do mesmo composto.

Na Figura 32 consta a imagem dos fragmentos característicos dos compostos encontrados nesta amostra.

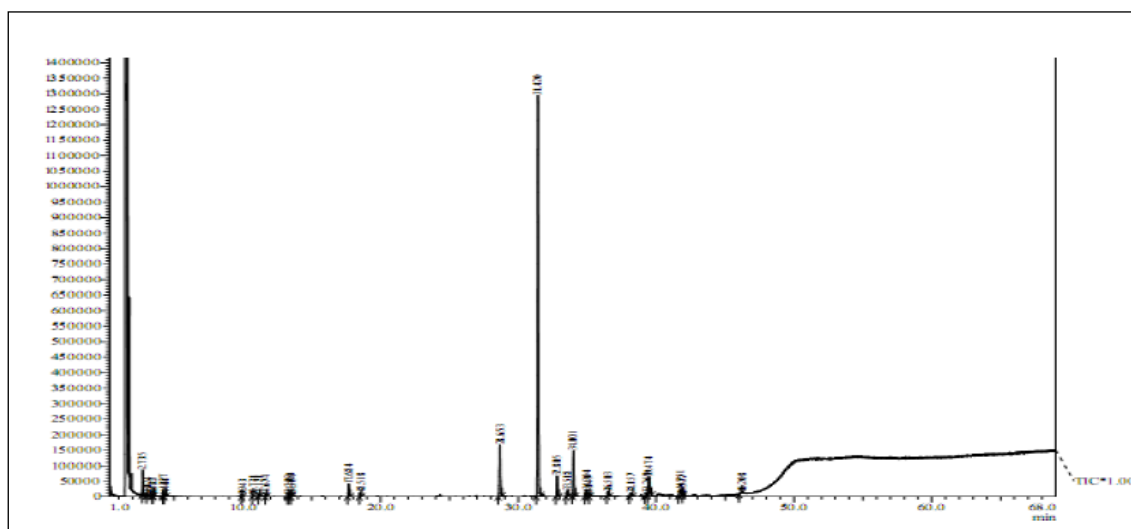


Figura 32 – GC/MS para o cromatograma do óleo essencial de manjeriço obtido por EFSC em 271 bar e 47 °C.

Observou-se com a Tabela 14 que as modificações na condição de processo não alteraram a extração do composto majoritário, além disso, favoreceu o aumento da extração.

Tabela 15 - Composição química do composto do *Ocinum basilicum*, utilizando Extração Supercrítica, aplicando 33°C e 129 bar.

Peak	R.T*	Composto	% total
1	17.862	(-)-4-Terpineol	1.559
2	28.917	Eugenol	9.354
3	31.704	Metileugenol	76.702
4	33.123	trans- α -bergamoteno	1.753
5	34.330	Cis- β -Farneseno	3.105
6	39.623	Isolongifolene didesidro-ciclo	1.085
7	42.089	Biciclo [4.4.0] dec-1en. 2-isopropil-5-metil-9-metileno	1.566

*RT- Tempo de retenção em minuto

Verificou-se que com este resultado que houve um aumento de 45% na extração do eugenol, aumentando para 9,35%, mas ainda é predominante a concentração de metileugenol 76,70%, sendo assim é possível dizer que baixas condições de processo, (temperatura e pressão) favorecem a extração deste composto.

Zamfirache *et al.* (2011), em seu estudo analisaram a taxa de voláteis no óleo essencial de *Ocinum basilicum* e obtiveram um percentual de eugenol de 19,22% superior ao encontrado nesta condição, porém Cis- β -Farneseno e metileugenol, os valores foram inferiores ao encontrado neste estudo, sendo 0,58% e 0,76% respectivamente.

Verifica-se na Figura 34 a imagem dos fragmentos característicos dos compostos encontrados nesta amostra.

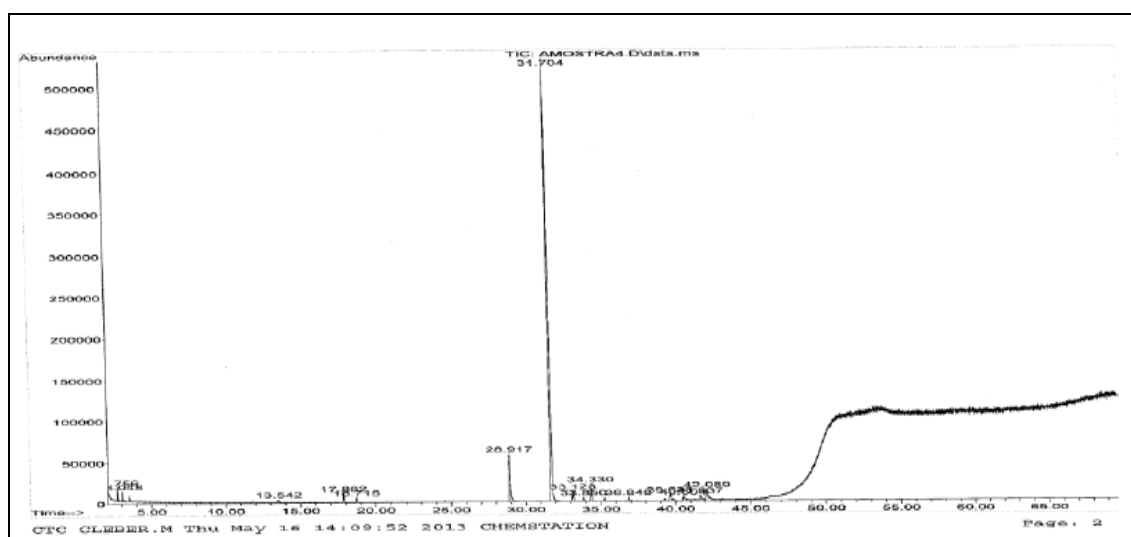


Figura 34 – GC/MS para o cromatograma do óleo essencial de manjeriço obtido por EFSC em 129 bar e 33 °C.

A Tabela 16 corresponde aos componentes que foram obtidos utilizando 47°C temperatura e 129 bar de pressão, sequenciando as diferentes condições de processo que foram utilizadas para otimização de extração do óleo de manjeriço.

Tabela 16 - Composição química do composto do *Ocimum basilicum*, utilizando Extração Supercrítica, aplicando 47°C e 129 bar.

Peak	R.T*	Composto	% total
1	17.817	L- α -Terpineol	2.220
2	28.877	Eugenol	11.479
3	31.652	Metileugenol	54.042
4	33.043	trans- α -bergamoteno	3.872
5	33.752	Humuleno	1.070
6	34.239	Cis- β -Farneseno	9.085
7	35.131	Germacreno D	1.659
8	41.869	Trans-Cadinol	1.057

*RT- Tempo de retenção em minuto

Observa-se que esta condição de extração desfavoreceu a sequência de rendimento que vinha ocorrendo no composto metileugenol reduzindo em 42% o composto ativo, sendo o valor obtido nesta extração de 54,04%, porém favoreceu ao aumento do eugenol que passou de 9,35% para 11,48%. Sendo também significativa a presença do composto Cis- β -Farneseno 9,08%.

Dambolena et al (2010), estudaram a composição de óleos essenciais de *Ocimum basilicum L.* e *Ocimum gratissimum L.*, do Quênia, e seus efeitos inibitórios sobre o crescimento e produção de fumonisinas por *Fusarium verticillioides*, obtiveram no *O.gratissimum* 0,7% de trans- α -bergamoteno, enquanto que na amostra deste estudo obteve-se 3,87% . Ainda neste mesmo estudo eles encontraram 12,0% de L-4- Terpineol, na amostra de *O. basilicum*, bem acima do encontrado nesta trabalho que foi apenas 2,22%.

Observa-se na Figura 35 a imagem dos fragmentos característicos dos compostos encontrados nesta amostra.

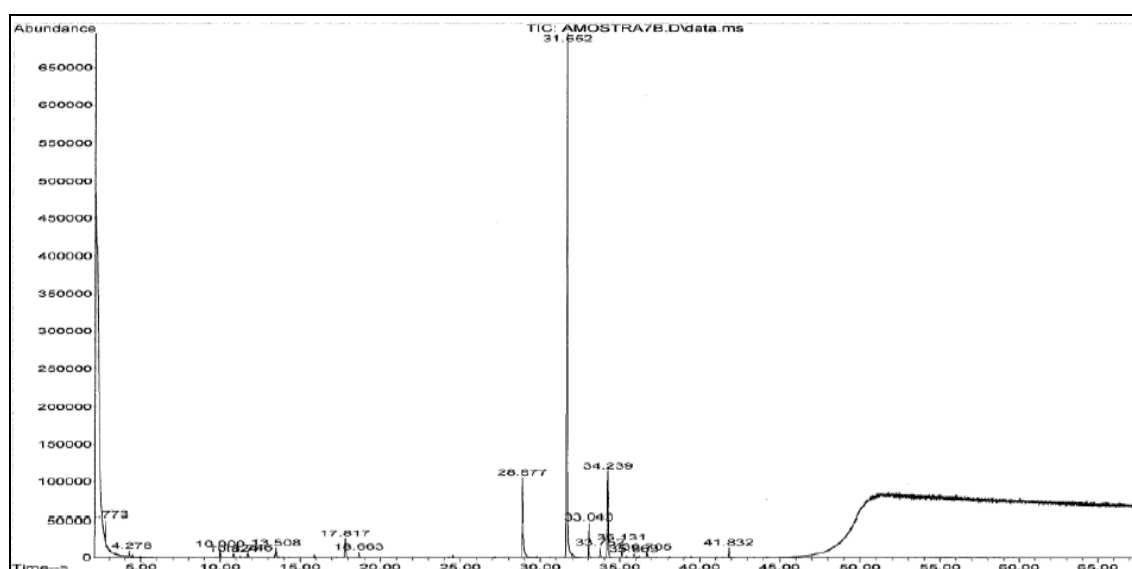


Figura 35 – GC/MS para o cromatograma do óleo essencial de manjeriço obtido por EFSC em 129 bar e 47 °C.

Com objetivo de analisar e aplicar, Ogendo *et al.* (2008) verificaram a bioatividade do óleo de *Ocimum gratissimum L.* e dois de seus constituintes contra cinco pragas atacando os

produtos alimentares armazenados e assim como nesta pesquisa também obtiveram uma amostra de óleo com um percentual de metileugenol superior aos outros compostos presente.

A Tabela 17 mostra a prevalência dos principais compostos adquirido na extração supercrítica.

Tabela 17 - Composição química do composto do *Ocimum basilicum*, utilizando Extração Supercrítica, aplicando 30°C e 200 bar.

Peak	R.T*	Composto	% total
1	10.000	Eucalipitol	1.038
2	17.822	(-)-4-Terpineol	1.815
3	28.894	Eugenol	6.825
4	31.647	Metileugenol	73.042
5	33.043	1.3.6.10-Dodecatetraene, 3,7,11-trimetil-, (Z, E)	3.384
6	33.752	Humuleno	0.7965
7	34.239	Cis- β -Farneseno	7.965
8	35.137	cis-Muuro-la-4 (14) 5-dieno	0.903
9	41.832	Trans-Cadinol	1.111

*RT- Tempo de retenção em minuto

Assim como nas extrações anteriores os compostos mais extraídos foram metileugenol, eugenol e Cis- β -Farneseno (6,82%, 73,04% e 7,96%) respectivamente, porém em termo de rendimento observou-se uma redução na extração do eugenol e do Cis- β -Farneseno comparando ao rendimento anterior. Isso implica dizer que aumentar a temperatura, reduz a eficácia de extração para estes dois compostos. Para verificar parâmetros como o desta análise Carvalho Filho *et al.* (2006), investigaram a influência do período e tempo de colheita, temperatura de secagem em óleo essencial de manjerição (*Ocimum basilicum* L.) e descobriram que a temperatura de secagem interferia no rendimento de vários compostos entre eles o eugenol que reduzia de 15,06 % para 9,88 % quando aumentava a temperatura usada de 40°C para 60°.

Observa-se na Figura 36 a imagem dos fragmentos característicos dos compostos encontrados nesta amostra.

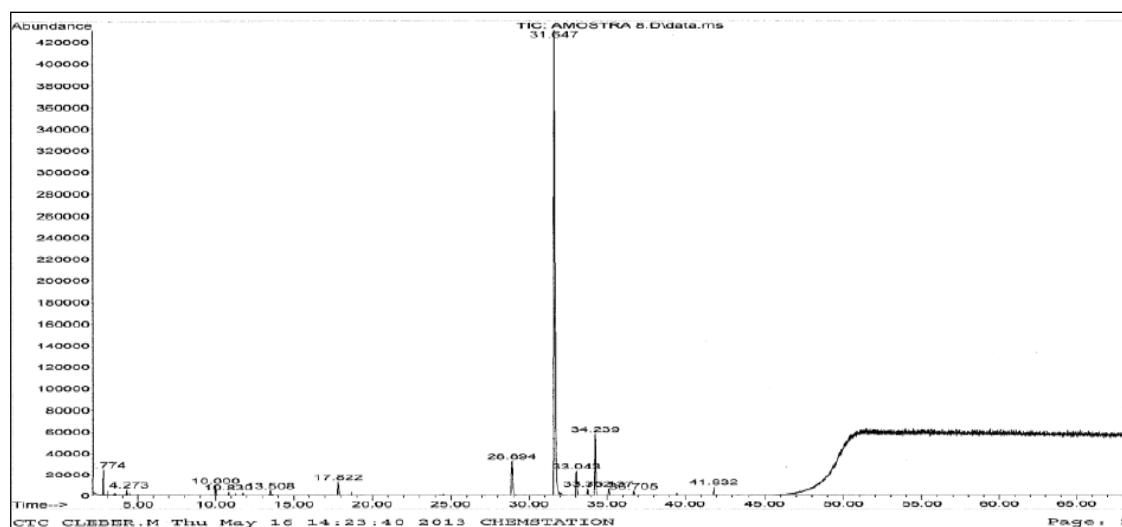


Figura 36 – GC/MS para o cromatograma do óleo essencial de manjerição obtido por EFSC em 200 bar e 30 °C.

A Tabela 18 assim como a 19 e 20, vem mostrar os resultados da cromatografia com o compotamento e as substâncias extraídas nas condições de 40°C e 200 bar feitas em triplicata.

Tabela 18 - Composição química do composto do *Ocinum basilicum*, utilizando Extração Supercrítica, aplicando 40°C e 200 bar (1).

Peak	R.T*	Composto	% total
1	17.822	(-)-4-Terpineol	1.541
2	18.675	L- α -Terpineol	0.403
3	28.889	Eugenol	6.811
4	31.647	Metileugenol	84.834
5	33.048	cis. Trans- α -farneseno	1.516
6	34.239	Cis- β -Farneseno	2.345
7	41.832	Trans-Cadinol	1.187

*RT- Tempo de retenção em minuto

Diferente do que foi obtido na extração utilizando a mesma pressão, mas com menor temperatura (30°C) a substância ativa do Cis- β -Farneseno reduziu consideradamente aumentando a temperatura para (40°C) passando de 7,96% para 2,34%, enquanto que o eugenol manteve-se sem alteração no percentual extraído. Já o metileugenol teve um aumento expressivo de 73,04% para 84,83%. Em cordância com o encontrado no trabalho realizado por Silva *et al.* (2004), que analisaram três espécie de *Ocinum*, através destilação a vapor, microondas e também do CO₂ Supercrítico, obtiveram o eugenol como um do composto majoritário na amostra de *Ocimum gratissimum*, no entanto o percentual que eles extraíram foi acima do encontrado neste trabalho 73,1%. Na Figura 37 é possível observar o pico que evidencia a prevalência do metileugenol nas três condições aplicadas no ponto central.

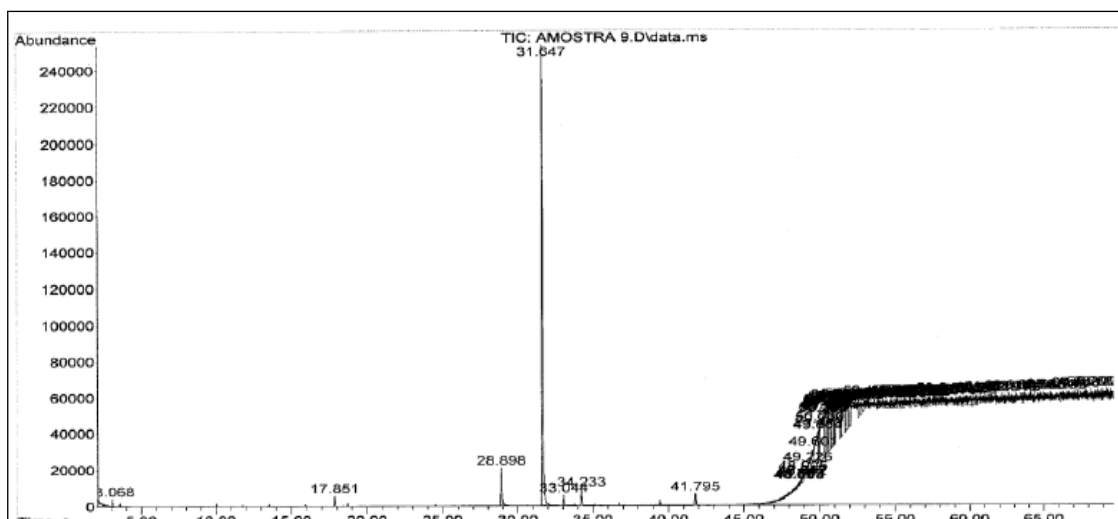


Figura 37 – GC/MS para o cromatograma do óleo essencial de manjeriço obtido por EFSC em 200 bar e 40 °C (1).

A fim de confirmar quais os compostos extraídos, a Tabela 19 mostra o que foi obtido nas condições operacionais estabelecidas para as repetições do ponto central.

Tabela 19 - Composição química do composto do *Ocinum basilicum*, utilizando Extração Supercrítica, aplicando 40°C e 200 bar (2).

Peak	R.T*	Composto	% total
1	17.822	(-)-4-Terpineol	1.541
2	18.675	L- α -Terpineol	0.403
3	28.889	Eugenol	6.811
4	31.647	Metileugenol	84.834
5	33.048	cis. Trans- α -farneseno	1.516
6	34.239	Cis- β -Farneseno	2.345
7	41.832	Trans-Cadinol	1.187

*RT- Tempo de retenção em minuto

De acordo com o resultado da duplicata ficam constatado que para esta condição de processo o que se pode obter são estes compostos prevalecendo os mesmos que no primeiro resultado, assim como a quantidade obtida.

A Figura 38 mostra a imagem dos fragmentos característicos dos compostos encontrados nesta amostra.

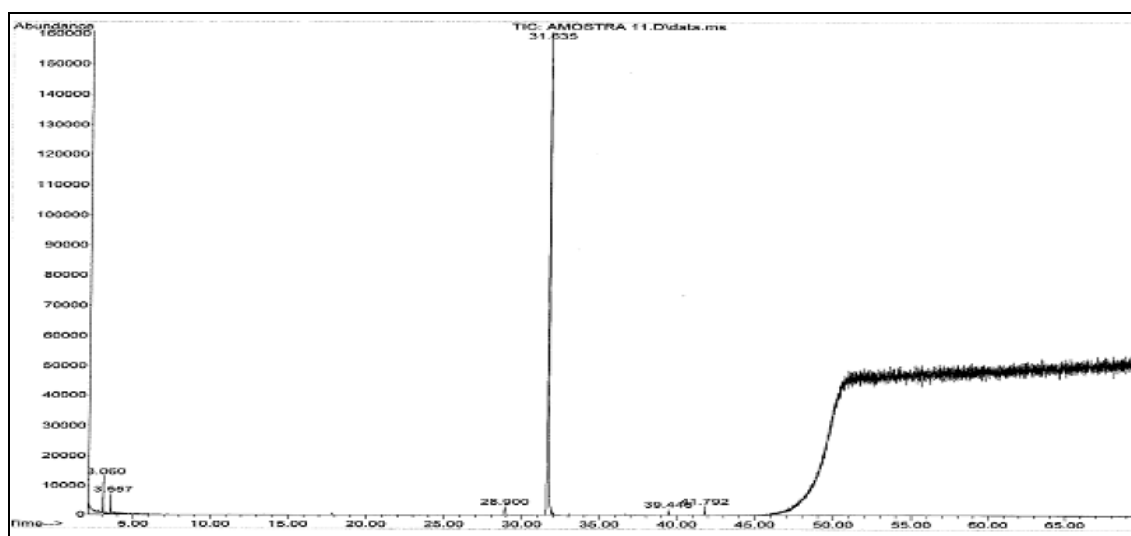


Figura 38 – GC/MS para o cromatograma do óleo essencial de manjeriço obtido por EFSC em 200 bar e 40 °C (2).

A Tabela 20 apresenta o último resultado obtido na análise de cromatografia para as condições empregadas com as repetições do ponto central.

Tabela 20 - Composição química do composto do *Ocinum basilicum*, utilizando Extração Supercrítica, aplicando 40°C e 200 bar (3).

Peak	R.T*	Composto	% total
1	3.557	Eucalipitol	1.525
2	28.900	Eugenol	1.459
3	31.635	Metileugenol	92.933
4	41.792	(-)-Epi-Bicyclo Sesquiphellandrene	1.034

*RT- Tempo de retenção em minuto

Pode ser observado com esta última análise, que entre os poucos compostos extraídos 92,93% foi o metileugenol e de eugenol 1,46%. Embora esta seja a terceira repetição do ponto central ela teve um comportamento de extração diferente do que foi alcançado com as outras amostras. Uma provável explicação para este comportamento é que esta amostra pode ter absorvido umidade e isso tenha interferido na extração dos compostos nela existente.

Leal *et al* (2006), obtiveram o extrato de alfavaca por extração com CO₂ supercrítico e o extrato analisado por cromatografia gasosa com detector de ionização de chama, apresentou eugenol e β-selineno como componentes majoritários. O teor de eugenol variou de 35 a 60%, valor superior ao obtido com esta condição de processo que extraiu apenas 1,46%.

Representando a última ilustração dos fragmentos característicos dos compostos encontrados nesta amostra, a Figura 39 mostra o cromatograma com o pico de maior incidência na repetição do ponto central.

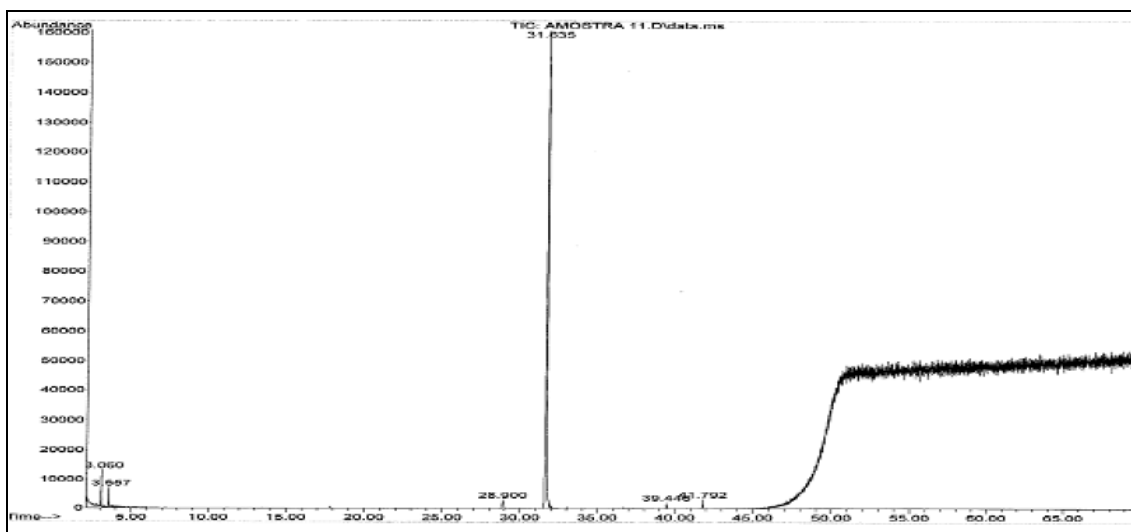


Figura 39 – GC/MS para o cromatograma do óleo essencial de manjeriço obtido por EFSC em 200 bar e 40 °C (3).

A Tabela 21 apresenta a penúltima condição que foi estabelecida pelo planejamento experimental para extração do óleo essencial de manjeriço.

Tabela 21 - Composição química do composto do *Ocinum basilicum*, utilizando Extração Supercrítica, aplicando 50°C e 200 bar.

Peak	R.T*	Composto	% total
1	10.000	Eucalipitol	0.409
2	13.525	Linalol	0.573
3	17.822	(-)-4-Terpineol	1.979
4	18.669	L- α -Terpineol	0.467
5	28.886	Eugenol	9.531
6	31.635	Metileugenol	70.174
7	33.037	trans- α -bergamoteno	3.664
8	33.758	Humuleno	0.933
9	34.227	Cis- β -Farneseno	8.145
10	35.114	Germacreno D	1.072
11	36.705	cis-Muuro-la-4 (14) 5-dieno	0.481
12	41.792	()-Epi-Bicyclo Sesquiphellandrene	1.005

*RT- Tempo de retenção em minuto

Aumentando a temperatura de extração e fixando a pressão observa-se que elevou-se novamente o número de compostos extraídos.

Utilizando a *Salvia officinalis* L que pertence à mesma família do manjeriço (Aleksovski & Sovová (2007), extraíram o óleo através da extração supercrítica com CO₂ e usando a mesma temperatura de extração, obtiveram 0,071 % de L- α -Terpineol e 0,128 % de (-)-4-Terpineol, valores bem abaixo do extraído na matriz de manjeriço 0,467 % e 1,979 % de acordo com este estudo.

Observa-se na Figura 40 a imagem dos fragmentos característicos dos compostos encontrados nesta amostra.

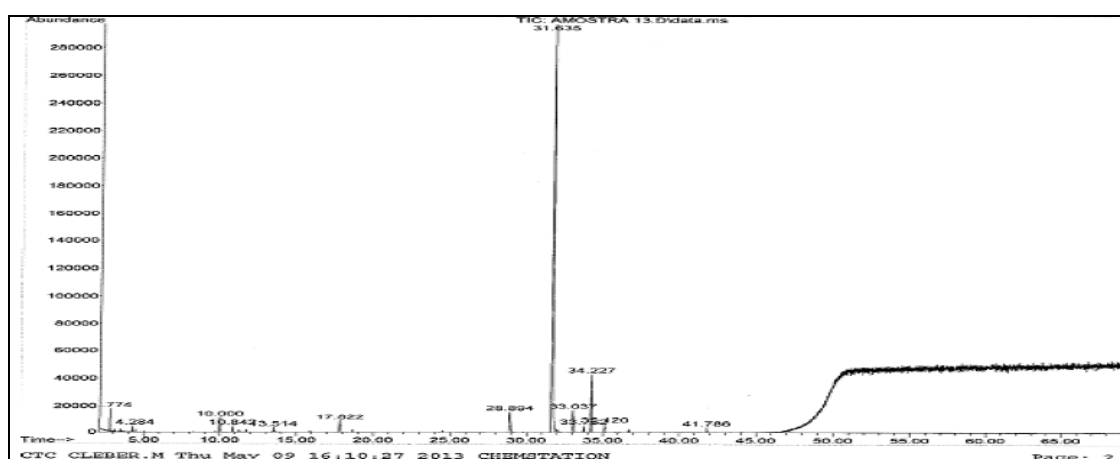


Figura 40 – GC/MS para o cromatograma do óleo essencial de manjeriço obtido por EFSC em 200 bar e 50 °C.

Como pode ser observado a Tabela 22 apresenta os parâmetros encontrados na cromatografia, para a condição de 40 °C e 300 bar de pressão.

Tabela 22 - Composição química do composto do *Ocimum basilicum*, utilizando Extração Supercrítica, aplicando 40°C e 300 bar.

Peak	R.T*	Composto	% total
1	10.000	Eucalipitol	1.680
2	10.842	1,6-Octadien-3-ol,3,7-dimetil-1,2-aminobenzoato	0.648
3	13.514	Linalol	0.583
4	17.822	(-)-4-Terpineol	1.756
5	28.894	Eugenol	9.021
6	31.635	Metileugenol	73.651
7	33.037	trans- α -bergamoteno	3.650
8	33.752	Humuleno	0.868
9	34.227	Cis- β -Farneseno	9.021
10	35.120	Germacreno D	1.145

*RT- Tempo de retenção em minuto

De acordo com os dados da última condição utilizada na aquisição do óleo essencial obtido da matriz de manjeriço, observou-se que o composto majoritário metileugenol manteve-se na faixa de 70 % sendo o mais extraído, e também o segundo componente, eugenol mantendo se em torno de 9 %. Já o terceiro composto, Cis- β -Farneseno teve um aumento de 9 %. Silva *et al.* (2004), analisaram a composição de óleos essenciais a partir de três espécies *Ocimum* obtido por destilação a vapor e de microondas, extração com CO₂ supercrítico, encontram no *O. selloi* utilizando CO₂ supercrítico 21,20 % de linalol, quantidade superior ao encontrado neste estudo na espécie de *O.basilicum* 0,58%.

Carvalho Filho *et al.* (2006), verificaram que o linalol (68%) é o principal composto presente nas folhas e inflorescências de manjeriço, diferente do encontrado nesta análise 0,583%, mas eles também mencionam que a temperatura usada na secagem pode reduzir teor composto na amostra.

Na Figura 41 observa-se os fragmentos característicos dos compostos encontrados nesta amostra.

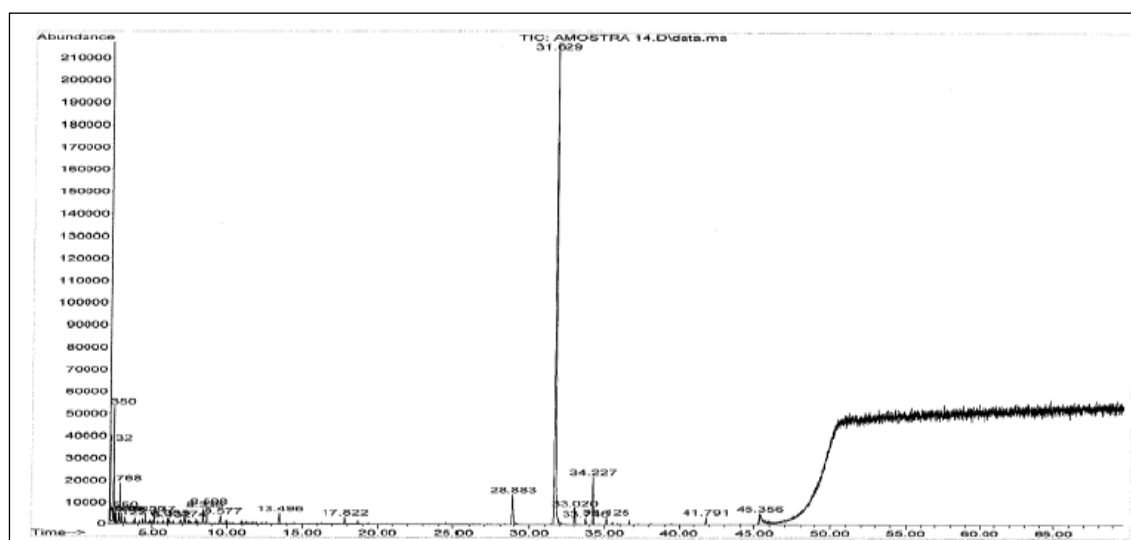


Figura 41 – GC/MS para o cromatograma do óleo essencial de manjeriço obtido por EFSC em 300 bar e 40 °C.

4.8 – Composição química dos compostos do óleo essencial de manjeriço existente nas amostras obtidos em três metodologias de extração

A fim de facilitar a compreensão dos resultados e visualizar melhor comparando quais foram os principais compostos em contrado nas análises cromatográfica, a Tabela 23 apresenta os compostos identificados e quantificados neste trabalho.

Tabela 23 - Composição química (composto majoritários) presentes nos extratos de *Ocimum basilicum* L. obtidos com CO₂ Supercritico, soxhlet e hidrodestilação.

COMPOSTO	EFSC (%)	SOX (%)	HID (%)	
Eucalipitol	40 °C - 300 bar	1,68	0,69	-
2.4-Nonadieno	-	-	1,14	-
L- α -Terpineol	47 °C - 129 bar	2,22	-	0,44
(-)-4-Terpineol	50 °C - 200 bar	1,98	0,74	0,74
Linalol	50 °C - 200 bar	0,58	1,38	-
Eugenol	47 °C - 129 bar	11,48	4,86	10,19
Metileugenol	40 °C -200 bar	92,93	60,00	74,84
trans- α -bergamoteno	47 °C -129 bar	3,87	1,17	-
Humuleno	47 °C -129 bar	1,07	0,36	0,62
Cis- β -Farneseno	47 °C -129 bar	9,08	6,22	4,35
Germacreno D	47 °C -129 bar	1,66	0,69	0,60
cis. Trans- α -farneseno	40 °C -100 bar	2,96	-	1,34
Biciclo [4.4.0] dec-1en. 2-isopropil-5-metil-9-metileno	33 °C -129 bar	1,57	0,28	2,73
Isocariofileno	40 °C -100 bar	5,97	-	-
Trans-Cadinol	40 °C -200 bar	1,19	-	-
bis (2-etilexil) metilfosfonato	33 °C -271 bar	13,04	-	-
2.4.4.6.6.8.8-heptametil-1-noneno	33 °C -271 bar	7,33	-	-
Ácido sulfuroso. ciclohexilmetil tridecil ester	33 °C -271 bar	10,94	-	-
Acido oxálico. isobutil hexadecil ester	33 °C -271 bar	5,44	-	-
Chavibetol (m-Eugenol)	33 °C -271 bar	3,04	-	-

EFSC = Extração com fluido supercritico ; SOX= Soxhet; HID= Hidrodestilação

Entre os principais compostos obtidos através da hidrodestilação observa-se que, assim como nos outros métodos utilizados durante pesquisa, eugenol e metileugenol foram os de maior concentração. Chalchat & Özcan (2008), trabalharam investigando a composição do óleo essencial comparativo de flores, folhas e caules de manjeriço (*Ocimum basilicum* L.) utilizado como ervas, através da extração com hidrodestilação encontraram apenas 0,18 % de metileugenol, 0,47% de Germacrene D, valores abaixo do encontrados nesta análise, 74,84 % e 0.60 % respectivamente.

Com objetivo de avaliar a qualidade de óleos essenciais isolada de algumas plantas aromáticas no microondas e através da hidrodestilação, entre elas *O.basilicum* Figueredo *et al* (2012), encontraram valores inferiores aos deste estudo exceto para Germacrene D que foi o mesmo percentual 0,60 %. Polites & Milos (2007), encontram 5,9 % de eugenol. Cassel *et al* (2009), fazendo uma análise da modelagem de destilação a vapor para processo de extração do óleo

essencial de manjeriço, não conseguiram extrair a substância cis-β-Farneseno, enquanto que neste estudo foram obtido 4,35 % no óleo.

Observou-se na coluna da extração pelo método de soxhlet, assim como nas outros métodos aplicados, o composto de maior extração também foi o metileugenol, 60,00%, cis-β-Farneseno, 6,22 % e eugenol com 4,86 %. Corroborando para o resultado deste estudo Soares *et al.* (2007) analisaram a influência da temperatura e velocidade do ar na secagem de manjeriço (*Ocimum basilicum L.*) com relação aos teores de óleos essenciais e de linalol, constataram que altas temperaturas podem interferir no rendimento de extração do linalol, justificando assim o baixo rendimento deste composto (1,380 %) com esta amostra.

Verificou-se que as três metodologias utilizadas, ficou comprovada a existência em maior concentração para as substâncias do metileugenol, eugenol e cis-β-Farneseno no óleo de manjeriço. O método mais eficiente para obter estas substâncias foi à extração com fluido supercrítico, pois através deste método extraíu-se o maior percentual, seguido da hidrodestilação que também mostrou ser eficiente na obtenção destes compostos.

4.8.1 - Composição química dos principais compostos com atividade antioxidante identificados no óleo de manjeriço (*Ocimum basilicum*).

Os principais compostos responsáveis pela ação antioxidante identificados nas análises cromatográficas estão apresentados na Figura 25.

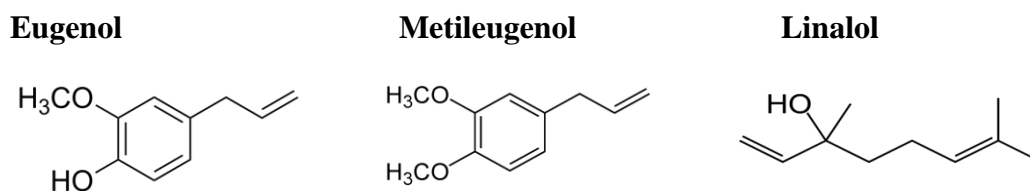


Figura 42 - Estrutura dos compostos químicos com provável atividade antioxidante do óleo de manjeriço.

Estes três compostos foram os principais antioxidantes identificados no óleo de manjeriço de acordo com a literatura.

O eugenol apresenta a fórmula $C_{10}H_{12}O_2$, e que uma das propriedades atribuídas a ele é amenizar a dor proveniente de cáries dentária. Ele tem como princípio ativo substância que atua como bloqueador da condução nervosa que em baixas concentrações, é capaz de reduzir a transmissão sináptica neuromuscular. Pesquisas mostram que o eugenol inibe a ciclooxigenase e a síntese das prostaglandinas favorecendo o efeito analgésico e anestésico (SANSON, 2009). O eugenol é o principal antioxidante encontrado no manjeriço estudado, porém o metileugenol é um composto estruturalmente semelhante eugenol que é conhecido por atuar também como um antioxidante. Choi *et al.* (2010) comprovaram que o metileugenol reduz lesão isquêmica cerebral pela supressão de dano oxidativo e inflamatório.

Hussain *et al.* (2008) avaliaram a composição química, a atividade antioxidante e antimicrobiana de óleos essenciais de manjeriço (*Ocimum basilicum*) e variações sazonais, constataram que o linalol possui boa atividade antioxidante. Da mesma forma Lee *et al.* (2005) na identificação dos componentes voláteis e suas propriedades antioxidantes em folhas de manjeriço (*Ocimum basilicum L.*) e de tomilho (*Thymus vulgaris L.*), exibiram diferentes quantidades de atividade antioxidante. Em particular, o eugenol, encontrado em manjeriço e tomilho, exibiram atividade antioxidante potente, comparável à do conhecido antioxidantes,

BHT e α -tocoferol. Considerando a abundância desses produtos químicos aromáticos em plantas naturais.

O linalol um monoterpene de fórmula $C_{10}H_{18}O_2$ presente na grande maioria dos compostos dos óleos essenciais em várias espécies de plantas aromáticas. É um composto de muita utilidade para a indústria cosmética mundial, sendo usado como um fixador de fragâncias e também possuidor de atividade antioxidantes (GALART, *et al.* 2007). Na Tabela 24 constam todas as condições de processo utilizadas na extração supercrítica e os compostos químicos identificados no CG/MS.

Tabela 24 - Composição química do (%) de óleo essencial da folha de manjeriço (*Ocimum basilicum.L*) em diferentes condições de extração, obtidos com CO_2 Supercrítico.

Composto	33 °C e 271 bar	47°C e 271 bar	40°C e 100 bar	33°C e 129 bar	47°C e 129 bar	30°C e 200 bar	40°C e 200 bar	50°C e 200 bar
Chavibetol (m-Eugenol)	3.04							
Eugenol	3.34	8.52	6.431	9.354	11.479	6.825	6.811	9.531
Metileugenol	13.13	63.26	73.848	76.702	54.042	73.042	92.933	70.174
Ciclohexeno, 1 - (1,1-dimetiletoxi)	2.77							
Cis- β -Farneseno	2.62	7.18		3.105				
Ciclopropanocarboxílico 2,2,3,3-Tetrametil, éster octilo	2.34							
Acido oxálico. isobutyl hexadecil ester	5.44							
O ciclo-hexano, metanol, Alfa-metil-. alpha	2.54							
bis (2-etilexil) metilfosfonato	13.04							
2.4.4.6.6.8.8-heptametil-1-noneno	7.33							
Acido sulfuroso. ciclohexilmetil tridecil ester	10.94							
Eucalipitol		0,21				1.038	1.525	0.409
Biciclo [3.1.0] hexan-2-ol, 2 - metil -5 - (1-metil-etil) -1 α , 2 β 5 α)			2,082					

Composto	33 °C e 271 bar	47°C e 271 bar	40°C e 100 bar	33°C e 129 bar	47°C e 129 bar	30°C e 200 bar	40°C e 200 bar	50°C e 200 bar	40°C e 300 bar
Dietil ftalato		4.46							
cis. Trans- α -farneseno			2.956				1.516		
Isocariofileno			5.969						
(-)-4-Terpineol				1.559		1.815	1.541	1.979	1.756
trans- α -bergamoteno				1.753	3.872			3.664	3.650
Isolongifolene didesidrociclo				1.085					
Biciclo [4.4.0] dec-1en. 2-isopropil-5-metil-9-metileno				1.566					
L- α -Terpineol					2.220		0.403	0.467	
Humuleno					1.070	0.7965		0.933	0.868
Cis- β -Farneseno					9.085	7.965	2.345	8.145	9.021
Germacreno D					1.659			1.072	1.145
Trans-Cadinol					1.057	1.111	1.187		
1.3.6.10-Dodecatetraene, 3,7,11-trimetil-, (Z, E)						3.384			
cis-Muurolo-4 (14) 5-dieno						0.903		0.481	
()-Epi-Bicyclo Sesquiphellandrene							1.034	1.005	0.585
Linalol								0.573	0.583
1,6-Octadien-3-ol,3,7-dimetil-1,2-aminobenzoato									0.648

Observou-se com a Tabela 24 que para todas as condições empregadas extraiu-se metileugenol e eugenol. Segundo Silva *et al.* (2004), em sua pesquisa sobre composição de

óleos essenciais a partir de três espécies *Ocimum* obtido por destilação de vapor, microondas e extração supercrítica com CO₂, eles mencionam que no Sudeste do Brasil, ou seja na região na qual foi desenvolvida esta pesquisa, existem quimiotipos de manjeriço que tem predominância em sua composição química os compostos eugenol, eugenol metílico, sendo assim este trabalho confirma este dado.

5 – CONCLUSÕES

A utilização do DCCR no processo de extração do óleo essencial de manjeriço utilizando fluido supercrítico apresentou eficiência, evidenciando que é possível otimizar o processo de extração de acordo com as respostas apresentadas no gráfico de superfície, que para tal é necessário aumentar a pressão e diminuir a temperatura ou diminuir a pressão e aumentar pressão para maior rendimento.

O maior rendimento foi obtido através da extração por Soxhlet (2,39%) seguido do SC-CO₂ (0,43%). As diferenças no controle das condições operacionais contribuíram para este rendimento, uma vez que na extração com Soxhlet não há controle de temperatura e pressão, além da utilização do hexano como solvente que facilita a extração de todos os compostos existentes na matriz vegetal que, provavelmente, contribuiu no rendimento, porém um extrato de qualidade inferior comparado ao extraído por SC-CO₂ e por hidrodestilação, sem resíduo de solvente orgânico.

A modelagem matemática mostrou que o modelo aplicado neste estudo representou bem os dados experimentais de acordo com a configuração das curvas de cinética de extração.

Os resultados obtidos nas análises de DPPH e FRAP, mostraram que todas as condições de processo empregadas para a extração do óleo essencial de manjeriço, usando CO₂-SC possuem atividade antioxidante, média de 83,43%. Estes dados foram comprovados através das análises cromatográficas que identificaram os compostos eugenol e metileugenol como os principais responsáveis por esta ação. Ficou evidenciado que a utilização de diferentes condições de processo causou redução da atividade antioxidante em 44% das amostras, mas esta redução não inibiu o potencial antioxidante do óleo.

Os principais compostos existentes no óleo de manjeriço obtidos através das três metodologias utilizados foram: metileugenol, eugenol, cis- β -Farnesene, (-)-4-Terpineol, Humulene, Germacrene D, e Biciclo [4.4.0] dec-1-en. 2-isopropil-5-metil-9-metileno

Considerando o planejamento e a utilização das condições empregadas, obteve-se como melhor condição para aquisição do metileugenol, 40 ° C de temperatura e 200 bar de pressão sendo este o composto de maior destaque em todas as condições empregadas, e para o eugenol, 47 ° C e 129 bar.

6 - SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Como sugestão de trabalhos futuro sugere-se que a extração do óleo seja feita com capturação das substâncias volateis que são perdidas no momento da transferência do extrato do extrator para o tubo.

É muito importante para área de alimentos que seja feita as análises de atividade antimicrobiana, a fim conhecer melhor a ação das substâncias naturais contra os microrganismos patogênicos e deteriorantes.

APÊNDICE

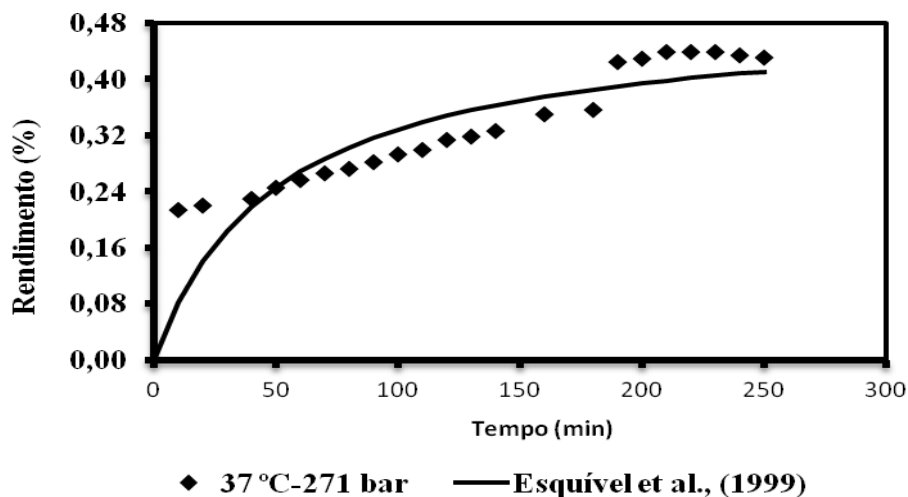


Figura 1- Comparação dos dados experimentais com a curva ajustada ao modelo de Esquível *et al.* (1999) a 37 °C e 271 bar.

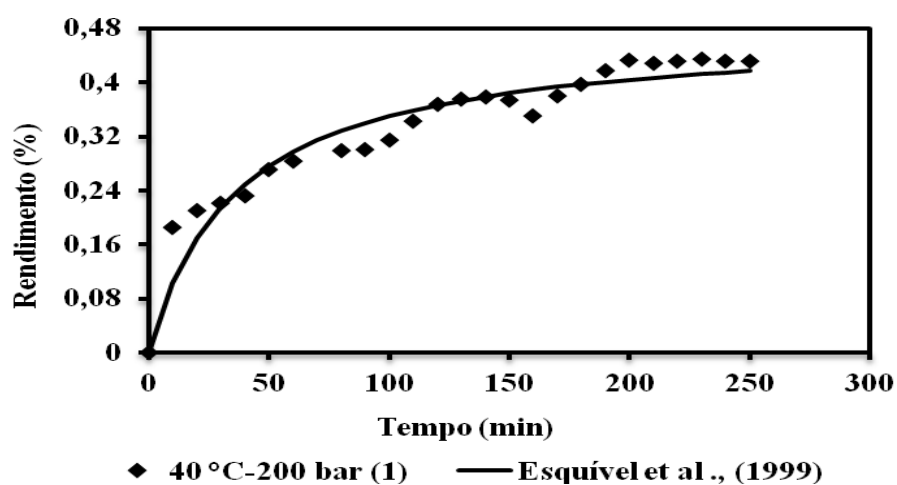


Figura 2- Comparação dos dados experimentais com a curva ajustada ao modelo de Esquível *et al.* (1999) a 40 °C e 200 bar.

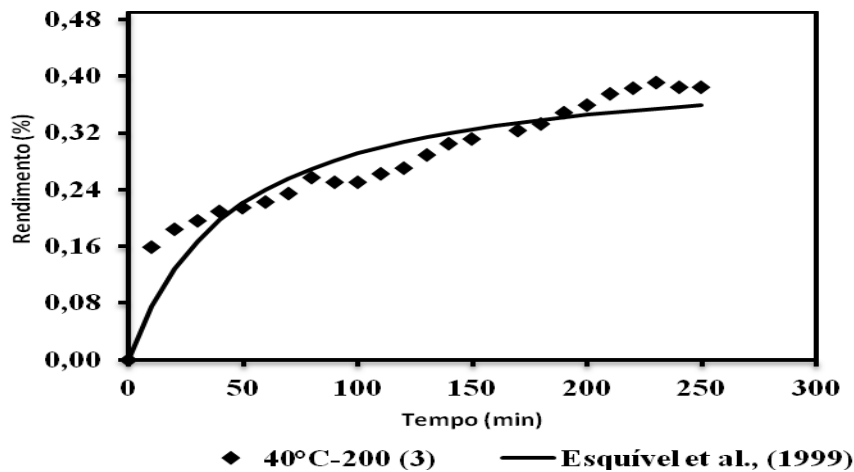


Figura 3- Comparação dos dados experimentais com a curva ajustada ao modelo de Esquível *et al.* (1999) a 40 °C e 200 bar.

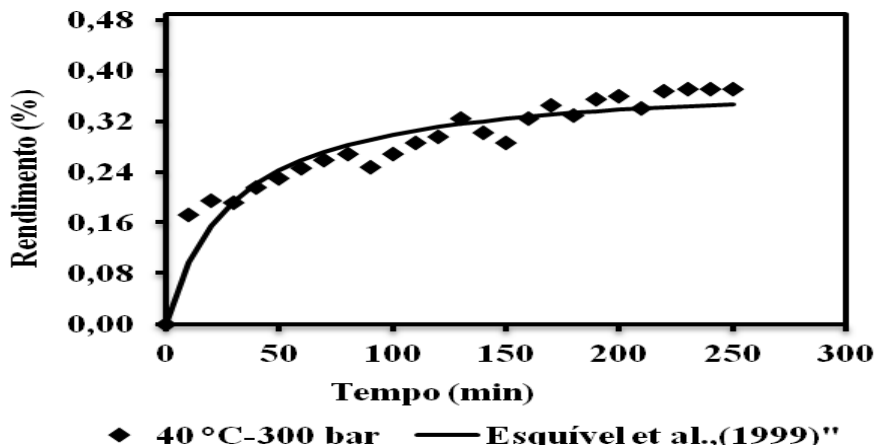


Figura 4- Comparação dos dados experimentais com a curva ajustada ao modelo de Esquível *et al.* (1999) a 40 °C e 300 bar.

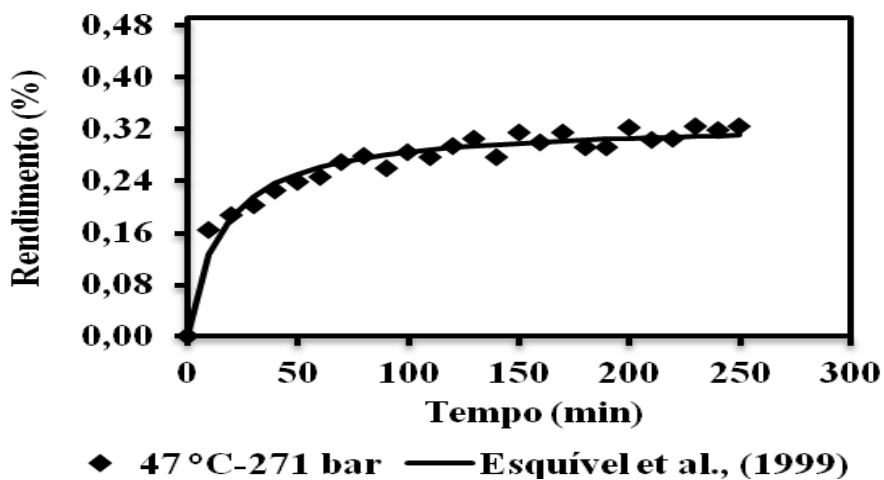


Figura 5- Comparação dos dados experimentais com a curva ajustada ao modelo de Esquível *et al.* (1999) a 47 °C e 271 bar.

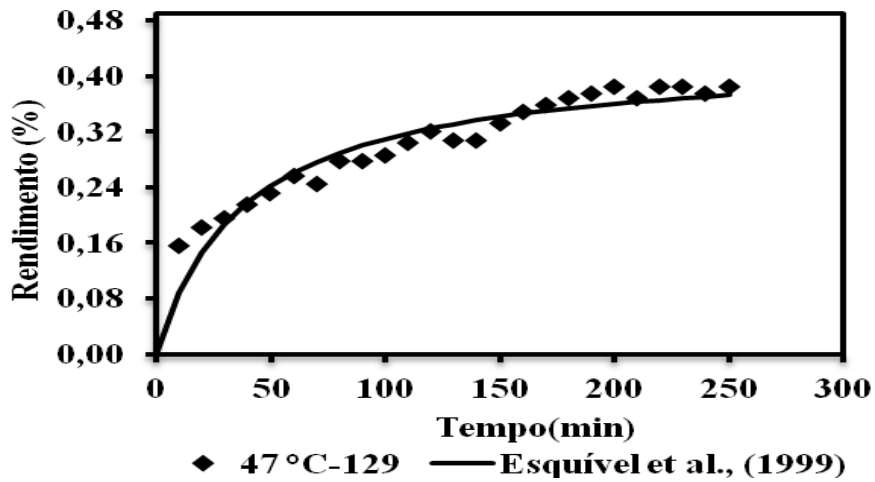


Figura 6- Comparação dos dados experimentais com a curva ajustada ao modelo de Esquível *et al.* (1999) a 47 °C e 129 bar.

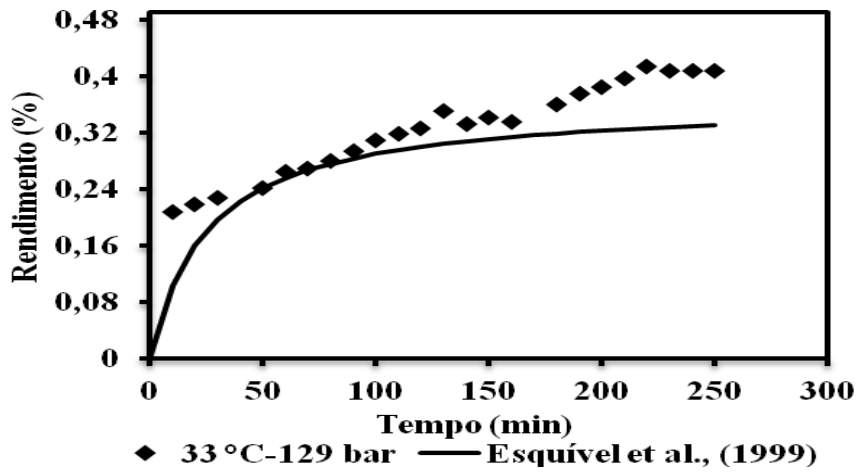


Figura 7- Comparação dos dados experimentais com a curva ajustada ao modelo de Esquível *et al.* (1999) a 33 °C e 129 bar.

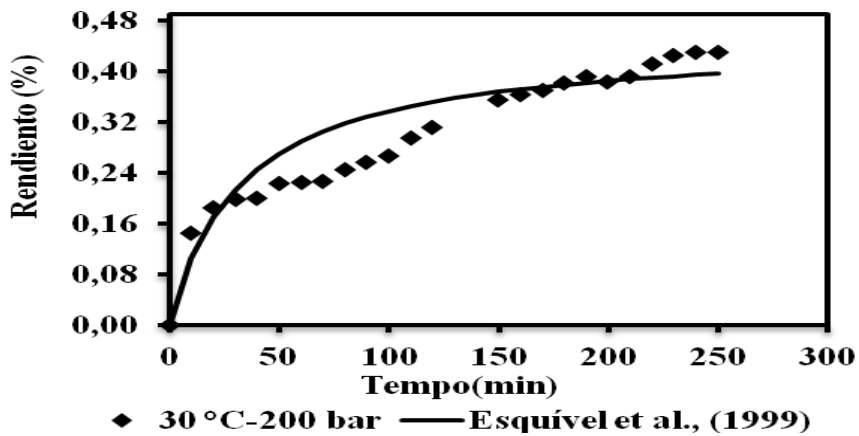


Figura 8- Comparação dos dados experimentais com a curva ajustada ao modelo de Esquível *et al.* (1999) a 30 °C e 200 bar.

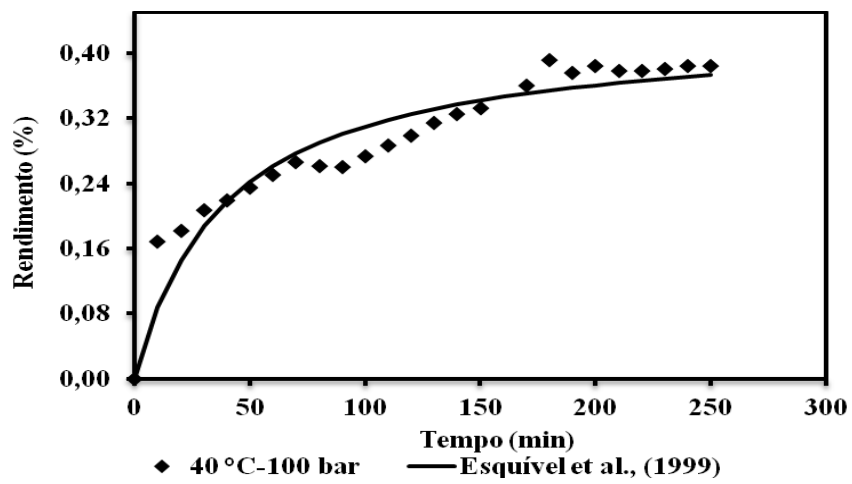


Figura 9- Comparação dos dados experimentais com a curva ajustada ao modelo de Esquível *et al.* (1999) a 40 °C e 100 bar.

REFERÊNCIAS

- ASSOCIATION OF OFICIAL ANALYTICA CHEMISTS-AOAC. **Official methods of analysis of AOAC International**. 17th ed. Gaithersburg.v, p.1-2, 2000.
- ALEKSOVSKI, S.A.; SOVOVÀ H. Supercritical CO₂ extraction of *Salvia officinalis* L. **J. of Supercritical Fluids**. n. 40, p. 239–245, 2007.
- ALMEIDA, J. A. C. et al. Características vegetativas do coentro submetido a doses do polímero hidroabsorvente e lâminas de irrigação. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**. v.13, n.6, p.671–679, abr. 2009.
- BARROSO MST; VILLANUEVA G; LUCAS AM; PEREZ GP; VARGAS RMF; BRUN GW; CASSEL E. Supercritical fluid extraction of volatile and non-volatile compounds from *Schinus molle* L. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, n. 28, p. 305 – 312, 2011.
- BARITAU, O.; RICHARD, T. J.; DERBESY, M. Effects of drying and storage of herbs and spices on the essential oil: part 1: Basil, *Ocimum basilicum* L. **Flavour and Fragrance Journal**, [S.l.], v. 7, p. 267-271, 1992.
- BABOVIC, N., et al. Supercritical carbon dioxide extraction of antioxidant fractions from selected Lamiaceae herbs and their antioxidant capacity . **Innovative Food Science and Emerging Technologies**. n.11 p. 98–107, 2010.
- BIMAKR, Mandana et al. Supercritical Carbon Dioxide (SC-CO₂) Extraction of Bioactive Flavonoid Compounds from Spearmint (*Mentha Spicata* L.) Leaves. **European Journal of Scientific Research**, v.33, n.4, p.679-690, 2009.
- BORGES, A.M. et al. Determinação de óleos essenciais de alfavaca (*Ocimum gratissimum* L.), orégano (*Origanum vulgare* L.) e tomilho (*Thymus vulgaris* L.). **Rev. bras. plantas med.** [online]. vol.14, n.4, pp. 656-665,1516-0572. 2012,
- BRAND-WILIAMS, W.; CUVELIER, M.E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **Food Science and Technology**, v.28, p.25-30. 1995.
- BRUNNER, G. Supercritical fluids: technology and application to food processing. **Journal of Food Engineering**. v 67, p21-33, 1994.
- CARRILHO, E; TAVARES, M.C.H; LANÇAS, F. M. Fluidos supercríticos em química analítica. I. Cromatografia com fluido supercrítico: conceitos termodinâmicos. **Quim. Nova**, vol. 24, no. 4, p. 509-515, 2001
- CARRILHO, E; TAVARES, M. C. H; LANÇAS, F. M. Fluidos supercríticos em química analítica. Iii. Cromatografia com fluido Supercrítico: aplicações. **Química Nova**. v. 29, n. 4, p.790-795, 2006.

CARVALHO Jr RN; MOURA LS; ROSA PTV; MEIRELES MAA.2005. Supercritical fluid extraction from Rosemary (*Rosmarinus officinalis*): Kinetic data,extract's global yield, composition, and antioxidant activity, **Journal of Supercritical Fluids**. n. 35, p. 197, 2004.

CARVALHO Jr RN; MOURA LS; ROSA PTV; MEIRELES MAA.2005. Supercritical fluid extraction from Rosemary (*Rosmarinus officinalis*): Kinetic data,extract's global yield, composition, and antioxidant activity, **Journal of Supercritical Fluids** 35: 197-204.

CASSEL, E;VARGAS, R.M.F; MARTINEZ, N; LORENZO, D; DELLACASSA.Steam distillation modeling for essential oil extraction process. **Industrial crops and products**. n . 29, p. 171-176, 2009.

CHALCHAT, Jean-Claude; ÔZCAN, Mehmet Musa. Comparative essential oil composition of flowers, leaves and stems of basil (*Ocimum basilicum* L.) used as herb. **Food Chemistry**. n.110, p. 501–503, 2008.

CHARLES, D. J.; SIMON, J. E. Comparison of extraction methods for the rapid determination of essential oil content and composition of basil. *Journal of the American Society for Horticultural Science, Alexandria*, v. 115, n. 3, p. 458-462, 1990.

CHOI, Yoo Keum et al. Methyl Eugenol reduces cerebral ischemic injury by suppression of oxidative injury and inflammation. **Free Radical Research**. n. 44, v.8 p. 925–935, 2010.

COLLINS, ch, BRAGA, gl, BONATO, ps Fundamentos de cromatografia. Campinas: Editora da UNICAMP, 2006. 452p.b

CRUZ, P. B; PEREIRA, C. A. M. **Avaliação da Presença de antimicrobianos naturais em condimentos industrializados**. 2010.

DAMBOLENA, José S et al. Essential oils composition of *Ocimum basilicum* L. and *Ocimum gratissimum* L. from Kenya and their inhibitory effects on growth and fumonisin production by *Fusarium verticillioides*. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**. n. 11, p. 410–414, 2010.

DARRAH H. H. Investigations of the cultivars of basils (*Ocimum*). **Economic Botany**, v.28, p. 63-67, 1980.

DIAZ-MAROTO M; CONSUELO M; SOLEDAD PEREZ-COELLO M. Dolores Cabezudo. Supercritical carbon dioxide extraction of volatiles from spices Comparison with simultaneous distillation–extraction. **Journal of Chromatography A**. n.947, p. 23–29. 2002.

ESQUÍVEL, M. M.; BERNARDO-GIL, M. G; KING, M. B. Mathematical models for supercritical extraction of olive husk oil. **Journal of Supercritical Fluids**. v.16, p. 43-58, 1999.

FIGUEIREDO, H.C.P., Costa, F.A.A., Leal, C.A.G., Carvalho-Castro, G.A., Leite, R.C. a. Weissella sp. outbreaks in commercial rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) farms in Brazil. **Veterinary Microbiology**. n156. p 359-366.. 2012.

GARLET, T.M.B.; SANTOS, O.S.; MEDEIROS, S.L.P.; MANFRON, P.A.; GACIA, D.C.; BORCIONI, E.I. Produção e qualidade do óleo essencial de menta em hidroponia com doses de potássio. V. 37 Santa Maria/RS: **Ciência Rural**. N.4, p.956-962, 2007.

GENENA, A. K. **Extração e caracterização do extrato de alecrim (*Rosmarinus officinalis L.*): estudo de sua ação antioxidante**. Santa Catarina, 2005. Dissertação (Mestre em Engenharia de Alimentos). Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos do Centro Tecnológico da U F S C.

GUENTHER, E. **The essential oils**. Vol. 1. D. Van Nostrand Company. New Jersey. 1960.

GOMES, Fabiana. **Estudo dos compostos voláteis do alecrim utilizando as técnicas de microextração em fase sólida (SPME) hidrodestilação e extração com fluido supercrítico (SFE)**. Porto Alegre, 2003. Dissertação (Mestrado em Química), Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Instituto de química, Departamento de Química Inorganica e Analitica Programa de Pós –Graduação em Química.2003

GHOREISHI, S.M.; SHARIFIMODELING, S. Of supercritical extraction of mannitol from plane tree leaf. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**. n.24 . p.1037–1048. 2001.

HUSSAIN, et al. **Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of basil (*Ocimum basilicum*) essential oils depends on seasonal variations**.2008.

JAVANMARD, J et al. Chemical Characterization of Basil (*Ocimum basilicum L.*) Found in Local Accessions and Used in Traditional Medicines in Iran. **J. Agric. Food Chem.**, v.50, p.5878–5883, 2002.

KWEE, E.M; NIEMEYER, E.D. Variations in phenolic composition and antioxidant properties among 15 basil (*Ocimum basilicum L.*) cultivars / **Food Chemistry**. n.128 p.1044–1050, 2011.

KLIMÁNKOVA A.. Comparative study of Xavonoid contents and antioxidant activities of supercritical CO₂ extracted pine barks grown in diVerent regions of Turkey and Germany. **Eur Food Res Technol**. N. 229, p. 671–677, 2007

LAGOURI, V & NISTEROPOULOU, E. Antioxidant properties of oregano, thyme and basil. **Journal of Food Lipids**, n.16, p. 484–498, 2009.

LANÇAS, F. M. Extração com fluido supercrítico: Quo vadis. **Revista Analytica**. n. 02, 2002.

LEAL, P. F. et al. Global yields, chemical compositions and antioxidant activities of clove basil (*Ocimum gratissimum L.*) extracts obtained by supercritical fluid extraction. **J. Food Process Eng.**, v. 29, n. 5, p. 547-559, 2006.

LEAL P. F., N. B. Maia, Q. A. C. Carmello, R. R. Catharino, M. N. Eberlin, and M. Angela A. Meireles, “Sweet basil (*Ocimum basilicum*) extracts obtained by supercritical fluid extraction (SFE): Global Yields, Chemical Composition, Antioxidant Activity, and Estimation of the Cost of Manufacturing”, **Food Bioprocess Tech**, no.1, v.1, p.326-338, 2008.

LEE, Seung-Joo; UMANO, Katumi; SHIBAMOTO Takayuki; LEE, Kwang-Geun. Identification of volatile components in basil (*Ocimum basilicum* L.) and thyme leaves (*Thymus vulgaris* L.) and their antioxidant properties. **Food Chemistry**. n.91, p.131–137, 2005.

LEMOS, Fernanda Munhoz da Rocha. **Elaboração e caracterização de produto análogo a hambúrguer de cogumelo *Agaricus brasiliensis***. Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos, Setor de Tecnologia, Universidade Federal do Paraná, com requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Tecnologia de Alimentos. Curitiba, 2009.

LEONARDO, Marcelo. **Produção de óleo essencial associado à deficiência hídrica em plantas de *Ocimum basilicum* L.cv. Genovese. Botucatu** : [s.n.], 2007.132 f. Tese (Doutorado)-Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrônomicas, Botucatu

LUCCHESI ME; CHEMAT F; SMADJA J.. Solvent-free microwave extraction of essential oil from aromatic herbs: comparison with conventional hydro-distillation. **Journal of Chromatography A** 1043: 323–327, 2004.

LUZ JMQ; MORAIS TPS; BLANK AF; SODRÉ ACB; OLIVEIRA GS. Teor, rendimento e composição química do óleo essencial de manjeriço sob doses de cama de frango. **Horticultura Brasileira**; v. 27, n. 3, p. 349-353, 2009.

MAZUTTI, Marcio et al. Caracterização química de extratos de *Ocimum Basilicum* L. obtidos através de extração com CO₂ a altas pressões. **Química. Nova**, v. 29, n. 6, p.1198-1202, 2006.

MENAKERA A; KRAVETSB M; KOELA M; ORAVA A. Identification and characterization of supercritical fluid extracts from herbs. **C. R. Chimie**.n 7, p. 629–633. 2004.

MENDES MF; PESSOA FLP; ULLER AMC. 2002. An economic evaluation based on an experimental study of the vitamin E concentration present in deodorizer distillate of soybean oil using supercritical CO₂. **Journal of Supercritical Fluids** 23: 257–265.

MICHIELIN, E. M. Z.; BRESCIANI, L. F. V.; DANIELSKI, L.; YUNES, R. A.; FERREIRA, S. R. S. Composition profile of horsetail (*Equisetum giganteum* L.) oleoresin: comparing SFE and organic solvents extraction. **J. of Supercritical Fluids**, v. 33, p. 131-8, 2005.

MOREIRA, E. A. M.; SHAMI, N. J. I. E. Licopeno como agem antioxidante. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 17, n. 2, p.227-236, 2004.

MOURA, Lucinewton Silva de. **Obtenção por extração supercritical do extrato de funcho (*Foeniculum vulgare*): determinação das isotermas de rendimento global, de parâmetros cinéticos e de equilíbrio de fases**. Campinas, SP:[s.n], 2004.

NTEZURUBANZA, L.; SHEFFER, J. J. C.; LOOMAN, A. Composition of essential oil of *Ocimum kilimandscharicum* grown in Ruanda. **Planta Medica**, [S.l.], v. 50, n. 5, p. 385-388, 1984.

OGENDO, J.O et al. Bioactivity of *Ocimum gratissimum* L. oil and two of its constituents against five insect pests attacking stored food products. **Journal of Stored Products Research**. n.44, p. 328–334, 2008.

OLIVEIRA, Alane Cabral de; VALENTIM, Iara Barros ; GOULART, Marília oliveira Fonseca . Fontes vegetais naturais de antioxidantes. **Quim. Nova**, Vol. 32, No. 3, 689-702, 2009.

PEREIRA, Cíntia Alessandra Matiucci; MAIA, June Ferreira. Estudo da atividade antioxidante do extrato e do óleo essencial obtidos das folhas de alfavaca (*Ocimum gratissimum* L.). **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, n. 27, v. 3, p. 624-632, 2007.

PEREIRA CG; MEIRELES MAA. Supercritical Fluid Extraction of Bioactive Compounds: Fundamentals, Applications and Economic Perspectives. **Food Bioprocess Technol.** N. 3: 340–372. 2009.

PEREIRA, Camila G. & MEIRELES, Angela. M. A.. Supercritical Fluid Extraction of Bioactive Compounds: Fundamentals, Applications and Economic Perspectives. **Food Bioprocess Technol.** n.3,p. 340–372, 2010.

PEREZ, A. M. J.; VELASCO, N. A.; DURU, M. E. Composition of the essential oils of *Ocimum basilicum* var. *glabratum* and *Rosmarinus officinalis* from Turkey. **Journal of Essential Oil Research**, [S.l.], v. 7, n. 1, p. 73-75, 1995.

PHIPPIN, W.B; SIMON, J.E. Anthocyanin inheritance and instability in purple Basil. **Journal of Heredity**, v.91, n.4, p.289-296, 2000.

POLITEO O; JUKIC M; MILOS M. 2007. Chemical composition and antioxidant capacity of free volatile aglycones from basil (*Ocimum basilicum* L.) compared with its essential oil. **Food Chemistry**. n101, p. 379–385, 2007.

POURMORTAZAVI SM; HAJIMIRSADEGHI SS.. Supercritical fluid extraction in plant essential and volatile oil analysis. **Journal of Chromatography A** 1163: 2-24. 2007

PULIDO, R.; BRAVO, L.; SAURA-CALIXTO, F. Antioxidant activity of dietary as determined by a modified ferric reducing/ antioxidant power assay. **Journal Agriculture and Food Chemistry**, v. 48, p. 3396-3402, 2000.

QUISPE CONDORI Determination of process parameters at different stages of supercritical extraction of natural products: *Artemisia annua*, *Cordia verbenacea*, *Ocimum selloi* and *Foeniculum vulgare*. **J. of Supercritical Fluids**. n.36, p.40–48, 2005

RAMALHO, Valéria Cristina; JORGE, Neuza. Antioxidantes utilizados em óleos, gorduras e alimentos gordurosos. **Quim. Nova**, vol. 29, n. 4, p. 755-760, 2006.

RODRIGUES, M.I.; IEMMA, A.F. **Planejamento de experimentos**. 1ª ed. Campinas: 2005.

RUFINO, Maria.S.M., et al. Metodologia científica: determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre DPPH. **Comunicado técnico on line**. p.1679-6535, 2007.

SANTOS, D. T. et al. Tecnologia supercrítica como uma alternativa para purificar xilitol biotecnológica. **Ciências Agrárias, Londrina**, v. 32, n. 2, p. 621-632, 2011.

SANTOS, Elmano dos Ferreira. **Seleção de tipos de *Ocimum basilicum L.* de licor púrpura para o Mercado de plantas ornamentais**: pesquisa de campo.2007.50p. Dissertação (Mestrado na Área de Concentração de Produção Vegetal)-Universidade de Brasília Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Brasília/DF, 2007.

SANSON, Alessandra David. **Morfologia, produção de biomassa e caracterização química do óleo essencial de seis acessos de *Ocimum spp.* Comercializados em Salvador, BA e Brasília, DF**. Pesquisa de campo. 2009. 38f. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias na Área de Concentração de Agronomia)-Universidade de Brasília Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Brasília/DF, 2009.

SIFOLA MI; BARBIERI GG. Yield and essential oil content of three cultivars of basil grown under different levels of nitrogen in the field. **Scientia Horticulturae** 108: 408–413, 2006.

SILVA CF; MENDES MF; PESSOA FLP; QUEIROZ EM.. Supercritical Carbon Dioxide Extraction Of Macadamia (*Macadamia integrifolia*) Nut Oil: Experiments and Modeling. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**. n 25, p. 1-8, 2008

SILVA C F 2006. **Modelos matemáticos para o processo de transporte de massa na extração de produtos naturais de matrizes sólidas utilizando CO₂ supercrítico: estudo experimental e teórico**. Seropédica: IQ/UFRJ-RJ.103p (Dissertação Mestrado).

SILVA MG; MATOS FJA; LOPES PRO; SILVA FO; HOLANDA MT. Composition of essential oils from three *Ocimum* species obtained by steam and microwave distillation and supercritical CO₂ extraction. **ARKIVOC** vi: p. 66-71, 2004.,

SIMÕES,C.M.O; SPITZER, V. **Óleo voláteis**. In Simões C.M.O; SCHENKERL, E.P; COSMANN, G; MELLO. J.C.P; MENTZ, L.A; Petrovick (ORGS). Farmacognosia da planta ao medicamento. Florianópolis: Ed. UFSC. 2003.

SOARES, R. D. *et al.* Influência da temperatura e velocidade do ar na secagem de manjeriço (*ocimum basilicum l.*) Com relação aos teores de óleos essenciais e de linalol. **Ciênc. agrotec.**, Lavras, v. 31, n. 4, p. 1108-1113, 2007.

STAHL, E. *et al.* **Dense Gases for Extraction and Refining**, Springer-Verlag, Berlim, Alemanha, 1988.

STARMANS, D. A. J.; NIJHUIS, H. H. Extraction of secondary metabolites from plant material: A review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 7, n. 6, p. 191-197, 1996.

STEFFANI, Evandro. **Modelagem Matemática do Processo de Extração Supercrítica de Óleo Essencial de Ho-Sho (Cinnamomum camphora Nees & Eberm var. linaloolifera Fujita) Utilizando CO₂**. Florianópolis, 2003, 106 p.

Tese (Doutor em Engenharia Química). Pós-Graduação em Engenharia Química do Centro Tecnológico da Universidade Federal de Santa Catarina.

SPITZER, V; SIMÕES, C. M. O.; Óleos voláteis. In: SIMÕES, C. M. O.; et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5. ed. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da UFRGS/Editora da UFSC, p.387-449, 2003.

SKOOG, D. A., et al. **Princípios de análise instrumental**. 5. ed. Tradução: Ignez Caracelli, et al..Porto Alegre: Bookman, p. 343-638, 2002.

SOVOVÁ, H. Rate of Vegetable Oil Extraction with Supercritical CO₂ – I and II Modelling of Extraction Curves, **Chem. Eng. Sci.**, 49, n° 3, p. 409, 1994.

THAIPONG, K.; BOONPRAKOB, U.; CROSBY, K; CISNEROSZEVALLOS, L.; BYRNE, D.H. Comparison of ABTS, DPPH,FRAP and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. **Journal of Food Composition and Analysis**, v.19, p.669-675, 2006.

WATERMAN, P.G. The chemistry of volatile oils. In HAY, R.K.M., WATERMAN, P.G. Volatile oil crops: Their biology, biochemistry and production. Essex: Longman Group, 1993.

WILLIAMS, D. F. Extraction of triglycerides and phospholipids from canola with supercritical carbon dioxide and ethanol. **J. Am. Oil Chem. Soc., U.S.A.**, v.36, n.11. p.1769-1788, 1981.

ZAMFIRACHE, Maria Magdalena et al. Research regarding the chemical composition of the volatile oil of some taxa belonging to the genus ocimum. Analele științifice ale Universității „Al. I. Cuza” Iași. Tomul LVII, fasc. 1, s. II a. **Biologie vegetală**, 2011.

ZHELJAZKOV, AHAN, A.; CANTRELL, C.L. Yield and oil composition of 38 (*Ocimum basilicum* L.) Accessions grown in Mississippi. **Journal of Agricultural and Food chemistry**. v.56,p.241-245, 2008.

ZOUGAGH, M.; ARANDA, P.; CASTAÑEDA, G.; RIOS, A. Supercritical fluid extraction Achiral liquid chromatography with circular dichroism detection for the determination of menthone enantiomers in natural peppermint oil samples. **Talanta**. n. 79, p. 284–288, 2009.