UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ZOOTECNIA E ENGENHARIA DE ALIMENTOS

LARISSA DA CUNHA RODRIGUES

**Obtenção de tintura de folha de maracujá (*Passiflora edulis Sims*) com
extração por líquido pressurizado: estudo da cinética de extração,
aumento de escala e análise econômica**

Pirassununga

2021

LARISSA DA CUNHA RODRIGUES

**Obtenção de tintura de folhas de maracujá (*Passiflora edulis Sims*) com
extração por líquido pressurizado: estudo da cinética de extração,
aumento de escala e análise econômica**

VERSÃO CORRIGIDA

Dissertação apresentada à Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Ciências do programa de pós-graduação em Engenharia de Alimentos.

Área de Concentração: Ciências da Engenharia de Alimentos

Orientador: Profa. Dra. Alessandra Lopes de Oliveira

Pirassununga

2021

Ficha catalográfica elaborada pelo
Serviço de Biblioteca e Informação, FZEA/USP,
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

6960 Rodrigues, Larissa da Cunha
 Obtenção de tintura de folhas de maracujá
 (Passiflora edulis Sims) com extração por líquido
 pressurizado: estudo da cinética de extração,
 aumento de e / Larissa da Cunha Rodrigues ;
 orientadora Alessandra Lopes De Oliveira. --
 Pirassununga, 2021.
 105 f.

 Dissertação (Mestrado - Programa de Pós-Graduação
 em Engenharia de Alimentos) -- Faculdade de
 Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade
 de São Paulo.

 1. EQUIPAMENTOS DE LABORATÓRIO QUÍMICO. 2.
 MODELAGEM DE DADOS. 3. SIMULAÇÃO. 4. FITOTERAPIA.
 5. EXTRATOS (FORMAS FARMACÊUTICAS). I. De Oliveira,
 Alessandra Lopes, orient. II. Título.

LARISSA DA CUNHA RODRIGUES

Obtenção de tintura de folha de maracujá (*Passiflora edulis Sims*) com extração por líquido pressurizado: estudo da cinética de extração, aumento de escala e análise econômica

Dissertação apresentada à Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Ciências do programa de pós-graduação em Engenharia de Alimentos.

Área de Concentração: Ciências da Engenharia de Alimentos

Data de Aprovação: 10/05/2021

Banca Examinadora

Profa. Dra. Alessandra Lopes de Oliveira

Instituição: Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos (FZEA - USP)

Presidente da Banca Examinadora

Profa. Dra. Titular Maria Ângela de Almeida Meireles

Instituição: Faculdade de Engenharia de Alimentos (FEA)- UNICAMP

Prof. Dr. Rogers Ribeiro

Instituição: Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos (FZEA - USP)

Prof. Dr. . Gustavo César Dacanal

Instituição: Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos (FZEA - USP)

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho à Deus, que me deu forças para suportar todas as dificuldades e aos meus pais Luzia e José Luiz que sempre me apoiaram em meus estudos, os quais não mediram esforços para que eu chegasse até esta etapa de minha vida.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à Deus pela força para encarar os desafios, desânimos, as dificuldades, pois sempre esteve comigo e nunca me desamparou.

Agradeço aos meus familiares por todo suporte e encorajamento me apoiando em minhas decisões.

Aos professores do programa de pós-graduação em Ciências da Engenharia de Alimentos pelos ensinamentos em sala de aula e laboratórios, cooperando para a minha formação acadêmica.

Agradeço à Professora Judite da Graças Lapa- Guimarães pela amizade, por toda paciência e coragem que teve nos primeiros meses de mestrado, sei que não foi fácil, mas muito obrigada pela tentativa de ser orientadora minha e da Sinthya, e muito obrigada pela ajuda e suporte. Obrigada pela supervisão no Estágio PAE e ajuda ao avaliar os projetos no Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos.

Agradeço à Professora Alessandra Lopes de Oliveira por me aceitar como orientada, pela paciência, pelos passeios de bike, pela amizade, por toda ajuda, suporte, puxões de orelha, confiança e oportunidade.

À amizade da Professora Eliana Setsuko Kamimura, obrigada por sua ajuda, por sua amizade, pelo incentivo, carinho, pelo aprendizado e pelas mudinhas lindas de suculentas. Agradeço à amizade, companhia, parceria da Sinthya Sussel, obrigada por tornar meus dias melhores e mais iluminados, obrigada pelos conselhos e por passar todos os perrengues e alegrias junto comigo neste período de dois anos de mestrado.

Agradeço à ajuda da Renata Bodini, obrigada por me ensinar a ser mais rigorosa com as análises, a ser mais crítica e criteriosa, pelos puxões de orelha e por toda paciência e impaciência.

Agradeço também os técnicos de laboratório Nilson, Alan, Camila e Marcelo por sempre me ajudarem quando precisei.

Ao professor Gustavo César Dacanal por toda ajuda e paciência na etapa de engenharia do processo, por toda sua contribuição. Agradeço também ao professor Fernando de Lima Caneppele pelo suporte no consumo energético do

processo de extração. Agradeço também ao professor Rogers Ribeiro pelas contribuições desde a graduação.

À equipe do laboratório pelas conversas, convívios e troca de experiências.

À CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior Código de financiamento 001) pelo financiamento da pesquisa por meio da bolsa Demanda Social, permitindo assim, dedicação integral e exclusiva ao meu curso de mestrado.

*“Para ser grande, sê inteiro: nada
Teu exagera ou exclui.
Sê todo em cada coisa. Põe quanto és
No mínimo que fazes.
Assim em cada lago a lua toda
Brilha, porque alta vive”
Fernando Pessoa*

RESUMO

RODRIGUES, L. C. **Obtenção de tintura de folha de maracujá (*Passiflora edulis Sims*) com extração por líquido pressurizado: estudo da cinética de extração, aumento de escala e análise econômica** 2021. 105 f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2021.

O processo de extração com líquido pressurizado (ELP) é uma nova técnica desenvolvida na década de 90 para preparo de amostras analíticas, mas atualmente tem sido empregada no estudo da composição de extratos vegetais e animais. Existem vários parâmetros para se obter melhores rendimentos na extração como a pressão, a temperatura, o tempo de contato entre o solvente e a matriz no extrator, a quantidade de solvente e o número de vezes que o solvente irá entrar em contato com a matriz em um processo intermitente de extração com purga do solvente. A alta pressão permite melhor difusividade do solvente que se mantém no estado líquido mesmo a altas temperaturas. O processo é relativamente rápido e em um processo intermitente permite economia considerável de solvente. Este projeto de pesquisa teve como objetivo a obtenção da tintura de folhas de maracujá (*Passiflora edulis Sims*) utilizando etanol aquoso 70%(v/v) pressurizado em um processo de purga intermitente. Esta tintura possui grande importância dentre os fitoterápicos por apresentar atividade ansiolítica, sedativa e anti-inflamatória, além disso, a aplicação desta técnica pode se estender para outras espécies de plantas. Foram avaliados os efeitos das variáveis Temperatura (T), Volume de Solvente (VS – o qual consiste na porcentagem do volume da célula de 34 mL distribuído pelo número de ciclos) e Número de Ciclos (C) no rendimento global (X_0), composição de fenólicos totais (CFT), flavonoides totais (CFLT) e consumo de energia elétrica (CE). A temperatura foi o fator que mais influenciou todas as variáveis respostas, o número de ciclos, ou número de purga do extrato durante a extração, e o volume de solvente usado no enxague para repor o extrato em cada purga, pouco influenciaram. Utilizando a mistura de etanol 70% em ELP, em um processo em escala laboratorial, obteve-se rendimentos em sólidos totais variando de 22,3 % a 33,1 %, a composição em fenólicos totais variou de 30,0 a 43,2 mg equivalente

em ácido gálico/g folhas secas, a composição de flavonóides variou de 27,0 a 58,8 mg equivalente em quercetina /g folhas secas e o consumo de energia variou de 3,4 a 36,9 wh. A condição otimizada, a qual obteve maiores concentrações de fenólicos e flavonóides, das variáveis estudadas (T, VS e C) obtida pelo Design Composto Central Rotacional (DCCR) foi a 100 °C com VS de 120% e 4 C, e para o rendimento global foi de 113°C com VS de 100% e 3 C, estas condições, no entanto foram as que mais consumiram energia elétrica. Para comparação com o processo convencional de obtenção de tintura, indicado pela Farmacopeia Brasileira, realizou-se a extração por percolação e foram obtidos 21,8% de rendimento global, $22,5 \pm 1,1$ mg equivalentes a ácido gálico/g (mg EAG) e $27,8 \pm 0,6$ mg equivalentes à quercetina /g (EQUER/g) sem consumo de energia, porém com maior consumo de solvente. Ou seja, o processo por ELP é mais vantajoso que a percolação em rendimento. A partir destas condições otimizadas, aplicou-se um modelo matemático para descrever a cinética de extração com líquido pressurizado (ELP) em processo semi-contínuo e em processo com purga intermitente do extrato e obteve-se bom ajuste dos dados modelados com os experimentais. O modelo matemático que se ajustou aos dados experimentais foi o Modelo de Fick para transferência de massa. Os coeficientes de difusão efetiva obtidos ($6.44 \pm 0.416 \times 10^{-12}$ m²/s para a temperatura de 80° C, $6.07 \pm 0.383 \times 10^{-12}$ m²/s para a temperatura de 90°C e $5.83 \pm 0.421 \times 10^{-12}$ m²/s para a temperatura de 100°C) não foram afetados pela temperatura na faixa estudada. O processo em purga intermitente na condição otimizada ocorre em sua maior parte na faixa da curva que representa a taxa de extração constante. O aumento de escala foi realizado de acordo com a otimização concluída em escala laboratorial, mantendo a proporção massa de solvente e massa de folhas constante (S/F), além das variáveis significativas ao processo. Este método de aumento de escala demonstrou ser eficaz. A extração no equipamento em escala piloto obteve rendimentos globais ligeiramente superiores aos realizados em escala laboratorial $35,6 \pm 1,5$ % e utilizou-se $3.768,4 \pm 121,3$ mL de solvente e consumiu $178,1 \pm 23,6$ Wh de energia elétrica. As curvas de extração do processo intermitente foram semelhantes apesar de apresentarem tempos diferentes. O consumo energético, porém, da escala laboratorial para a piloto aumentou em cinco vezes. Concluiu-se este projeto com uma estimativa do custo de implementação do processo, estimando o custo de

manufatura e os custos de manufatura foram menores em equipamentos que operam em regime semi-contínuo com a extração de apenas 2 ciclos. Quanto maior a escala de produção, maior foi a viabilidade econômica.

Palavras chaves: solvente acelerado, processo intermitente, modelagem, aumento de escala, folhas de maracujá, custo de manufatura.

ABSTRACT

RODRIGUES, L. C. **Obtaining tincture of passion fruit leaves (*Passiflora edulis* Sims) by pressurized liquid extraction: study of extraction kinetics, scaling up and economic analysis.** 2021. 105f. M. Sc. Dissertation – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2021.

The pressurized liquid extraction process (PLE) is a new technique developed in the 1990s for the preparation of analytical samples, but currently it has been used to study the composition of plant and animal extracts. There are several parameters to obtain better yields in the extraction such as pressure, temperature, contact time between the solvent and the matrix in the extractor, rinse volume and the number of times the solvent will come into contact with the matrix in an intermittent solvent purge extraction process. The high pressure allows better diffusivity of the solvent that remains in a liquid state even at high temperatures. The process is relatively fast and in an intermittent process it allows considerable solvent savings. This research project aimed to obtain the tincture of passion fruit leaves (*Passiflora edulis* Sims) using 70% (v/v) pressurized aqueous ethanol in an intermittent purging process. This tincture has great importance among herbal medicines for presenting anxiolytic, sedative and anti-inflammatory activity, in addition, the application of this technique can be extended to other plant species. The effects of the variables Temperature (T), Rinse volume (VS - which consists of the percentage of the 34 mL cell volume distributed by the number of cycles) and Number of Cycles (C) on the overall yield (X0), composition of total phenolics (CFT), total flavonoids (CFLT) and electricity consumption (EC) were evaluated. The temperature was the factor that most influenced all the response variables, the number of cycles, or number of purge of the extract during the extraction, and the rinse volume used in the rinse to replace the extract in each purge, had little influence. Using the mixture of 70% ethanol in ELP, in a laboratory-scale process, yields in total solids ranging from 22,3% to 33,1% were obtained, the composition in total phenolics ranged from 30,0 to 43,2 mg equivalent in gallic acid/g dry leaves, the flavonoid composition ranged from 27,0 to 58,8 mg equivalent in quercetin/g dry leaves and energy consumption ranged from 3,4 to 36,9 wh. The optimized condition, which

obtained the highest concentrations of phenolics and flavonoids obtained by the Central Rotational Composite Design (DCCR) was at 100 °C with SV of 120% and 4 C, and for the global yield was 113°C with VS of 100% and 3C, these conditions, however, were the ones that consumed the most electricity. For comparison with the conventional process for obtaining the extract, indicated by the Brazilian Pharmacopoeia, extraction by percolation was performed and 21,8% of global yield, $22,5 \pm 1,1$ mg equivalent to gallic acid/g (mg EAG/g) and $27,8 \pm 0,6$ mg equivalent to quercetin /g (EQUER/g) were obtained without energy consumption, but with higher solvent consumption. In other words, the PLE process is more advantageous than percolation in yield. From these optimized conditions, a mathematical model was applied to describe the extraction kinetics with pressurized liquid in a semi-continuous process and in a process with intermittent extracting purge, and a good fit of the modeled data with the experimental ones was obtained. The mathematical model that fitted the experimental data was the Fick's Model for mass transfer. The effective diffusion coefficients obtained ($6,44 \pm 0,416 \times 10^{-12}$ m²/s for a temperature of 80°C, $6,07 \pm 0,383 \times 10^{-12}$ m²/s for a temperature of 90°C and $5,83 \pm 0,421 \times 10^{-12}$ m²/s for a temperature of 100°C) were not affected by the temperature in the range studied. The intermittent purge process in the optimized condition occurs for the most part in the range of the curve representing the constant extraction rate. The scale-up was carried out in accordance with the optimization completed on a laboratory scale, keeping the proportion of solvent mass and sheet mass (S/F) and process variables constant. This method of scaling up has been shown to be effective. The extraction in the equipment on a pilot scale obtained global yields slightly higher than those carried out on a laboratory scale ($35,6 \pm 1,5\%$) and $3.768,4 \pm 121,3$ mL of solvent were used and consumed $178,1 \pm 23,6$ Wh of electricity. The intermittent process extraction curves were similar despite having different times. The energy consumption, however, from the laboratory scale to the pilot increased by five times. This project was concluded with an estimate of the process implementation cost, estimating the manufacturing cost and the manufacturing costs were lower in equipment that operates in semi-continuous regime with the extraction of only 2 cycles. The larger the production scale, the greater the economic viability.

Key words: accelerated solvent, intermittent process, modeling, scaling up, passion fruit leaves, cost of manufacturing.

Lista de Figuras

Figura 1 Curva geral de extração geral de rendimento global, representando o rendimento global em função do tempo.	31
Figura 2 .Esquema de funcionamento do equipamento de extração ASE escala laboratorial.....	37
Figura 3 .Extração de compostos bioativos de folhas de maracujá pelo método de percolação.....	42
Figura 4 .Esquema de um equipamento de extração com líquido pressurizado proposto para ampliação de escala.....	50
Figura 5 .Equipamento de extração com líquido pressurizado (ELP) construído em escala piloto	51
Figura 6 .Fluxograma dos Sistemas 1 e 2 obtidos no programa SuperPro Designer® version 8.5. (a) O Sistema 1 possui 1 extrator de 2 L com 5 ciclos; (b) O sistema 2 possui 2 extratores de 2 L com 5 ciclos e automatizado.....	54
Figura 7 . Diagrama de Gantt para o Sistema 1 (1 × 2 L) de uma célula de extração e 5 ciclos.....	56
Figura 8 . Diagrama de Gantt para o Sistema 2 (2 × 2 L), automatizado com duas células de extração e 5 ciclos.....	57
Figura 9 . Diagrama de Pareto das variáveis respostas obtidas a partir de um ajuste de primeira ordem.....	67
Figura 10 . Superfície de Resposta gerada pelo modelo de segunda ordem que descreve a influência da T e do número de ciclos (C) para o rendimento global (X_0) (%).	70
Figura 11 . Superfícies de Contorno geradas pelo modelo de primeira ordem que descrevem a influência das variáveis de processo na composição em fenólicos totais (CFT).	74
Figura 12 . Superfície de Contorno gerada pelo modelo de primeira ordem para que descreve a composição em flavonóides totais (FVT) em função da T e de C	75
Figura 13 . A Superfície de Resposta gerada pelo modelo de segunda ordem para o consumo de energia (CE em Wh).	76
Figura 14 . Valores preditos nos modelos e valores experimentais para as variáveis respostas avaliadas.....	77
Figura 15 . Curva de extração geral de sólidos totais em folhas de maracujá..	80
Figura 16 . Perfil de extração por purga semi-continua a 80 °C.	81
Figura 17 . Perfil de extração por purga semi-continua a 90 °C.	81
Figura 18 . Perfil de extração por purga semi-continua a 100 °C.	82
Figura 19 . Pontos experimentais obtidos à 100 °C por meio da extração com líquido pressurizado (ELP) em um processo com purga intermitente do extrato (Caso 2).....	85
Figura 20 . Perfis do processo intermitente da purga de extrato em cada ciclo da ELP simulados a partir da solução analítica de Fick (Caso 2).....	86

Figura 21. Acoplamento dos resultados simulados pela Lei de Fick e dados experimentais (Caso 2).	87
Figura 22. Comparação entre os processos ELP semi-contínuo e o processo com purga intermitente do extrato (Caso 2) realizado à 100 °C.....	87
Figura 23. Curva do processo intermitente ELP com purga do extrato que mostra a concentração de sólidos extraídos das folhas de maracujá pelo número de ciclos ou tempo de extração.....	91

Lista de Tabelas

Tabela 1 - Delineamento fatorial fracionário 2^{4-1} para otimização do processo de extração com solvente pressurizado (variáveis codificadas).....	38
Tabela 2 - Valores de cada nível dos quatro fatores do processo de extração com solvente pressurizado do Delineamento fatorial fracionário 2^{4-1} para os extratos de maracujá.....	38
Tabela 3 - Valores de cada nível dos três fatores do processo de extração com solvente pressurizado do Design do Composto Central Rotacional na obtenção de extratos de maracujá.....	40
Tabela 4 - Principais parâmetros utilizados para a análise econômica para a estimativa do COM.....	53
Tabela 5 - Composição centesimal das folhas secas de maracujá.....	61
Tabela 6 - Rendimento dos extratos obtidos segundo a matriz do delineamento fatorial fracionário 2^{4-1} para otimização do processo de extração com solvente pressurizado (variáveis reais).....	63
Tabela 7 - ANOVA para análise dos efeitos das variáveis do processo em relação ao rendimento global (X_0).....	64
Tabela 8 - ANOVA para análise dos efeitos das variáveis do processo em relação ao rendimento em Compostos fenólicos totais (CFT).....	64
Tabela 9 - Resultados das respostas obtidas quando as variáveis do processo ELP (T, VS e C) variaram conforme o Design Composto Central Rotacional (DCCR) com três pontos centrais e Percolação (P).....	68
Tabela 10 - Anovas das regressões de ajuste de primeira ordem e segunda ordem das variáveis resposta (MS residual).....	70
Tabela 11 - Validação do DCCR e do ponto otimizado, contendo os valores preditos e os experimentais.....	77
Tabela 12 - Condições de contorno e coeficientes obtidos para a extração em purga semi-contínua (caso 1).....	84
Tabela 13 - Condições de contorno e coeficientes obtidos para extração com líquido pressurizado (ELP) em um processo com purga intermitente do extrato (caso 2).....	85
Tabela 14 - Resultados do rendimento em sólidos por cada ciclo da ELP com etanol 70 % em um processo intermitente de purga de extrato, rendimento global e consumo de energia obtidos no extrator em escala piloto.....	88
Tabela 15 - Estimativa dos valores de COM para cada ciclo de extração dos Sistemas 1 e 2 em relação ao extrato em solução e ao extrato bruto (seco)...	93
Tabela 16 - Valores de COM estimados para os sistemas de produção em escala industrial.....	95

SUMÁRIO

1.	Introdução	20
2.	Objetivos	24
2.1.	Geral	24
2.2.	Específicos	24
3.	Revisão bibliográfica	25
3.1.	Extração com líquido pressurizado (ELP)	25
3.2.	Importância do extrato das folhas de <i>Passiflora edulis</i> Sims	27
3.3.	Planejamento Experimental	28
3.4.	Cinética de extração e modelagem	29
3.5.	Aumento de escala	32
3.6.	Estimativa do custo de implantação	33
4.	Material e métodos	34
4.1.	Obtenção e caracterização da matéria-prima	34
4.2.	Extração com Líquido Pressurizado (ELP)	35
4.3.	Extração via percolação	41
4.4.	Caracterização dos extratos de folhas de maracujá (<i>Passiflora edulis</i> Sims)	42
4.4.1.	Conteúdo de polifenóis totais (CFT)	42
4.4.2.	Concentração de flavonoides totais	43
4.5.	Monitoramento do consumo de energia durante o processo	43
4.6.	Medida da cinética e modelagem do processo	44
4.7.	Aumento de escala	48
4.8.	Análise econômica	52
5.	Resultados e discussão	61
5.1.	Obtenção e caracterização da matéria-prima	61
5.2.	Extração com Líquido Pressurizado (ELP)	62
5.3.	Extração por percolação	77
5.4.	Cinética e modelagem do processo	78
5.4.1.	Cinética de extração em purga semi-contínua (Caso 1)	78
5.4.2.	Estudo de caso 2: Extração por purga intermitente	84
5.5.	Aumento de escala	88
5.6.	Análise Econômica	92

6.	Conclusão	95
7.	Perspectivas para pesquisas futuras	96
8.	Referências Bibliográficas	97

1. Introdução

A extração com líquido pressurizado (ELP), consiste em uma técnica que utiliza um processo de alta pressão e temperatura. A alta pressão é o que mantém o solvente em estado líquido quando a temperatura for superior à sua temperatura normal de evaporação, uma vez que em altas temperaturas à pressão atmosférica o solvente estaria no estado vapor. Esta técnica possui a vantagem de não degradar compostos termicamente sensíveis já que o tempo de extração pode ser considerado rápido em relação á métodos convencionais como a percolação via Soxhlet, por exemplo (RICHTER et al., 1996). Há estudos que demonstraram que esta técnica é mais eficiente pois o consumo de solvente e o tempo de extração é, significativamente, reduzido (CONTE et al., 1997; HU et al., 2011; BARRALES et al., 2018).

Durante o desenvolvimento do ELP pela Dionex, estudos comparativos com métodos convencionais de preparo de amostra foram feitos. Em 1997 o grupo publicou resultados que demonstravam que o uso da extração com solvente pressurizado de herbicidas em amostras de solo foi muito mais eficiente que a extração convencional feita por agitação mecânica seguida de centrifugação (CONTE et al., 1997).

Devido à alta eficiência desta técnica em relação aos métodos convencionais, ela foi utilizada para extrair herbicidas de solos e sedimentos de rios (KRESSELMEIER; DURBECK, 1996) e de alimentos (OBANA et al., 1997), bem como em análise de pesticidas em tubérculos (KHAN et al., 2018). A ELP é utilizada também como preparo de amostra para identificar a presença componentes minoritários como toxinas (PALLARONI; VON HOLST, 2003), contaminantes presentes em moluscos (PARDO et al., 2007a), e de acrilamida em café e chocolate (PARDO et al., 2007b).

Demonstrada a eficiência desta técnica de extração, a ELP começou a ser empregada também na obtenção de extratos enriquecidos com componentes bioativos de vegetais como esteviosídeos de *Stevia rebaudiana* (PÓL et al., 2007), ácidos triterpênicos de *Glycirrhiza glabra* (CLAUDE et al., 2008), antocianinas de diferentes alimentos (ONGKOWIJOYO; LUNA-VITAL; GONZALEZ DE MEJIA, 2018), compostos fenólicos de folhas de oliveira (PUTNIK et al., 2017), na extração de óleos vegetais empregando solventes

verdes (CASTEJÓN; LUNA; SEÑORÁNS, 2018), na extração de polifenóis de bagaço de uvas (MARIOTTI-CELIS et al., 2018) e de ligustro (*Ligustrum lucidum*) (ZHANG et al., 2018). Também foi utilizada na obtenção de polifenóis bioativos de ramos de videira oriundos da poda utilizando destilados do próprio bagaço de uva como solvente (RODRÍGUEZ-CABO et al., 2018). A maioria dos estudos sobre esta técnica, tem sido feito em escala laboratorial em um equipamento comercializado pela *Dionex Corporation*, quando operado em ciclos em um processo intermitente de purga de solvente.

A partir dos eficientes resultados na obtenção de compostos ativos de matrizes vegetais, estudos sobre a otimização do processo de extração direcionados a um possível aumento de escala para aplicação em escala piloto, começaram a ter importância na comunidade científica.

A Organização Mundial da Saúde (OMS) valoriza a utilização de plantas com fins medicinais e terapêuticos (BRASIL, 2011), uma vez que a fitoterapia pode favorecer a população com maior acesso à medicamentos e saúde (HASENCLEVER et al., 2015). A otimização de processos na indústria fitoterápica é uma oportunidade uma vez que o território brasileiro é riquíssimo em espécies de variadas plantas as quais podem ser usadas para a medicina. Para esse estudo, foi escolhida a tintura de folhas de maracujá azedo (*Passiflora edulis* Sims) uma vez que a tintura desta planta é bem consolidada na legislação e possui grande importância na fitoterapia por apresentar atividade ansiolítica e sedativa (PETRY et al., 2001; BENINCÁ et al., 2007; DENG et al., 2010), além de ser anti-inflamatória (GONÇALVES FILHO et al., 2006), e poder ajudar no tratamento de câncer do colo retal (RAMIREZ et al., 2019) e da diabetes tipo II (CHANDRASEKHAR et al., 2018). A obtenção desta tintura vem sendo realizada, principalmente, pelo processo de percolação o qual dura mais de 24 horas para realizar a extração e utiliza grandes quantidades de solvente (BRASIL, 2011) e há poucas aplicações de extração com líquido pressurizado em folhas de maracujá (GOMES et al., 2017; GADIOLI et al., 2018) o que torna a utilização desta técnica bem como sua aplicação em escala piloto uma inovação tecnológica a ser empregada com o objetivo de obter maior rendimento, economia de solvente e de energia na indústria.

Muitos são os parâmetros que afetam o rendimento dos extratos por ELP, e dentre os fatores que afetam diretamente estão o tempo estático de contato

entre o sólido e o solvente no extrator, a temperatura, a pressão, o volume de solvente de enxague e o número de ciclos (OLIVEIRA et al., 2014). A otimização e escolha dos melhores parâmetros do processo de produção de tintura de folha de maracujá pela técnica de ELP pode ser realizada por um delineamento Composto Central Rotacional uma vez que este planejamento é muito eficiente e permite a adequação a um modelo de segunda ordem (BEZERRA et al., 2008) podendo ser utilizado para obtenção das melhores condições experimentais.

Concomitantemente às extrações para otimização de processos os estudos sobre o comportamento do processo de transferência de massa e sua modelagem, são necessários. Como exemplos do estudo do comportamento de extração, Rosa et al. (2016), modelaram um processo semi-contínuo de extração com líquido pressurizado e Colivet; Oliveira; Carvalho (2016) modelaram um processo intermitente em batelada ou ciclos com purga de solvente. A modelagem do processo é um fator crucial para o desenvolvimento do aumento de escala, devido a obtenção de parâmetros muito importantes como o coeficiente de difusividade efetiva (PEREIRA; MEIRELES, 2010). Ainda, Colivet; Oliveira; Carvalho (2016) também demonstraram que a variação no tamanho da célula de extração (34, 66 e 100 mL) na ELP não afetou o rendimento global quando a proporção entre massa de solvente/massa de matéria prima (S/F) acondicionado na célula foi mantida constante. Este resultado foi utilizado como fator para o aumento de escala de um extrator com líquido pressurizado que opera em ciclos em um processo intermitente, com intuito de garantir a economia de solvente. Esta relação (S/F) já foi empregada no estudo de aumento de escala em extração com fluido supercrítico, (ROSA; MEIRELES, 2005; MEZZOMO; MARTÍNEZ; FERREIRA, 2009; PRADO; PRADO; MEIRELES, 2011), estes estudos comprovaram que a manutenção da S/F pode ser considerada um fator determinante nesta avaliação, a qual pode também ser aplicada na extração com líquido pressurizado.

Na transferência do processo de uma escala laboratorial para uma escala industrial, a análise de viabilidade econômica é um complemento necessário assim como a estimativa do custo de manufatura, o que irá fornecer informações sobre a viabilidade do equipamento/processo (ROSA; MEIRELES, 2005; VIGANÓ; ZABOT; MARTÍNEZ, 2017). Este estudo leva em consideração o custo de investimento, o custo operacional, o de serviços e o de tratamento de

resíduos. A demonstração da viabilidade econômica de uma tecnologia emergente é a única maneira de atrair investidores potenciais. Portanto, os pesquisadores devem misturar seu entusiasmo científico com a consciência econômica porque os aspectos de custo são fundamentais para o projeto de processo.

Com base nestes estudos, pretende-se concluir este projeto de pesquisa com a análise da viabilidade econômica de um processo de extração com líquido pressurizado (etanol 70%) na obtenção de tinturas de plantas, tendo como modelo a *Passiflora edulis* Sims.

Segundo o Formulário de Fitoterápicos da Farmacopeia Brasileira (Brasil, 2011), tintura é definida como uma preparação alcoólica e hidroalcoólica resultante da extração de drogas vegetais ou animais. Neste contexto, espera-se obter a tintura de folhas secas *Passiflora edulis* Sims. Considerando que o uso de tinturas de plantas vegetais como medicamento pode ser considerado um método natural e barato no tratamento de doenças crônicas da população brasileira. Só no Formulário de Fitoterápicos da Farmacopeia Brasileira (Brasil, 2011) existem 17 tinturas com posologias definidas para vários tipos de enfermidades. Considerando a perspectiva deste projeto em se obter um novo processo, eficaz e barato para a obtenção de tinturas, acredita-se que se encaixa em um desenvolvimento tecnológico inovador.

2. Objetivos

2.1. Geral

Incitar, por meio de resultados obtidos, a ampliação de novas tecnologias industriais, como a extração com líquido pressurizado, em um processo intermitente com purga de solvente, o qual irá ocorrer em reduzido tempo de operação e empregar menos solventes.

O tempo de obtenção de tinturas de vegetais por método convencional, nesta pesquisa representada pela *Passiflora edulis* Sims, ocorre em um período maior que 24 h. A extração sólido-líquido com líquido pressurizado ocorre em tempo de processo reduzido, e espera-se demonstrar que isto também implica em baixo consumo energético.

2.2. Específicos

- Otimizar o processo de extração hidroalcóolica (etanol 70 %) das folhas de maracujá (*Passiflora edulis* Sims) utilizando ELP, bem como comparar com o processo de fabricação de tintura convencional.
- Estudar o comportamento da cinética de extração com líquido pressurizado de um processo intermitente com purga de solvente e propor um modelo que possa prever o processo em um aumento de escala, de laboratorial para escala piloto.
- Analisar o aumento de escala, experimentalmente, por meio da análise do rendimento e do consumo de energia.
- Avaliar, economicamente, o aumento de escala.

3. Revisão bibliográfica

3.1. Extração com líquido pressurizado (ELP)

Atualmente os compostos fenólicos são extraídos por técnicas convencionais, e, dentre os principais problemas comuns são a baixa eficiência, a perda de alguns compostos, alto consumo de tempo, energia e solvente (YAMMINE et al., 2018). Estes compostos estão naturalmente presentes em plantas dentro de estruturas específicas tais como vacúolos ou bicamadas de lipoproteínas (AGATI et al., 2012), e quando as células estão intactas, torna-se difícil a extração convencional uma vez que o contato entre o composto e o solvente é reduzido fazendo com que, desse modo, o processo necessite maior utilização de solvente e maior tempo de extração (GAMSE, 2002).

O processo indicado pelo Formulário de Fitoterápicos Farmacopéia Brasileira de obtenção da tintura de maracujá é a percolação, e em relação ao método ELP é muito demorado, fazendo com o que o processo de extração dure mais de 24 horas e seja mais complexo (BRASIL, 2011). Isso torna o processo por ELP ainda mais interessante em escala piloto para a indústria de fármacos fitoterápicos pela enorme economia de tempo.

A ELP, também denominada extração acelerada com solvente, foi desenvolvida pela *Dionex Corporation* e utiliza solventes orgânicos a alta pressão e temperaturas acima do ponto de ebulição. Dentre as vantagens de se utilizar solvente a altas temperaturas estão o fato de que estas aumentam a capacidade dos solventes de solubilizar analitos ao reduzir sua viscosidade e aumentam a transferência de massa pois promovem a quebra de interações entre o soluto e a matriz permitindo a difusão do soluto.

As temperaturas elevadas não teriam nenhuma vantagem sem a utilização de pressões elevadas uma vez que as altas pressões forçam o solvente a penetrar nos poros e a entrar em contato com os analitos. A alta pressão é o que mantém o solvente em estado líquido, uma vez que em altas temperaturas o solvente estaria vaporizado. Esta técnica possui a vantagem de não degradar compostos termicamente sensíveis já que o tempo de extração pode ser considerado rápido (menor que 15 min, em alguns casos) em relação aos métodos convencionais como a percolação via Soxhlet (RICHTER et al., 1996).

Na ELP, basicamente, a amostra sólida é colocada no extrator de leito fixo e então o solvente é bombeado para a célula de extração. O processo começa ao se atingir a pressão e temperatura desejáveis. O solvente deve apresentar afinidade com o analito de interesse bem como ser seguro, pouco tóxico e econômico (AMEER; SHAHBAZ; KWON, 2017).

Pode ocorrer em ciclos (n), no qual há um tempo de contato entre o solvente e a matriz em cada ciclo, mantendo a pressão e a temperatura do processo. Após este tempo, denominado tempo estático (tE), ocorre a purga do solvente carregando os solutos e então um novo volume de enxague é bombeado para o extrator, dando início ao próximo ciclo. O processo pode ocorrer no modo dinâmico em que o solvente flui pela amostra de maneira contínua, porém, no modo contínuo usa-se grandes quantidades de solvente (CARABIAS-MARTÍNEZ et al., 2005). A amostra a ser extraída necessita de um pré-tratamento, ou seja, deve apresentar tamanho de partículas reduzido e pouca umidade, e então, muitas vezes utiliza-se o processo de secagem seguida de trituração. Para se evitar que as partículas se aglomerem durante a extração geralmente é utilizado um agente de dispersão constituído de material inerte como areia diatomácea ou contas de vidro de alta densidade. Além de escolher o solvente seguro e com maior afinidade com o analito, deve-se levar em consideração também a compatibilidade do solvente com as etapas posteriores do tratamento, como a volatilidade do solvente em casos que são necessárias a etapa de concentração. Após a extração ainda é necessária a remoção de componentes co-extraídos da matriz, e para isso é geralmente utilizado colunas de adsorção ou cromatografia de permeação em gel (CARABIAS-MARTÍNEZ et al., 2005).

Segundo Conte et al. (1997) esta extração em escala laboratorial possui muitas outras vantagens tal como, a completa padronização dos procedimentos uma vez que a etapa de extração é totalmente automática reduzindo também o contato direto entre o operador e o vapor de solvente. Além disso, esta técnica comparada a métodos tradicionais utiliza menor quantidade de solvente, apresenta menor tempo de extração bem como melhor eficiência de extração.

Muitos são os fatores que afetam o rendimento global e o rendimento de polifenóis extraídos em ELP, a temperatura por exemplo influencia muito a recuperação de compostos fenólicos. Altas temperaturas favorecem a obtenção

de ácido gálico, porém degradam antocianinas termolábeis, sendo estas mais favorecidas a temperaturas abaixo de 110 °C (MONRAD et al., 2010; YAMMINE et al., 2018). Temperaturas muito baixas também não são suficientes para extrair compostos antioxidantes com alta eficiência (DE OLIVEIRA et al., 2018) e a degradação de diterpenos por exemplo começa a partir da temperatura de 60°C (BELANDRIA et al., 2016) indicando que é muito importante determinar quais compostos são desejáveis no extrato para selecionar os melhores parâmetros.

Um outro fator que influencia muito na extração de compostos fenólicos é o solvente, a presença de etanol em água aumenta a recuperação total de polifenóis (SPIGNO; TRAMELLI; DE FAVERI, 2007; MARIOTTI-CELIS et al., 2018) uma vez que a água somente como solvente não é muito seletiva podendo arrastar pigmentos e outros compostos (PAES et al., 2014; BELANDRIA et al., 2016). As antocianinas por exemplo são mais estáveis em meios ácidos, tornando a utilização de água acidificada como solvente interessante quando o foco é a extração destes compostos, mas uma mistura de etanol/água 50% também obtém boa recuperação destes compostos (PAES et al., 2014). Estudos anteriores provaram também que a extração ideal de polifenóis ocorrem em soluções de etanol e água a uma porcentagem entre 50 e 70 % (SPIGNO; TRAMELLI; DE FAVERI, 2007; GOMES, 2013; RAJHA et al., 2014; VIGANÓ et al., 2016).

3.2. Importância do extrato das folhas de *Passiflora edulis* Sims

O maracujá é um fruto de elevada importância comercial no Brasil apresentando mais de 550 mil toneladas produzidas no ano de 2017, sendo a região Nordeste a maior produtora de maracujá seguida pela região Sudeste (EMBRAPA, 2017). A *Passiflora edulis* Sims também é conhecida popularmente como maracujá-amarelo, maracujá-roxo, maracujá-azedo ou maracujá do mato (BERNACCI, 2003) sendo a *Passiflora edulis* Sims forma *flavicarpa* sua espécie mutante Degener (1932). Esta planta do gênero *passifloraceae* consiste em uma trepadeira herbácea ou lenhosa apresentando gavinhas auxiliares típicas de regiões tropicais e subtropicais dos continentes América e África especificadamente (BERNACCI, 2003).

As folhas do maracujá (*Passiflora edulis* Sims) são muito utilizadas na fitoterapia na produção de tinturas hidroalcólicas e alcólicas pois possuem efeito ansiolítico e sedativo (PETRY et al., 2001; BENINCÁ et al., 2007; DENG et al., 2010), sendo recomendada a dose de 0,5 a 2 mL de tintura diluídos em 50 mL de água (BRASIL, 2011). Além disso, estudos apontam que os extratos das folhas de *P. edulis* ajudam no tratamento de hipertensão, sintomas de menopausa e cólicas infantis (DHAWAN; DHAWAN; SHARMA, 2004) e ainda possui ação anti-inflamatória (GONÇALVES FILHO et al., 2006; BENINCÁ et al., 2007). Estudos recentes ainda indicaram que devido a sua alta concentração de compostos antioxidantes o extrato etanólico desta espécie é capaz de ajudar no tratamento de pacientes com câncer colo retal (RAMIREZ et al., 2019) e na redução de açúcar no sangue em pacientes com diabetes tipo II (CHANDRASEKHAR et al., 2018).

Seus efeitos benéficos à saúde se deve a sua composição em glicosídeos, fenóis, alcaloides, carotenoides e antocianinas (DHAWAN; DHAWAN; SHARMA, 2004). Os principais compostos fenólicos encontrados no extrato desta planta são vitexina, isovitexina, isorientina e orientina (PETRY et al., 2001; FERRERES et al., 2007; BERALDO, 2008; DA SILVA et al., 2013), e os principais alcaloides encontrados são a harmana, harmina, harmalina e o harmalol (LUTOMSKI and MALEK, 1975¹; LUTOMSKI et al., 1975² apud DHAWAN; DHAWAN; SHARMA, 2004). Em adição, também foi encontrado em extrato de *P. edulis* vitamina C, ácido clorogênico, ácido cafeico e flavonoides como quercetina e kaempferol (AGUILLÓN-OSMA et al., 2019). Neste projeto, o rendimento das extrações por ELP foi calculado considerando-se também as quantidades destas substâncias presentes nas folhas de maracujá, expressas em teor total de compostos fenólicos.

3.3. Planejamento Experimental

¹ LUTOMSKI, J.; MALEK, B. Pharmacochemical investigations on raw materials of the genus *Passiflora*. *Planta Medica*, v.27, p.381-384, 1975.

² LUTOMSKI, J.; KOWALEWSKI, Z.; DROST, K.; SCHMIDT, K. Sim pie carboline alkaloids. I. Thin-layer chromatography of harman alkaloids occurring in plant material and in preparations. *Herba Polonica*, v.13, n.1/2, p.44-52, 1967

O planejamento experimental é muito importante e amplamente utilizado, uma vez que o seu uso diminui o número de experimentos reduzindo a quantidade de amostra e o tempo utilizados no levantamento de dados experimentais.

O estudo do processo usando ferramenta estatística consiste, primeiramente, em selecionar as variáveis independentes, e escolher o *design* experimental. Em seguida, realiza-se análises estatísticas e matemáticas nos dados experimentais obtidos ajustando uma equação polinomial. A adequação do modelo é avaliada e então verifica-se a necessidade de um possível deslocamento na direção da região otimizada, alterando a faixa de valores das variáveis escolhidas (BEZERRA et al., 2008).

Para estimar os parâmetros dos processos que contém pelo menos 3 níveis de fatores existem *designs* simétricos que consistem em matrizes experimentais, os quais permitem a adequação de uma equação polinomial de segunda ordem. Dentre esses *designs* estão o Box-Behnken, o design composto central e o design Doehlert os quais são diferentes em relação à seleção de pontos experimentais bem como número de níveis, variáveis, execuções e blocos (BEZERRA et al., 2008).

3.4. Cinética de extração e modelagem

A extração sólido-líquido consiste na transferência de massa de um ou mais componentes de uma matriz sólida para o solvente. A extração ocorre inicialmente com o solvente umedecendo e sendo transferido para a superfície da fase sólida. Então, o solvente penetra o sólido por difusão molecular solubilizando os compostos com o qual possui afinidade até atingir a concentração de equilíbrio entre as fases. Por difusão molecular, esta solução formada retorna à superfície do sólido e então por convecção, retorna para o seio do líquido (PEREIRA, PRADO, MEIRELLES, MEIRELES, 2016).

A otimização de um processo envolve o estudo do rendimento global e de parâmetros cinéticos, uma vez que o rendimento global consiste na quantidade máxima de soluto que pode ser extraída de uma matriz sólida a uma determinada pressão e temperatura e está relacionado com a solubilidade do soluto no solvente. Para isso são construídas curvas globais de extração (Figura 1) as

quais consistem em um gráfico da quantidade de extrato obtida pelo tempo; geralmente, a curva global de extração é caracterizada por três períodos de tempo: taxa de extração constante, taxa de extração decrescente e taxa controlada por difusão (PEREIRA; MEIRELES, 2010).

Na etapa de taxa de extração constante há a presença de partículas facilmente acessíveis na superfície do sólido sendo a convecção, o principal mecanismo de transferência de massa. Há o início do esgotamento do soluto nas partes mais acessíveis do sólido e então a taxa de extração decresce, e nesta etapa há transferência de massa por difusão e convecção. Já na etapa de extração controlada pela difusão, há ausência de soluto facilmente acessível e a transferência de massa se dá principalmente por difusão (LEE et al., 1986).

Escoamentos reativos e fenômenos de transporte (calor e massa) podem ocorrer de forma simultânea e acoplada em bioprocessos de modo que a correspondente modelagem fenomenológica se torna complexa em decorrência de cinéticas químicas diversas, fronteiras móveis e composições variáveis encontradas em sistemas multifásicos e multicomponentes (DATTA, SABLANI, 2007).

Métodos analíticos podem ser usados; porém, as simplificações ou restrições introduzidas (a fim de permitir a dedução de soluções analíticas) tendem a descaracterizar o processo a ponto de comprometer a reprodução de dados experimentais e/ou de operação real bem como a simulação do processo dentro de limites aceitáveis de exatidão. Por outro lado, o escopo de aplicação de modelos '*data-driven*' pode estar limitado ao cenário em que os parâmetros heurísticos foram ajustados (SOUZA-SANTOS, 2010). Por fim, a pesquisa exclusivamente experimental de processos em diferentes cenários pode ficar comprometida por questões tecnológicas, de segurança ou principalmente financeiras (elevados custos materiais e/ou humanos).

Figura 1 Curva global de extração geral de rendimento global, representando o rendimento global em função do tempo.

Fonte: Adaptado de (ALBUQUERQUE, 2008).

Frente a tais limitações, a simulação numérica baseada em modelos fundamentais (*'physics-based'* ou ainda *'multiphysics-based'*) surge como alternativa estratégica para o estudo detalhado de processos, permitindo sua compreensão, *'scale-up'* e otimização sob diversas condições iniciais e de contorno (SAM SAGUY, 2016). Usada inicialmente com fins acadêmicos, a simulação numérica há muito tem se firmado como ferramenta de engenharia em diversos setores diretamente relacionados com pesquisa, desenvolvimento e inovação (PD&I) .

A extração com líquido pressurizado (ELP) já foi modelada como um processo difusional, caracterizado por uma difusividade efetiva do extrato (mistura complexa de solutos) no substrato (D_{ff}) ou matriz e adaptando as condições iniciais e de fronteira de acordo com o tipo de processo do ELP (estático ou dinâmico). Colivet et al. (2016) adotaram uma solução analítica simplificada para extração estática de ELP de óleo de sementes de melancia usando sete ciclos de 6 minutos em um estudo de ampliação no qual a razão S/F para cada ciclo foi mantida constante. Por outro lado, Rosa et al. (2016) aplicaram um modelo dinâmico unidimensional, o método de rede de Boltzmann

(LBM - Lattice Boltzmann Method) para simular a extração de cafestol e caveol de grãos de café verdes em um sistema ELP dinâmico. Seu modelo envolveu equações diferenciais parciais acopladas para descrever as concentrações de soluto no solvente pressurizado a quente e no substrato sólido, tendo D_{ff} , o coeficiente de partição sólido-fluido (K) e coeficiente de transferência de massa do filme no fluido (k_f) como parâmetros do modelo. Neste trabalho procurou-se aplicar um modelo que se ajuste aos dados experimentais de modo a determinar o coeficiente de difusividade e outros dados cinéticos.

3.5. Aumento de escala

O aumento de escala consiste em uma incumbência de produzir um resultado de processo idêntico, se possível, a uma taxa de produção maior do que a realizada em uma escala menor (VALENTAS, LEVINE, CLARK, 1991). Para o aumento de escala em um processo de alta pressão, mas que emprega fluido supercrítico, Prado; Prado; Meireles (2011) sugeriram manter constantes a razão entre massa de solvente e massa matéria - prima acondicionados na célula de extração bem como o tempo estático. Ainda segundo estes estudos, o critério matéria-prima/solvente (S/F) constante mostrou-se adequado e obteve sucesso pois os dados obtidos em escala laboratorial puderam prever o comportamento do processo em escala piloto. Estes autores otimizaram o processo em escala laboratorial, realizaram a modelagem e então aplicaram os mesmos parâmetros no equipamento em larga escala de modo que mantivesse constante a relação S/F. Apesar da co-extração da água ter aumentado com o aumento de escala, os autores demonstraram que o rendimento em escala piloto foi relativamente maior em relação ao equipamento de bancada.

Mezzomo, Martínez e Ferreira (2009) já haviam identificado que o melhor processo de aumento de escala da extração com fluido supercrítico é mantendo a relação S/F constante. Eles estudaram os parâmetros cinéticos e realizaram a modelagem com o modelo de Sovová e então aplicaram o aumento de escala.

Nesta pesquisa, os parâmetros de processo ajustados na otimização e a relação massa/solvente (S/F) foram mantidos na operação em maior escala. Os estudos realizados em escala laboratorial (extratores de até 34 mL) foram aplicados em uma escala piloto com extrator de 2 L.

3.6. Estimativa do custo de implantação

Para transferir o processo de uma escala laboratorial para uma escala industrial é necessária a análise de viabilidade econômica, tornando fundamental a demonstração de que a técnica poderá ser rentável. Na avaliação econômica é possível saber qual será o custo da unidade produtora, o custo de fabricação e propor o preço de venda do produto.

O custo de manufatura define se o processo é economicamente viável ou não e, portanto, deve ser estimado o mais próximo do real. Neste estudo, o custo fixo de investimento levantado poderá servir como base para um aumento de escala. O custo de manufatura de um processo de extração supercrítica que opera em um processo semi-contínuo envolve a utilização de dados experimentais tais como o rendimento global e as curvas de extração (ROSA; MEIRELES, 2005) e esses dados podem ser aplicados em extração com líquido pressurizado também.

Utilizada por Rosa e Meireles (2005) para determinar o custo de manufatura dos extratos produzidos via extração supercrítica, a metodologia desenvolvida por Turton et al. (1998) considera que o custo de manufatura (COM) é influenciado por uma série de fatores que podem ser subdivididos em três categorias: custos diretos, custos fixos e despesas gerais. Os custos diretos levam em conta despesas que dependem diretamente da taxa de produção, como matérias-primas, serviços e mão-de-obra. Os custos fixos são independentes da taxa de produção e envolvem impostos, seguro, depreciação dos equipamentos, etc. As despesas gerais são associadas com a manutenção de negócios, custos administrativos tais como, pesquisa e desenvolvimento, vendas e despesas, entre outros. Assim, seguindo o proposto por estes autores, o COM será estimado considerando o custo da matéria-prima, da mão-de-obra, dos serviços públicos, do tratamento de resíduos e investimento segundo a relação apresentada na Equação 1, onde COM é o custo de manufatura, FCI é o custo de investimento fixo, COL é o custo operacional, principalmente o de mão-de-obra, CUT é o custo de serviços e CWT é o custo de tratamento de resíduos.

$$COM = 0,304FCI + 2,73 COL + 1,23 \times (CUT + CWT + CRM) \quad (1)$$

Rosa e Meireles (2005), consideraram o preço da matéria-prima vegetal e do solvente como o preço de todo material relacionado à produção. Neste projeto pode-se considerar o preço das folhas de maracujá secas, do solvente (etanol 70 %) bem como do gás nitrogênio utilizado na purga final do extrator. Os autores ainda levaram em conta o pré-processamento da matéria-prima antes da extração como secagem, limpeza, trituração e classificação, e negligenciaram o custo de tratamento de resíduos uma vez que a matéria-prima vegetal exaurida pode ser incorporada no solo. Para estimar o custo de manufatura (COM), sempre é necessário conhecer o tempo de extração e seu rendimento e para obter a mesma performance da escala laboratorial deve-se manter constantes o tamanho das partículas, a densidade do leito e a relação entre massa de sólidos e massa de solvente.

4. Material e métodos

4.1. Obtenção e caracterização da matéria-prima

As folhas de *Passiflora edulis* Sims foram obtidas por doação e colhidas no Sítio Três Palmeiras na cidade de Analândia, SP (22° 10' 45,9" Sul e 47° 42' 56,9" Oeste e cerca de 800 m acima do nível do mar) próxima a Rodovia Deputado Rogê. Segundo o produtor, as sementes foram compradas da Viveiros Flora Brasil a qual comercializa as espécies *P. edulis* Sims f. *Flavicarpa* Deg de cultivares FB300 e FB200. Após a colheita dos ramos, as folhas foram levadas até o Laboratório de Tecnologia de Alta Pressão e Produtos Naturais (LTAPPN) da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos em Pirassununga (FZEA) da Universidade de São Paulo (USP).

As folhas foram separadas dos ramos e então foram secas em estufa a 45 °C durante 48 horas. Após a secagem, as folhas foram trituradas e peneiradas com a peneira de mesh 10 (1,7 mm de diâmetro) (Bertel Indústria metalúrgica Ltda, Caieiras, Brasil) para obter partículas de folhas com diâmetros menores que este. Então as partículas de folhas foram armazenadas em freezer a – 18°C, na ausência de luz e em embalagens impermeáveis ao vapor d'água. Análises

bromatológicas como determinação da fração lipídica (AOAC 920.39B) proteica (AOAC 955.04), umidade (AOAC 934.01), cinzas (AOAC 900.02) e carboidratos simples e fibra bruta (AOAC 931.02 e 930.10) foram feitas segundo métodos da Association of Official Agricultural Chemists (AOAC, 2005).

Foi realizada análise de granulometria para determinação do tamanho médio das partículas de folhas de maracujá utilizando um conjunto de peneiras da série Tyler (Bertel Indústria metalúrgica Ltda, Caieiras, Brasil). Uma massa conhecida de 107,03 g de partículas foi depositada nas peneiras sobre um vibrador, e agitadas por 10 minutos até se distribuírem pelas peneiras de acordo com seu tamanho de abertura. A massa retida em cada peneira foi determinada e então o diâmetro médio das partículas foi calculado de acordo com a Equação 2, o diâmetro de Sauter, onde $D_i = (d_{N-1} + d_i)/2$ sendo d_i o diâmetro de abertura a i -ésima peneira em mm e d_{n-1} é a abertura nominal da peneira logo abaixo (mm) e x_i é a fração mássica de partículas retida na i -ésima peneira.

$$d_{ps} = \left[\frac{1}{\sum_{j=1}^n \left(\frac{x_i}{D_i} \right)} \right] \quad (2)$$

A densidade real das folhas de maracujá trituradas foi determinada pela Central Analítica do Instituto de Química da Universidade Estadual de Campinas com a utilização de um picnômetro a gás (Quantachrome Ultrapyc 1200e, FL, USA) e balança analítica. O gás utilizado foi o hélio e a densidade real foi determinada pelo deslocamento do gás. A determinação da densidade aparente foi realizada pela razão entre a massa de folhas de maracujá e o volume da célula de extração. A porosidade do leito (ε) foi determinada pela Equação 3 em que ρ_a é a densidade aparente e ρ_r é a densidade real.

$$\varepsilon = 1 - \frac{\rho_a}{\rho_r} \quad (3)$$

4.2. Extração com Líquido Pressurizado (ELP)

As extrações foram realizadas com uma solução de etanol 70%, uma vez que o Formulário de Fitoterápicos da Farmacopeia Brasileira de 2011 (BRASIL, 2011) indica o uso deste solvente para a produção de tinturas. Além de ser uma

mistura de solventes biocompatível, renovável e de baixo custo (YAMMINE et al., 2018). Outra vantagem no emprego de etanol 70% refere-se à eficiência na extração de polifenóis, comprovada em estudos anteriores que demonstraram que a extração ideal de polifenóis ocorre em soluções de etanol e água a uma porcentagem entre 50 e 70% (SPIGNO; TRAMELLI; DE FAVERI, 2007; GOMES, 2013; RAJHA et al., 2014).

A ELP em um processo intermitente de purga de solvente, cujo fluxograma é apresentado na Figura 2, inicia-se com o empacotamento da célula do extrator com amostra. No sistema automatizado do equipamento em escala laboratorial ou manualmente no equipamento em escala piloto, escolhe-se os parâmetros de extração como a Temperatura (T), Volume de Solvente usado no enxague em cada ciclo (VS), o número de ciclos (C) e Tempo Estático de contato entre o solvente e a matriz em cada ciclo (tE). O Tempo de Purga é fixo em 100s assim como a Pressão de 1500 psi ou 10,35 MPa. A célula de extração é então acoplada no forno do equipamento (escala laboratorial) e inicia-se o processo. O solvente é bombeado para dentro da célula até atingir a pressão de 1500 psi (ocasionalmente a válvula estática se abre para manter a pressão do sistema constante, pois o solvente entra à T ambiente e é aquecido durante o processo). Ao atingir P e T desejadas, inicia-se então o primeiro tempo estático de contato e então o primeiro ciclo. Tendo sido finalizado o tempo de contato, a válvula estática se abre liberando extrato para o vaso coletor e é bombeado mais solvente puro para a célula. Porém, esta quantidade de solvente a ser renovada consiste na porcentagem de volume de solvente da célula dividido pelo número de ciclos. Após o último tempo estático, é feita a última coleta do extrato e a válvula de purga é aberta e então o gás nitrogênio arrasta todo o extrato remanescente na célula para o vaso coletor. O extrato consiste na coleta única de todos os ciclos juntos. Em seguida, a válvula de alívio de pressão se abre e então ocorre a despressurização do sistema e a extração se finaliza (THERMO SCIENTIFIC, 2011).

Figura 2. Esquema de funcionamento do equipamento de extração ASE escala laboratorial.

Fonte: Adaptado de (THERMO SCIENTIFIC, 2011).

Considerando que são quatro as variáveis de controle do processo de extração com líquido pressurizado (ELP) (temperatura – T , volume de enxague do solvente – VS , tempo de contato entre o solvente e a matriz em cada ciclo, denominado tempo estático – tE e o número de ciclo, ou o número de bateladas – C) foi adotado um sequenciamento de planejamento fatorial para avaliar o efeito de cada variável de processo no rendimento dos extratos e no teor de compostos fenólicos. A Tabela 1 apresenta o delineamento fatorial fracionado com as variáveis codificadas que foi aplicado no estudo do processo. Este planejamento preliminar foi usado com objetivo de fazer uma varredura e identificar as principais variáveis do processo. A faixa de valores reais (Tabela

2) foi adotada com base em referências bibliográficas sobre otimização de processos de extração de óleos ou de outros extratos vegetais, tendo também por base os ensaios anteriormente realizados pelos pesquisadores do LTAPPN (OLIVEIRA et al., 2014; COLIVET; OLIVEIRA; CARVALHO, 2016; ROSA et al., 2016; DE OLIVEIRA et al., 2018; OKIYAMA et al., 2018).

Tabela 1- Delineamento fatorial fracionário 2^{4-1} para otimização do processo de extração com solvente pressurizado (variáveis codificadas).

Ensaio	T (°C)	VS (%)	tE (min)	C (nº)
1	-1	-1	-1	-1
2	+1	-1	-1	+1
3	-1	+1	-1	+1
4	+1	+1	-1	-1
5	-1	-1	+1	+1
6	+1	-1	+1	-1
7	-1	+1	+1	-1
8	+1	+1	+1	+1
9	0	0	0	0
10	0	0	0	0
11	0	0	0	0
12	0	0	0	0

Variáveis do processo: Temperatura (T), Porcentagem de volume de solvente (VS), Tempo Estático (tE) e Número de Ciclos (C). Fonte: Própria autoria.

Tabela 2 - Valores de cada nível dos quatro fatores do processo de extração com solvente pressurizado do Delineamento fatorial fracionário 2^{4-1} para os extratos de maracujá.

Valores dos níveis para a obtenção de extratos de maracujá			
Fatores	-1	0	1
T (°C)	60	70	80
VS (%)*	60	80	100
tE (min)	6	8	10
C (nº)	3	4	5

Variáveis do processo: Temperatura (T), Porcentagem de volume de solvente (VS), Tempo Estático (tE) e Número de Ciclos (C).

* O Volume está sendo dado em % do volume do extrator de 34mL.

Fonte: Própria autoria.

Como se trata de uma extração exaustiva, o volume do solvente total é composto pelo solvente usado para preencher os espaços vazios no extrator até que a pressão e temperatura do processo sejam alcançadas somado ao volume de enxague usado em cada ciclo. O volume total de enxague está definido em função do volume do extrator, o qual é dividido pelo número de ciclos. Por

exemplo se for utilizado 100% do volume do extrator de 2 L como volume de enxague (VS), em um processo com 4 ciclos (C), então, em cada ciclo será empregado 500 mL de solvente, que entra no extrator na medida em que o extrato é purgado ao final de cada ciclo.

A partir dos resultados obtidos no delineamento fatorial fracionário proposto foi realizado um Planejamento Composto Central Rotacional (DCCR) para 3 variáveis, fixando-se a variável tempo estático (tE) para 6 minutos, uma vez que o efeito do tempo estático foi negativo para a concentração de fenólicos totais e esta variável foi a que possuiu menor efeito em rendimento global ao nível de confiança de 90%. O DCCR apresentou 17 ensaios, sendo 3 pontos centrais e 6 axiais, com o valor de alfa (α) igual a $\pm 1,673$. Os níveis e seus respectivos valores utilizados para este planejamento experimental estão apresentados na Tabela 3. Ressalta-se que, devido às limitações do equipamento, as temperaturas, os números de ciclos e porcentagens de volume de solvente de enxague com números decimais foram substituídas pelos valores correspondentes ao número inteiro mais próximo, ou seja, as temperaturas de 46,6 e 113,4 °C foram substituídas por 47°C e 113°C respectivamente, porcentagens de solvente de 66,6% e 133,4% foram substituídas por 67% e 133% respectivamente e os números de ciclos 1,33 e 4,57 foram substituídos por 1 e 5 respectivamente.

As variáveis de processo analisadas no planejamento experimental (Tabela 3) foram o volume de solvente de enxague (VS, %), o número de ciclos (C) e a temperatura (T). As variáveis independentes flutuaram de 47 a 113 °C para T, 67 a 133 % de 34 mL (volume da célula do extrator) para volume de enxague do solvente (VS) e de 1 a 5 para N. Outros parâmetros, como tempo estático (tE = 6 min), pressão (P = 10,35 MPa) e tempo de purga de nitrogênio (tP = 100 s), foram mantidos constantes na extração.

As variáveis dependentes analisadas foram rendimento global (X_0), conteúdo fenólico total (CFT), teor de flavonóides totais (FVT) e consumo de energia (CE) durante o processo para obtenção dos extratos. Um modelo polinomial completo envolvendo os efeitos principais (termos de primeira ordem), os termos de interação entre as variáveis e os termos de segunda ordem foram usados para ajustar as respostas aos dados experimentais obtidos (Equação 4)

$$Y = \beta_0 + \beta_1 x_1 + \beta_2 x_2 + \beta_3 x_3 + \beta_{12} x_1 x_2 + \beta_{13} x_1 x_3 + \beta_{23} x_2 x_3 + \beta_{11} x_1^2 + \beta_{22} x_2^2 + \beta_{33} x_3^2 \quad (4)$$

onde Y é a variável dependente ou resposta, β_0 é um coeficiente constante dos modelos em que x_1 , x_2 e x_3 representam as variáveis independentes codificadas, com $x_1 = T$, $x_2 = VS$ e $x_3 = C$, variando de ± 1.673 (Tabela 3); cada valor de β são os coeficientes de regressão a serem determinados.

Os resultados experimentais foram analisados por meio do programa Statistica (StatSoft, Inc., v.13.0, EUA) para identificar os efeitos das variáveis do processo nas respostas de interesse. Para verificar a qualidade do ajuste do modelo estatístico, foi realizada a análise de variância (ANOVA) com nível de confiança de 95% na avaliação do efeito de cada variável. Visando identificar a qualidade dos ajustes, aplicou-se o método de análise de superfície de resposta (ASR). Na ASR é possível visualizar as melhores condições de operação indicada pelos modelos validados.

Tabela 3 - Valores de cada nível dos três fatores do processo de extração com solvente pressurizado do Design do Composto Central Rotacional na obtenção de extratos de maracujá.

Fatores	Valores de cada nível de fatores				
	-1,67	-1	0	1	1,67
Temperatura (°C)	46,6	60	80	100	113,4
Volume de solvente* (%)	66,6	80	100	120	133,4
Número de Ciclos (C)	1,33	2	3	4	4,57

* O Volume está sendo dado em % do volume do extrator de 34mL.

Fonte: Própria autoria.

Nos ensaios em escala laboratorial, a célula de extração usada foi a de 34 cm³. Foi preenchida com folhas de maracujá trituradas (7 g), e acondicionada no forno do equipamento (ASE 150, Dionex, Sunnyvale, CA, USA) na posição vertical.

O rendimento global foi determinado pela relação entre a massa de extrato seco obtido e a massa de matéria-prima inicial. Para conhecer os sólidos secos extraídos, após a extração, os extratos foram submetidos à rotoevaporação a 50 °C em um rotoevaporador RE 41 (YAMATO SCIENTIFIC, Tóquio, Japão) acoplado em um banho termostatzado (MARCONI, MA-120, Piracicaba, BR)

para redução do volume de solvente. O extrato foi então levado a uma estufa a 105 °C por 24 h (até peso constante).

Além do rendimento global (X_0) como resposta, ainda foram avaliados os constituintes minoritários presentes nos extratos, os quais desempenham alguma atividade, sendo eles os polifenóis e flavonoides totais. A determinação destes compostos nas tinturas obtidas está descrita na seção 4.4 bem como o consumo de energia do processo.

4.3. Extração via percolação

A extração via percolação foi feita com intuito de comparação com os resultados obtidos pelo emprego da ELP. A percolação é o método convencional de obtenção de tintura no Brasil. A tintura da folha de maracujá, segundo o Formulário Fitoterápico da Farmacopeia Brasileira (BRASIL, 2011) é preparada via percolação utilizando etanol 70%. Para extração da tintura por método convencional, foram umedecidos em quantidade suficiente (mL) de etanol 70 % (v/v) cerca de 7 g de folhas secas e trituradas de maracujá. A mistura ficou em repouso por 2 horas em recipiente fechado (Becker). Então, após forrar o fundo do percolador com algodão, a mistura foi transferida, em camadas superpostas aplicando-se leve pressão. As superfícies entre camadas foram forradas de algodão sobre a qual foram espalhadas pérolas de vidro (Figura 3). O etanol 70 % foi despejado lentamente até eliminar o ar entre as partículas. Após repouso de 24 horas, adicionou-se etanol 70 % constantemente até extrair o volume de aproximadamente 70 mL, o que correspondia ao volume total de extrato obtido na ELP.

Com intuito de comparação dos extratos, foram realizadas as mesmas análises nos extratos obtidos por percolação e ELP (conforme descrito em 4.4.1 e 4.4.2) além da determinação do rendimento global (X_0).

Figura 3. Extração de compostos bioativos de folhas de maracujá pelo método de percolação.

Percolador com as folhas de maracujá. À esquerda temos o processo antes das 24 horas e à direita após esse período de tempo, demonstrando a coleta do extrato.

Fonte: Própria autoria.

4.4. Caracterização dos extratos de folhas de maracujá (*Passiflora edulis* Sims)

4.4.1. Conteúdo de polifenóis totais (CFT)

A conteúdo ou teor de compostos fenólicos totais (CFT) foi determinada pela capacidade redutora do reagente Folin-Ciocalteu, de acordo com a metodologia de Singleton e Rossi (1965). Alíquotas de solução de ácido gálico foram usadas para a construção da curva padrão e o teor de CFT foi expresso em equivalentes à ácido gálico (EAG). Na análise, 100 μL do extrato da planta foram diluídos em etanol 70 % em balão volumétrico de 10 mL. Em 0,5 mL de amostra diluída foram adicionados de 2,5 mL do reagente Folin-Ciocalteu diluído em água destilada na proporção de 1/10 (v/v). A mistura foi agitada e deixada em repouso por 8 min à temperatura ambiente antes da adição de 2 mL da solução saturada de Na_2CO_3 diluído em água destilada na concentração de 7,5%

(m:v). A mistura foi agitada em vórtex, mantida em repouso em ambiente escuro, e a absorbância foi medida em espectrofotômetro (Biochrom Libra S22 - Cambridge, Inglaterra) à 765 nm após 2 h de reação. O etanol 70% foi utilizado como branco. Os ensaios foram realizados em triplicata e expressos em mg de Equivalentes de Ácido Gálico por grama de folhas secas (mg EAG/g folha seca).

4.4.2. Concentração de flavonoides totais

A análise de flavonoides totais (FVT) foi feita de acordo com a metodologia de Zhishen; Mengcheng; Jianming, (1999) descrita por Kim; Jeong; Lee, (2003). Uma alíquota de 1 mL contendo soluções diluídas de quercetina foi utilizada para a construção da curva padrão, os resultados foram expressos em equivalentes em quercetina (EQUER). Nesta análise, 1 mL do extrato em etanol 70 % (v/v) foi adicionado à um tubo de ensaio contendo 4 mL de água destilada. No tempo zero, 0,3 mL de uma solução de NaNO_2 (5%, m/v) foi adicionada ao tubo. Após 5 min, 0,3 mL de AlCl_3 (10% m/v) foi adicionado. Após 1 min, 2 mL de uma solução de NaOH (1 M) foi adicionado. Após agitação em Vortex, adicionou-se 2,4 mL de água destilada seguida por agitação novamente. A absorbância da mistura foi determinada à 510 nm em um espectrofotômetro (Biochrom Libra S22 -Cambridge, Inglaterra). Os resultados foram expressos em miligramas Equivalentes de Quercetina por grama de folhas secas (mg EQUER/g folha seca).

4.5. Monitoramento do consumo de energia durante o processo

O consumo de energia deste processo foi feito com intuito de integrar as análises técnico-econômicas do equipamento de extração com líquido pressurizado (ELP), especificamente na comparação do consumo de energia em escala laboratorial e piloto. Este consumo não foi estimado, mas sim medido *in locum* durante as extrações em ambos os equipamentos.

O monitoramento do consumo de energia durante o processo foi realizado através de um analisador de grandezas elétricas e de qualidade de energia SAGA 4500 Modelo 1330 (ESB Electronic Services, São Paulo, Brasil). Este instrumento foi conectado à rede de energia que realizou a alimentação dos

equipamentos propostos. No equipamento em escala piloto, as medidas foram feitas na bomba e no banho termostatizado que aquecia o silicone líquido que circulada pelo tanque encamisado, mantendo a temperatura de extração constante durante o processo. As medidas foram tomadas por meio de aquisição digital de parâmetros elétricos e processamento numérico em tempo real. As grandezas elétricas, monitoradas de forma não intrusiva, foram a tensão, corrente, frequência, potência ativa, potência reativa, potência aparente e fator de potência. Estes dados foram coletados a cada 2 segundos. O SAGA 4500 é um instrumento que não tem uma capacidade de coletar com precisão pequenas quantidades de energia como aquela consumida no equipamento em escala laboratorial, por isso levou-se em conta todas as medidas de potência coletadas a cada 2 s (quando o padrão em medições seria a cada 15 min). Estas medições foram integradas, integração da área das potências no tempo, para obtenção do consumo aferido para cada ensaio utilizando o software PLAWIN 4500.

4.6. Medida da cinética e modelagem do processo

A partir das condições operacionais otimizadas, levando em conta a faixa de temperatura que apresentou um melhor rendimento global (X_0) na otimização (80, 90 e 100°C), fez-se as curvas de extração geral do processo de obtenção de tintura de folhas de maracujá via ELP. As extrações foram feitas em escala laboratorial no ASE 150 (Dionex, Sunnyvale, CA, USA) nestas três diferentes temperaturas. Para a construção da cinética foram feitas 19 coletas, simulando ciclos com renovação total de solvente em diferentes tempos (3, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 45, 55, 65, 75, 85, 95, 105, 115, 125, 135 e 145 min). A célula de extração utilizada foi a de capacidade 34 mL e a quantidade de folha utilizada foi em torno de 7g. Para cada ciclo, foi coletado o extrato obtido e rotoevaporado a 50 °C, como já descrito anteriormente, e em seguida cada extrato foi levado a uma estufa para secagem total durante 24 h a 105 °C para obtenção dos sólidos totais extraídos em cada coleta.

As extrações ocorreram a pressão fixa de 10,35 MPa, com 100 s de purga de nitrogênio, 0 % de porcentagem de volume de solvente no enxague, ou seja, a construção desta cinética simulou um processo de extração semi-contínuo, mas sem purga do extrato em cada ciclo como, normalmente, ocorre no processo

intermitente de purga do extrato. A construção desta cinética foi utilizada para determinação da difusividade mássica efetiva D_{eff} . O processo pode também ser tratado como um estágio único com ciclos de solventes puros e ser analisado de outra maneira, no entanto, optou-se pelo estudo da cinética e determinação da difusividade. As pesagens foram feitas de modo a se obter a massa de solvente restante na matriz após a extração, a massa de extrato obtida (soluto + solvente) e a massa de sólidos totais obtida após evaporação completa do solvente, permitindo, assim a realização do balanço de massa que forneceu a concentração do extrato. A célula de extração utilizada foi a de volume igual a 34 mL, cujo diâmetro é igual a 2,8 cm e comprimento 5,2 cm.

Para avaliar o processo intermitente de obtenção da tintura do extrato de folhas de maracujá, realizou-se a extração na condição otimizada (ensaio 9 do DCCR) que empregou 100 °C, volume de enxague de 120 % o volume do extrator ($V_S \approx 40,8$ mL), 4 ciclos de 6 min e, coletou-se os extratos obtidos em cada ciclo da extração, os quais foram rotoevaporados a 50 °C e levados para a estufa por 24 h a 105 °C para obtenção do rendimento global (X_0), além disso, foram anotados os volumes de solvente total (preenchimento dos espaços vazios + enxágue) utilizados em cada ciclo (informação dada pelo próprio equipamento).

As partículas sólidas de folha de maracujá foram consideradas como sendo esféricas. Então, o modelo Lei de Fick para a difusão foi ajustado ao perfil de cinética e, a partir dos dados experimentais, se obteve a difusividade mássica efetiva D_{eff} (m^2/s) para o material particulado, como apresentado pela Equação 5 (CRANK, 1975; RAMOS et al., 2016).

$$\frac{\partial c}{\partial t} = D_{eff} \left(\frac{\partial^2 c}{\partial r^2} + \frac{2}{r} \frac{\partial c}{\partial r} \right) \quad (5)$$

em que D_{eff} é o coeficiente de difusividade mássica efetiva (m^2/s), c (g/g) é a concentração de extrato seco distribuída ao longo do raio partícula (r , m) a qualquer instante (t , s).

A solução analítica é obtida por meio de condições de contorno da concentração de equilíbrio de extrato seco na superfície das partículas ($c_1^{eq} = 0$), e a quantidade total de extrato seco (c_1), em g/g, que migra das micropartículas para o solvente, como mostra a Equação 6 (CRANK, 1975). Nesta equação, r é

a dimensão em coordenada cilíndrica para a partícula esférica de folha de maracujá. O raio da partícula R_s foi a metade do diâmetro ($\bar{d}$), determinado pelo pico da distribuição do tamanho de partículas, ou seja, $\bar{d} = 2R_s$. O termo c_t (g/g) é a concentração de extrato seco no instante t . O termo c_1^{in} (g/g) é a concentração inicial de extrato seco no domínio sólido. O termo c_1^{eq} (g/g) é a concentração de equilíbrio para a fase solvente, e que neste estudo foi considerada igual a zero.

$$c_r = \frac{6}{\pi^2} \sum_{n=1}^{\infty} \frac{1}{n^2} \exp\left(-\frac{n^2 \pi^2 D_{eff} t}{R_s^2}\right) \quad (6)$$

sendo que o termo adimensional de concentração c_r é definido pela Equação 7.

$$c_r = \frac{c_1 - c_1^{eq}}{c_1^{in} - c_1^{eq}} \quad (7)$$

4.6.1. Estudo de caso 1: Cinética de extração em purga semi-contínua ou curva de extração geral

O estudo de caso 1 foi realizado por meio de ensaios de cinética de extração em que se obteve a extração completa de extrato seco no domínio sólido. Os ensaios foram conduzidos por meio de bateladas (ciclos) em intervalos de até 10 min e duração total de 145 min. Este procedimento permitiu o esgotamento da fração de soluto na matriz. A cada batelada ou ciclo foi utilizado renovação total de solvente. O estudo de caso 1 utilizou temperaturas para o solvente iguais a 80, 90 e 100 °C com as demais variáveis fixas, como descrito anteriormente.

Para o estudo de caso 1, o modelo de extração considerou a concentração residual na partícula ($c_1^{eq} = 0$) como sendo nula, no equilíbrio.

A concentração inicial (c_1^{in}) de extrato seco nas partículas de folhas de maracujá foi obtida pela razão entre a massa seca de folhas no início da extração e (m_{in}) e após 145 minutos de extração (m_{out}), como apresentado pela Equação 8.

$$c_1^{in} = \frac{m_{in} - m_{out}}{m_{in}} \quad (8)$$

Os perfis de cinética de extração foram traçados de acordo com a concentração de soluto ao longo do tempo de extração e a solução analítica de Fick para coordenadas cilíndricas. Dessa forma, foi determinada a difusividade mássica efetiva, D_{eff} (m²/s), para cada temperatura.

4.6.2. Estudo de caso 2: Extração por purga intermitente.

No estudo de caso 2, o processo de extração por purga intermitente utilizou redução no volume de solvente, e intervalos de purga mais espaçados, quando comparado com o estudo de caso 1. Os ciclos de extração foram espaçados em 6 min, totalizando 4 ciclos. A temperatura do solvente foi igual a 100 °C.

Neste caso, a concentração de extrato ao longo da purga intermitente (c_2^{purga}) foi estimada pela massa de folha inicial (m_{in}), a massa de folha no tempo i (m_{out} obtidas por balanço de massa), e a concentração inicial (c_1^{in}) obtida a partir da remoção completa de extrato obtida no estudo de caso 1 (Equação 9). Ou seja, a concentração de extrato nas partículas ao longo de cada ciclo foi igual a razão da diferença entre a massa inicial de extrato presente nas folhas e a massa de extrato que saiu em cada purga no processo intermitente da ELP pela massa de folha no tempo da purga i .

$$c_2^{purga} = \frac{m_{in} \cdot c_1^{in} - \sum(m_{in} - m_{out})}{\sum m_{out}} \quad (9)$$

O estudo de caso 2 também utilizou a solução analítica de Fick (Eq. 6), com adaptações em algumas condições de contorno, como descrito a seguir.

O primeiro ciclo de extração do estudo de caso 2 utilizou como modelo de extração a solução de Fick do estudo de caso 1 (Eq. 10).

$$c_r = \frac{c_2 - c_2^{eq}}{c_1^{in} - c_2^{eq}} \quad (10)$$

em que, ($c_2^{in} = c_1^{in}$) corresponde à concentração inicial de extrato seco, obtida pela extração total no estudo de caso 1. A concentração de equilíbrio na superfície da partícula foi considerada como sendo nula ($c_2^{eq} = 0$).

Para os ciclos 2, 3 e 4 levou-se em consideração que neste estudo de caso, a limitação de solvente produziu uma extração incompleta. Ao final de cada ciclo, a concentração residual de extrato seco foi representada pelo termo c_2^{res} (g/g). Por exemplo, a concentração inicial do ciclo 2 foi igual à concentração residual para o ciclo 1, e a expressão generalizada é dada pela Equação 11.

$$c_{2;(i)}^{in} = c_{2;(i-1)}^{res} \quad (11)$$

Em consequência, o modelo de Fick utilizado para os ciclos posteriores ao primeiro ciclo é apresentado pela Eq. 12.

$$C_r = \frac{c_{2i} - c_2^{eq}}{c_{2;(i-1)}^{res} - c_2^{eq}} \quad (12)$$

O método de otimização Lovenberg- Marquardt foi escolhido para realizar a regressão de mínimos quadrados da Equação 6, usando o Software Mathematica Wolfram v.11.2.

4.7. Aumento de escala

Após a otimização da obtenção da tintura de folhas de maracujá (*Passiflora edulis* Sims) por ELP, foi experimentalmente estudado o aumento de escala com base nos fatores que limitam a transferência de massa durante a extração. O método fácil de escalonamento adotado consistiu em manter a relação massa/solvente constantes, além disso, o tempo estático (tE), tempo de contato entre o solvente e a matriz em cada ciclo, foi conservado da menor para maior escala. Além disso, foram mantidos constantes também o tamanho das partículas e a densidade do leito (ROSA; MEIRELES, 2005). O consumo de energia na condição otimizada também foi dimensionado conforme descrito na seção 4.5. O rendimento global (X_0) na extração em escala piloto foi determinado como resposta à análise do processo.

A Figura 4 mostra um esquema do equipamento em escala piloto, o qual é constituído de um extrator com capacidade de 2 L construído em aço inoxidável com camisa. O silicone líquido, aquecido no banho termostático circula pela

camisa para manter a temperatura do sistema constante. A leitura e controle da temperatura do sistema são feitos por termopares instalados no extrator e além do termopar do próprio banho.

Os reservatórios de solvente, de coleta de extrato e de resíduo de solvente são de vidro. A bomba consiste em uma bomba de equipamento de cromatografia líquida da SHIMADZU (Serial nº L205457, Nishinokyo Kuwabara-cho, Nakagyo-ku, Kyoto, Japão). O equipamento contém também um sistema de válvulas tais como as de alívio de pressão para segurança do equipamento, válvula de purga de nitrogênio e válvula de controle de vazão na entrada do coletor de extrato. A remoção do extrato na célula de extração é realizada pela injeção de nitrogênio (N₂) que força a saída para o frasco de coleta bem como evita a oxidação de compostos ativos presentes no extrato. A pressão do sistema é controlada pela válvula *back-pressure* na saída do extrator. Na Figura 5 apresenta-se o equipamento construído em escala piloto, com alguns de seus componentes em evidência.

Para manter a relação massa de solvente/massa de folhas (S/F) na ELP em escala piloto, algumas considerações foram feitas. Na ELP em escala laboratorial utilizou-se a célula de extração de 34 mL e 7 g de folhas secas, então, para uma célula de 2 L, em escala piloto, foram necessárias 412 g de folhas secas. Durante o funcionamento, o equipamento em escala piloto apresentou limitações, provavelmente no bombeamento do silicone líquido. No banho termostatizado o silicone líquido chegou em temperaturas superiores à 140 °C, no entanto, a temperatura máxima alcançada no tanque encamisado foi de 80 °C. Desta forma escolheu-se o ensaio 16 do DCCR (Tabela 9) para reproduzi-lo em escala piloto ao invés do ensaio 9, como previsto. O ensaio 16 ocorreu à 80 °C, com volume de enxague de 100 % o valor do volume do extrator de 2 L, dividido em 5 ciclos (C) com o tempo estático (tE) de 6 min.

Em escala piloto, a célula de extração (2 L) foi preenchida com 412 g de folhas secas e trituradas de *Passiflora edulis* Sims, e então o solvente foi bombeado para o interior da célula até o preenchimento dos espaços vazios para o ajuste de T e P (10,35 MPa), totalizando 1.568 mL aproximadamente. O volume de solvente utilizado no enxague em cada ciclo (VS = 100 %) consistiu em 2 L dividido por 5 ciclos, ou seja, cada ciclo recebeu 400 mL de solvente durante a purga do extrato após 6 min de contato no extrator. No último ciclo, após os 6

min de tempo de contato, ocorreu o último enxague de 400 mL e por fim a purga de todo o extrato remanescente utilizando nitrogênio (N_2) durante 12 min, uma vez que este tempo de purga com N_2 foi suficiente para retirar todo extrato remanescente no extrator. O volume de solvente (etanol 70 %) gasto na extração foi de 3,7 litros.

Figura 4. Esquema de um equipamento de extração com líquido pressurizado proposto para ampliação de escala.

Fonte: Autoria da orientadora.

Figura 5. Equipamento de extração com líquido pressurizado (ELP) construído em escala piloto

Equipamento de extração com líquido pressurizado (ELP) construído em escala piloto (A) bomba de líquido, (B) extrator encamisado, (C) reservatório do solvente, (D) tanque de coleta, (E) válvula back-pressure, (F) banho termostatizado com silicone líquido, (G) Cilindro de N₂
Fonte: Própria autoria.

4.8. Análise econômica

No presente estudo o custo de produção (Cost of Manufacturing – COM) para o processamento das folhas de maracujá através da tecnologia de extração com líquido pressurizado (ELP) em um processo intermitente com purga do extrato foi avaliado. O sistema de extração em escala piloto e uma escala maior de produção foram consideradas nas estimativas do COM e, as considerações para isto são apresentadas na Tabela 4.

O Sistema 1 (1×2 L) representa o sistema de extração em escala piloto construído no Laboratório de Tecnologia de Alta Pressão e Produtos Naturais - LTAPPN/FZEA, o qual é equipado com um vaso de extração de 2 L e sistema manual de controle. O Sistema 2 (2×2 L) representa um sistema de escala piloto com dois vasos de extração de 2 L projetado para trabalhar em modo semi-contínuo, enquanto um sistema está em operação, o outro está sendo preparado para ser operado, e com sistema automático de controle. Os sistemas 3 (2×10 L), 4 (2×50 L) e 5 (2×100 L) representam o aumento de escala nível industrial do processo tendo como base o Sistema 2. Os custos de aquisição dos equipamentos (sistemas) foram estimados em parceria com a empresa brasileira Singularity Extraction Technology Serviços LTDA.

Para o estudo da análise econômica, os modelos de processo dos sistemas mencionados foram construídos no simulador SuperPro Designer® version 8.5 (Intelligen Inc., Scotch Plains, NJ, USA), com auxílio do Dr. Pedro Ivo Nunes, sócio proprietário da empresa Singularity Extraction Technology Serviços LTDA e são apresentados na Figura 6.

Para a estimativa do COM nos sistemas 1×2 L e 2×2 L foram utilizados os dados experimentais apresentados no item 4.7. Os mesmos dados experimentais foram utilizados para os demais sistemas de extração em escalas maiores. Contudo, o critério de aumento de escala assumido considerou que o comportamento da extração em escalas maiores fosse semelhante ao comportamento obtido experimentalmente na escala piloto com vasos de 2 L. Essa consideração é válida desde que algumas condições de processo, como, razão massa de solvente /alimentação, massa de folhas de maracujá (S/F), tempo de extração (total e o tempo estático – t_E), pressão (10,35 MPa),

temperatura (80 °C), a densidade real das folhas (1.300,0 kg/m³), a densidade aparente (206,0 kg/m³) e a porosidade do leito (0,84), sejam mantidas constantes. Considerou-se também o volume de enxague VS = 100% o volume do extrator (2 L) dividido em 5 ciclos (C) de 6 min de tempo estático (tE).

Tabela 4 - Principais parâmetros utilizados para a análise econômica para a estimativa do COM

Parâmetros econômicos	Custo (US\$)
<i>Sistema padrão de extração (Custo de Investimento)</i>	
Sistema 1 (Escala Piloto): 1 × 2 L ^a	US\$ 48.000,00
Sistema 2 (Escala Piloto): 2 × 2 L ^a	US\$ 74.000,00
Sistema 3 (Escala piloto): 2 × 10 L ^a	US\$ 166.000,00
Sistema 4 (Escala de produção): 2 × 50 L ^a	US\$ 370.000,00
Sistema 5 (Escala de produção): 2 × 100 L ^a	US\$ 524.000,00
<i>Custo Dependente da Instalação</i>	
Taxa de depreciação	10%
Taxa de manutenção	6%
Taxas diversas (seguro, impostos locais, despesas de fábrica)	8%
<i>Custo de mão-de-obra (Operacional)</i>	
Mão-de-obra (Taxa Básica) ^b	US\$ 2,95/h-trabalhador
Fator de Benefícios ^c	0,8
Fator Operacional de Fornecedores ^c	0,1
Fator de Supervisão ^c	0,2
Fator de Administração ^c	0,6
Número de Trabalhadores	
Sistemas 1, 2 e 3 (Escala Piloto)	1 trabalhador
Sistemas 4 e 5 (Escala de produção): 2 × 10 L	2 trabalhadores
<i>Custo de Matéria-prima</i>	
Folhas de maracujá ^d	US\$ 5,80/kg
Pré-processamento ^e	US\$ 40,00/ton
Etanol ^d	US\$ 1,32/kg
Água destilada ^d	US\$ 0,06/kg
Etanol 65% (p/p) ^f	US\$ 0,88/kg
<i>Serviços de utilidade pública (Custo de Serviços)</i>	
Eletricidade ^c	US\$ 0,1087/kWh

^a Orçamento obtido de uma empresa fabricante brasileira

^b Trading Economics (<https://tradingeconomics.com/brazil/wages-in-manufacturing>)

^c SuperPro custo base de dados

^d Cotação direta com o fornecedor (Empório Metas e Sinergia Científica)

^e (CARVALHO et al., 2018)

^f Calculado com base no preço do etanol e da água destilada.

Na etapa de caracterização das misturas e componentes puros, foi considerado etanol 65% (p/p) (etanol 70%) bem como sua densidade a 25°C ($-0,854 \cdot T[^\circ\text{C}] + 896,59$ (kg/m³) (GREEN & PERRY, 1934). A quantidade de matéria-

prima na alimentação é de 412 g de folhas secas e trituradas com umidade de 6%.

Figura 6. Fluxograma dos Sistemas 1 e 2 obtidos no programa SuperPro Designer® version 8.5. (a) O Sistema 1 possui 1 extrator de 2 L com 5 ciclos; (b) O sistema 2 possui 2 extratores de 2 L com 5 ciclos e automatizado.

Fonte: Própria autoria

Na composição do tempo total da extração, além do tE (6 min) usado em cada ciclo ($C = 5$) do processo intermitente, antes da purga, ainda, considerou-se o tempo de carregamento de matéria-prima no leito como sendo 10 min, o tempo de pressurização de 16 min, o tempo necessário para a troca de solvente durante a purga em cada ciclo, que foi de 4 min a uma vazão de 100 mL/min. E desconsiderou-se o tempo de purga de nitrogênio, uma vez que não houve como mensurar o fluxo deste gás.

Além dos fluxogramas apresentados na Figura 6, Diagramas de Gantt estão também disponibilizados para ilustrar o cronograma das principais operações envolvidas no processo intermitente de ELP (Figuras 7 e 8).

Diagramas de Gantt são sistemas gráficos usados para demonstrar as etapas de um processo ou de uma linha de produção. Esses sistemas permitem a visualização de cada processo e o tempo de cada um, dessa forma, pode-se evitar tempos ociosos desnecessários na linha de produção (HINOJOSA, 2003). Na Figura 7 é apresentado o diagrama de Gantt para o Sistema 1 (1×2 L) o qual mostra o equipamento ELP em escala piloto do LTAPPN/FZEA, equipado com um vaso de extração de 2 L e sistema manual de controle, operando com 5 ciclos. Na Figura 8 visualiza-se o diagrama de Gantt para o Sistema 2 (1×2 L) também com 5 ciclos. A principal diferença entre os dois diagramas refere-se às bateladas de processo, no primeiro caso (Figura 7), a batelada (“Complete Recipe”) se encerra quando se conclui a ELP em um extrator, já no segundo caso (Figura 8) a batelada é encerrada quando a ELP nos dois extratores é finalizada. Na Figura 8 é possível identificar as etapas que ocorrem concomitantemente, indicando que enquanto ocorre a extração em um dos extratores, o outro está sendo preparado para a extração, por isso considera-se, neste caso, uma produção semi-contínua, enquanto que no primeiro caso (Figura 7) a produção ocorre em batelada.

Figura 7. Diagrama de Gantt para o Sistema 1 (1 × 2 L) de uma célula de extração e 5 ciclos.

Fonte: Própria autoria..

Figura 8. Diagrama de Gantt para o Sistema 2 (2 × 2 L), automatizado com duas células de extração e 5 ciclos.

Fonte: Própria autoria.

A partir dos dados experimentais e da sincronização da produção, foi possível simular o Custo de Manufatura (Cost of Manufacturing – COM), o qual, obviamente é afetado pelo número de ciclos escolhidos a partir do melhor rendimento obtido. Os parâmetros econômicos considerados na análise econômica, do processo ELP intermitente com purga do extrato em cada ciclo, foram estimados considerando a venda de um equipamento fechado disponibilizado no mercado por um fabricante nacional (Singularity Extraction Technology Serviços LTDA).

O custo do Sistema 1 (Figuras 6a e 7) representa o custo de um equipamento com as características do equipamento em escala piloto construído no LTAPPN/FZEA. A exceção é que, o banho de aquecimento com silicone líquido foi substituído por resistência elétrica. Também no equipamento no simulado foi incluído o pré-aquecimento da corrente de solvente antes do vaso de extração. O Sistema 2 (Figuras 6b e 8), totalmente simulado no SuperPro Designer® version 8.5 (Intelligen Inc., Scotch Plains, NJ, USA), representa um sistema para o processo em questão contendo, contudo, dois vasos de extração para o um processo semi-contínuo, válvula “*back-pressure*” automática e painel de controle com CLP (Controladores lógicos programáveis) e IHM (Interação homem-máquina). O Sistema 2 foi utilizado para estimar os custos dos Sistemas 3, 4 e 5, que são em escala de produção industrial.

A estimativa do custo de investimento (FCI) foi feita com base nos preços de uma empresa fabricante brasileira (Singularity Extraction Technology Serviços LTDA). No cálculo do investimento fixo foi considerado o financiamento da instalação e o investimento circulante ou o capital de giro, que irá financiar o funcionamento inicial da instalação. Para todos os sistemas, foi considerado o CAPEX (Capital Expenditure, e significa despesas de capitais) de equipamentos padrão para os requisitos das indústrias de alimentos e cosméticos. O CAPEX é o custo do sistema padrão de extração (Custo de Investimento Fixo) (Tabela 4).

O tempo de operação foi considerado de 16 h por dia e 250 dias úteis por ano, o que corresponde a 4.000 h de operação por ano. As outras 8 h do dia foram reservadas para os procedimentos de limpeza, de forma a atender às exigências da indústria. Foram consideradas no simulador taxas de 10% para depreciação, 6% para manutenção e 8% para diversos (seguros, impostos locais, despesas de fábrica), porcentagem sobre os valores do CAPEX de

equipamentos. Além disso, foi incluído o capital de giro referente ao custo de 30 dias de operação para os operadores (mão-de-obra), matérias-primas e utilidades. No investimento fixo foram consideradas maquinarias e equipamentos e os gastos de instalação e montagem. O capital de giro foi estimado entre 10 e 20% do investimento fixo (BUARQUE,1994), 30% da receita prevista.

O número de operadores necessários para operar a unidade de extração varia de acordo com o tamanho da planta. O salário base para os operadores foi definido em US\$ 2,95/h-trabalhador. Esse salário base foi calculado considerando o mercado brasileiro e pode ser bem diferente para diferentes partes do mundo. Além disso, os custos trabalhistas de benefícios, suprimentos operacionais, supervisão e administração também foram contabilizados. O custo com benefícios refere-se a despesas que são pagas pela empresa para cobrir diversos benefícios que não estão incluídos na taxa básica de trabalho (US\$ 2,95/h-trabalhador). O custo de supervisão refere-se aos salários do pessoal não operacional envolvido na supervisão do pessoal operacional e administrativo. O custo de suprimentos operacionais inclui itens diários necessários para manter a planta em condições de funcionamento adequadas, bem como roupas, ferramentas e dispositivos de proteção para os operadores. Custo de administração refere-se ao custo de suporte administrativo e de secretariado não relacionado ao processo.

No custo de manufatura (COM) foi considerado o custo das matérias-primas envolvidas no processo, incluindo a estimativa de secagem e trituração das folhas (pré-processamento) considerados conforme Carvalho et al. (2018) e o etanol. O nitrogênio não foi considerado uma vez que não houve meios de coletar dados da sua vazão. O custo operacional (COL) foi estimado com base em dados da base de dados do próprio programa SuperPro Designer® version 8.5 além das condições já relatadas anteriormente. Para o cálculo da mão-de-obra foi conhecido o valor do salário por tipo de ocupação somado ao valor de encargos por pagamentos de leis sociais e estes dados também são da base de dados do próprio software. Na estimativa do custo de serviços (CUT) o consumo energético foi estimado com os dados do SuperPro Designer® version 8.5, o custo com utilidades se deve ao consumo de energia envolvido nos trocadores de calor (aquecimento) e à eletricidade consumida durante o processo. O consumo das concessionárias em todo o processo foi estimado pelo balanço

energético do simulador, embora tenha sido levantado experimentalmente o valor do consumo energético. A simulação foi necessária, já que o equipamento em operação semi-contínua (Figuras 6b e 8) prevê o pré-aquecimento do solvente e resistência elétrica no aquecimento do extrator de leite fixo ao invés de silicone líquido. O custo do tratamento do resíduo foi desprezado, pois o material sólido, folhas trituradas de maracujá após a extração, conhecido como coproduto poderia ser utilizado como matéria-prima para outros processos. Por ser rico em celulose, o coproduto também pode ser usado para geração de energia por meio de várias abordagens de conversão de biomassa ou aplicado como fonte de nutrientes para várias agriculturas, melhorando a estrutura do solo e a capacidade de retenção de água. Neste caso, considerou-se que uma escala industrial tenha o mesmo desempenho que uma escala piloto se as variáveis de processo, o tempo e a razão entre a matéria-prima e o solvente forem considerados constantes.

As referências (ROSA & MEIRELES, 2005 e MEIRELES, 2008) apresentam dados sobre a avaliação econômica de processos de extração supercrítica que serviram de base para a avaliação econômica do processo de extração com líquido-pressurizado (ELP), mas não foram generalizadas para este processo já que cada um tem suas particularidades. Sabe-se também que as matrizes biológicas são diferentes entre espécies e partes da planta e possuem diferentes mecanismos de transferência de massa (REVERCHON; MARRONE, 1997), portanto cada diferente matriz deve ser estudada particularmente para se determinar a viabilidade econômica de implantação de uma nova unidade industrial. Neste projeto foram avaliados economicamente o processo de extração com líquido pressurizado em uma produção piloto e uma simulação de uma escala industrial de um processo semi-contínuo.

Com base na condição otimizada para a extração de folhas de maracujá uma análise do efeito da escala de produção no COM foi avaliada. Nesse estudo foram considerados sistemas com vasos de extração de 10, 50 e 100 L.

5. Resultados e discussão

5.1. Obtenção e caracterização da matéria-prima

As folhas de maracujá (*Passiflora edulis* Sims) foram colhidas nos dias 28 de outubro e 25 de novembro de 2019 entre 8:00 e 9:30 horas. As folhas foram identificadas pela Profa. Dra. Andreia Alves Rezende do Departamento de Biologia e Zootecnia da Faculdade de Engenharia da UNESP de Ilha Solteira. O material testemunho está depositado no herbário desta instituição (HISA) com o número de registro 10.921.

Após secagem e trituração, as amostras foram enviadas para o Laboratório de Bromatologia da FZEA/USP para a determinação de sua composição centesimal em base seca (Tabela 5). Como pode-se observar, as folhas secas apresentam baixo teor de umidade e apresentaram em torno de 13 % de fibra bruta, ou seja, compostos de celulose e lignina. Além disso, apresentaram 12,5 % de cinzas totais, 18,1 % de proteínas e baixa porcentagem de lipídeos (extrato etéreo), 3,2 %, e alta porcentagem de carboidratos não estruturais como amido, açúcares e pectinas (52,5%).

Tabela 5 - Composição centesimal das folhas secas de maracujá.

	% Base Seca (g/100 g)
Matéria seca	94,02 ± 0,02
Matéria Mineral	12,5 ± 0,1
Proteínas	18,1 ± 0,1
Fibra Bruta	13,8 ± 0,2
Extrato etéreo	3,2 ± 0,1
Extrativo não nitrogenado	52,5 ± 0,3

Média ± Desv. Padrão

Fonte: Própria autoria.

A análise granulométrica resultou em um diâmetro médio de partícula de 472,15 µm. A densidade real obtida foi de 1,30 ± 0,01 g/cm³ e a densidade aparente foi de 0,306 ± 0,003 g/cm³. A porosidade do leito, calculada pela relação entre as densidades (Equação 3) foi de 0,7646.

A porosidade do leito, que também pode ser chamada de fração de espaços vazios, é influenciada por diversos fatores como tamanho, forma e

rugosidade das partículas que o compõem, além do tipo de embalagem e da relação entre o diâmetro da partícula e o tamanho do extrator (TADINI, TELIS, ALMEIDA MEIRELLES & PESSOA FILHO, 2016). Neste cálculo de porosidade, apenas os espaços vazios entre as partículas do leito foram considerados, não computando os poros internos das próprias partículas. A porosidade fornece informações para outros estudos ou para futuros escalonamentos, pois é um parâmetro que caracteriza o leito fixo. Valores de porosidade menores que 1 permitem um bom contato entre a superfície das partículas e o solvente, o que favorece a migração do soluto da matriz para o solvente (BITTENCOURT et al., 2019; DE OLIVEIRA et al., 2019).

5.2. Extração com Líquido Pressurizado (ELP)

O delineamento fatorial fracionário 2^{4-1} (Tabela 1), aplicado com intuito de identificar quais variáveis influenciam o processo nas faixas estudadas, apresentou um rendimento de extrato seco variando de 22,97 a 31,09 % em relação à matéria-prima seca. O teor de fenólicos totais (CFT), determinado diretamente na tintura, sem concentração do extrato, variou de 34,71 a 42,05 mg EAG/g de folhas secas (Tabela 6).

As extrações foram feitas com etanol 70 % pressurizado em diferentes condições de extração, o teor de fenólicos totais (CFT) obtido via ELP foi maior que Da Silva et al. (2013) e que obteve extrato de *Passiflora edulis* por extração aquosa. Dos Santos et al. (2016) encontraram, para a *Passiflora actínia*, $6,34 \pm 0,03$ mg equivalente em isovitexina/g de amostra de CFT de extratos obtidos em solução hidroalcoólica, (etanol 45 %, v/v). Tais resultados indicam que a forma de extração bem como o solvente interferem na recuperação de fenólicos, além disso, a espécie da planta também interfere, pois Prakash et al. (2007) quantificou fenólicos totais de várias espécies de folhas, e folhas de gengibre (*Alpinia galangia*) e de carambola (*Averrhoa carambola*) possuíram maiores quantidades de fenólicos (50,7 e 78,3 mgEAG/g respectivamente) do que as folhas de maracujá deste estudo, e as folhas de camomila (*Chamomilla carambola*) e açafrão da terra (*Curcuma longa*) apresentaram quantidade muito inferiores.

Embora não seja comum, em um planejamento experimental, fazer a determinação de um valor médio entre os ensaios, optou-se por calcular o valor médio de rendimento em sólidos nos ensaios (Tabela 6) que resultou em $28 \pm 2\%$ e o teor de compostos fenólicos totais de 38 ± 2 mg EAG/g de folhas. Estes valores mostram que o desvio padrão entre os ensaios foram baixos, o que indica que as diferenças entre os ensaios, no delineamento adotado não foram muito altas. O maior rendimento obtido ocorreu no ensaio 8, com T de 80°C , volume de enxague (VS) igual à 100 % o volume do extrator (34 mL), 10 min de tempo estático (tE) em cada um dos 5 ciclos (C) (Tabela 5). O segundo ensaio que apresentou maior rendimento foi o 3, realizado à 60°C , VS de 100 %, tE de 6 min em 5 C. Os ensaios que apresentaram menor rendimento foram os ensaios 1 (60°C , com VS de 60 % o volume do extrator, tE de 6 min e 3 C) e 7, (60°C , 100 % de VS, 10 min de tE e 3 C). Os ensaios com maior rendimento foram os que apresentaram 5 ciclos e os de menor rendimento ocorreu na menor temperatura, menor quantidade de solvente e menor número de ciclos. Já para fenólicos totais, o de maior rendimento (ensaio 3, Tabela 6) ocorreu à temperatura de 60°C , com VS de 100 %, tE de 6 min e 5 ciclos.

Tabela 6 - Rendimento dos extratos obtidos segundo a matriz do delineamento fatorial fracionário 2^{4-1} para otimização do processo de extração com solvente pressurizado (variáveis reais).

Ensaio	T ($^\circ\text{C}$)	VS (%)	tE (min)	C (n $^\circ$)	Rendimento (%)	CFT mg EAG/g folha seca
1	60	60	6	3	22,97	$37,4 \pm 0,9$
2	80	60	6	5	28,96	$40,69 \pm 2,0$
3	60	100	6	5	28,24	$42,05 \pm 2,0$
4	80	100	6	3	27,8	$38,86 \pm 1,0$
5	60	60	10	5	28,02	$40,75 \pm 1,0$
6	80	60	10	3	27,47	$37,27 \pm 0,3$
7	60	100	10	3	25,6	$34,71 \pm 0,4$
8	80	100	10	5	31,09	$35,59 \pm 0,3$
9	70	80	8	4	27,64	$38,00 \pm 0,9$
10	70	80	8	4	27,47	$38,10 \pm 1,0$
11	70	80	8	4	27,29	$38,36 \pm 0,9$
12	70	80	8	4	27,38	$37,82 \pm 0,9$

Variáveis: Temperatura (T), Porcentagem de volume de solvente (VS), Tempo estático (tE) e Número de Ciclos (C). Compostos fenólicos totais (CFT) representados em mg equivalente a ácido gálico (EAG)/g.

Rendimento em porcentagem de extrato seco em relação à quantidade de folhas;

Média $\pm$ desvio padrão de Compostos Fenólicos Totais (n=4).

Fonte: Própria autoria.

Os dados experimentais foram tratados estatisticamente utilizando o programa Statistica (StatSoft, Inc., v.13.0, EUA). Na análise de variância (ANOVA) dos efeitos (Tabelas 7 e 8), observa-se que para o rendimento global (X_0), todas as variáveis apresentaram efeitos significativos ($p < 0,1$) sendo respectivamente 2,62, 1,32, 1,05 e 3,11 % para temperatura (T), porcentagem de volume de solvente usado no enxague (VS), tempo estático (tE) e número de ciclos (C). Ou seja, a variação da temperatura de 60 °C para 80 °C gerou um aumento de 2,62 % no X_0 . Já para a composição em fenólicos, os efeitos significativos ($p < 0,1$) foram o tE, com efeito antagônico de – 2,68 mg EAG/g folhas secas e o número de ciclos, em efeito sinérgico de 2,70 mg EAG/g folhas secas.

Tabela 7- ANOVA para análise dos efeitos das variáveis do processo em relação ao rendimento global (X_0).

Fator	Rendimento Global (%); $R^2 = 0,96997$				
	SQ	GI	QM	F	P
(1)T (°C)	13,75501	1	13,75501	79,8754	0,000045
(2)VS(%)	3,52451	1	3,52451	20,4668	0,002719
(3)tE (min)	2,21551	1	2,21551	12,8655	0,008894
(4)C	19,43761	1	19,43761	112,8742	0,000014
Erro	1,20544	7	0,17221		
Total	40,13809	11			

SQ= Soma de quadrados, GI= grau de liberdade, QM = Quadrado médio. Valores de f e de p a um nível de significância de 90%.

Fonte: Própria autoria.

Tabela 8- ANOVA para análise dos efeitos das variáveis do processo em relação ao rendimento em Compostos fenólicos totais (CFT).

Fator	CFT s (mg EAG/g de folha); $R^2 = 0,6765$				
	SQ	GI	QM	F	P
(1)T (°C)	0,80645	1	0,80645	0,359895	0,567469
(2)VS(%)	3,05045	1	3,05045	1,361325	0,281514
(3)tE (min)	14,36480	1	14,36480	6,410581	0,039123
(4)C	14,58000	1	14,58000	6,506619	0,038059
Erro	15,68557	7	2,24080		
Total	48,48727	11			

SQ= Soma de quadrados, GI= grau de liberdade, QM = Quadrado médio. Valores de f e de p a um nível de significância de 90%. CFT representada em mg equivalente em ácido gálico (EAG)/g.

Fonte: Própria autoria.

Em ELP, os fatores que afetam a extração também dependem muito da matéria-prima a ser utilizada. Neste processo, o tempo estático afetou pouco o rendimento global (X_0) e negativamente o teor em compostos fenólicos totais (CFT), ou seja, quanto maior o tempo de contato com as folhas, menor foi a quantidade de fenólicos recuperada. Neste sentido, ao aplicar o Design Composto Central Rotacional (DCCR) optou-se por fixar a variável tempo estático (tE) em seu menor valor (6 min). Em seus estudos de extração de óleo de café verde via ELP, De Oliveira et al. (2018) detectaram que tE e T afetaram apenas o rendimento global e não afetaram o rendimento de compostos antioxidantes, e isso explica o fato de que não necessariamente os mesmos fatores influenciam nas mesmas respostas, já que nesta pesquisa o tE influenciou, negativamente a CFT. O número de ciclos (C) e o volume de enxague (VS) não afetou no rendimento do extrato de sementes de pitanga (OLIVEIRA et al., 2014) indicando novamente que a influência dos parâmetros não depende apenas dos compostos que deseja-se extrair, mas também da matéria-prima utilizada, pois cada vegetal possui sua composição complexa e diferentes estruturas na matriz.

Na Tabela 9 observa-se os dados do DCCR com os resultados obtidos em cada ensaio. Os rendimentos aumentaram com a temperatura (T). Os autores Mustafa e Turner, (2011) em um estudo de revisão, concluíram que realmente altas temperaturas em ELP contribuem para altos rendimentos e extrações rápidas uma vez que altas temperaturas ajudam a quebrar interações intermoleculares entre a amostra e o soluto. Além disso, há uma redução da tensão superficial entre os 3 componentes (soluto/amostra/solvente) e redução da viscosidade o que favorece a penetração do solvente nos poros das folhas (MENDIOLA et al., 2007). Em relação ao rendimento em fenólicos e flavonoides de grãos de café verde, T de 47°C não foi eficiente na extração destes compostos, baixas temperaturas não foram eficientes para extrair compostos antioxidantes de modo eficaz (DE OLIVEIRA et al., 2018). Já valores de maior T apresentaram maior rendimento global (X_0), e T de 100 °C foram eficientes na extração de fenólicos e flavonoides. Em todos os rendimentos analisados, houve proporcionalidade entre maior número de ciclos (C) e maiores rendimentos. A porcentagem de volume de solvente interferiu pouco nos resultados.

Considerando-se todas as respostas dos ensaios da Tabela 9 realizados conforme o Design Composto Central Rotacional (DCCR), a média de X_0 obtida foi de $27,8 \pm 2,7$ %, a média para CFT foi de $36,7 \pm 4,3$ mg EAG/g de folha seca, 45 ± 8 mg EQUER/g de folha seca para flavonóides e 17 ± 11 Wh para o consumo de energia.

Com relação aos compostos ativos das folhas de maracujá, Gomes et al. (2017) encontraram para extratos de *Passiflora alata* obtidos via ELP utilizando etanol 40%, 70% e 100% , teores de compostos fenólicos (variando de 241,67 a 611,11 mg EAG/g de amostra) e flavonóides totais (variando de 41,46 a 110,89 mg EQUER/g de amostra) foram maiores que os obtidos neste estudo. Essa diferença pode ser explicada pelo fato de que, dependendo da espécie da planta, das práticas de cultivo, condições climáticas, genética, época em que foi colhida, a idade da planta, bem como a parte da planta que foi utilizada para extrair afetam a qualidade do rendimento do extrato (PEREIRA; MEIRELES, 2010).

Na análise do DCCR, a condição de maior rendimento global ($X_0 = 33,08\%$) foi obtida quando T foi $113\text{ }^{\circ}\text{C}$, o volume de enxague (VS) foi de 100 % o volume da célula de extração (34 mL) dividido por 3 C (ensaio 12, Tabela 9). O maior teor de compostos fenólicos e flavonóides (ensaio 9, Tabela 9) foi obtido quando T foi $100\text{ }^{\circ}\text{C}$, VS foi 120 % dividido em 4 C ($43,17 \pm 0,61$ EAG/g e $58,76 \pm 0,21$ EQUER/g respectivamente), porém essas condições foram as que mais consumiram maior energia elétrica, com gasto de 36,9 Wh, devido ao emprego de altas temperaturas e maior quantidade de ciclos (Tabela 9). O ensaio 4, por exemplo, poderia ser considerado o melhor em relação ao teor de fenólicos totais e as condições de processo, pois apresenta o menor tempo de extração e menor consumo de energia em relação aos que mais renderam. O consumo de energia é considerado baixo (36,9 Wh), demonstrando que o equipamento, mesmo em altas temperaturas, consome pouca energia, o que é confirmado no manual do fabricante pois consta que ele opera no máximo a 1000 W (THERMO SCIENTIFIC, 2011). ou seja, a análise de consumo energético teve como principal objetivo a demonstração de que o equipamento consome pouca energia elétrica (Tabela 9). Além disso, o tempo de extração da condição otimizada (ensaio 9) foi de 34 minutos utilizando 92 mL de solvente, e para o ensaio 12 , o maior rendimento global, foi de 28 minutos utilizando 82 mL, indicando que, um

possível aumento de escala aplicando esta tecnologia pode ser mais vantajoso que o método tradicional principalmente na economia de solvente.

De acordo com os resultados das extrações, o rendimento global (X_0) variou de 22,30 a 33,08 %, e a condição otimizada foi de 113 °C, 100% VS e 3 ciclos. Na análise estatística dos efeitos principais (excluindo-se os pontos axiais, Tabela 9), foi encontrado que somente a temperatura (T) e o número de ciclos (C) obtiveram efeitos significativos sobre X_0 e não houve efeitos de interações como observado no Diagrama de Pareto (Figura 9a).

Figura 9. Diagrama de Pareto das variáveis respostas obtidas a partir de um ajuste de primeira ordem.

Diagrama de Pareto. Efeitos das Variáveis 1(temperatura T), 2 (Volume de solvente VS) e 3 (Número de ciclos C) nas variáveis resposta, bem como o efeito das interações. Em (a) observa-se os efeitos das variáveis sobre o rendimento global, em (b) sobre o rendimento em fenólicos totais, em (c) sobre o rendimento em flavonóides totais e em (d) consumo energético. Fonte: Própria Autoria.

Tabela 9 - Resultados das respostas obtidas quando as variáveis do processo ELP (T, VS e C) variaram conforme o Design Composto Central Rotacional (DCCR) com três pontos centrais e Percolação (P).

Ensaio	T (°C)	VS (%)	C	Rendimento (%)	Fenólicos (mg EAG/g folha)	Flavonoides (mg EQUER/g folha)	V solvente (mL)	Consumo de energia (Wh)
1	(60)-1	(80)-1	(2)-1	22,30	30,24 ± 0,41	36,68 ± 0,51	69	4,3
2	(60)-1	(120)1	(4)1	27,00	36,09 ± 0,56	44,83 ± 0,44	88	7,1
3	(100)1	(80)-1	(4)1	31,02	41,51 ± 0,25	56,70 ± 0,28	77	36,9
4	(100)1	(120)1	(2)-1	29,58	40,82 ± 0,75	49,14 ± 0,35	85	17,1
5	(80)0	(100)0	(3)0	28,99	36,85 ± 0,24	46,51 ± 0,65	78	21,3
6	(60)-1	(80)-1	(4)1	25,95	32,78 ± 0,38	40,84 ± 0,33	72	6,2
7	(60)-1	(120)1	(2)-1	23,04	31,12 ± 0,69	35,79 ± 0,39	81	3,4
8	(100)1	(80)-1	(2)-1	28,99	37,08 ± 0,20	51,29 ± 0,62	71	21,6
9	(100)1	(120)1	(4)1	32,46	43,17 ± 0,61	58,76 ± 0,21	92	36,9
10	(80)0	(100)0	(3)0	28,41	37,47 ± 0,20	46,03 ± 0,62	90	20,8
11	(47)-1,67	(100)0	(3)0	23,33	30,02 ± 0,24	26,96 ± 0,28	81	6,4
12	(113)1,67	(100)0	(3)0	33,08	42,34 ± 0,31	52,22 ± 0,72	82	36,9
13	(80)0	(67)-1,67	(3)0	26,74	37,80 ± 0,12	48,78 ± 0,47	65	13,6
14	(80)0	(133)1,67	(3)0	29,69	38,35 ± 0,34	48,20 ± 0,56	89	14,1
15	(80)0	(100)0	(1)-1,67	22,51	31,38 ± 0,46	37,49 ± 0,40	72	8,9
16	(80)0	(100)0	(5)1,67	30,46	40,28 ± 0,34	51,75 ± 0,25	80	18,1
17	(80)0	(100)0	(3)0	28,44	37,06 ± 0,85	45,95 ± 0,53	78	17,9
P	25	0	1	21,79	22,52 ± 1,14	27,17 ± 0,64	185	0

Os valores dos teores de Fenólicos e Flavonoides são apresentados como média ± desvio padrão com n=4. t é o tempo total da extração, lembrando que tE foi mantido constante em 6 min. O volume de solvente utilizado é um dado fornecido pelo equipamento e o volume de extrato coletado foi medido em uma proveta de 100 mL e não foram avaliados como resposta. Fenólicos e Flavonóides estão expressos em mg equivalente a ácido gálico(EAG)/g e mg equivalente a quercetina (EQUER)/g respectivamente.

Fonte: Própria autoria

Os resultados da análise de Variância (ANOVA) ($\alpha = 0,05$) (Tabela 10), mostram que o modelo de primeira ordem foi bem ajustado aos dados experimentais em função de T, VS e C, porém, o modelo de segunda ordem (Equação 13), o qual foi analisado com adição dos pontos axiais obteve maior valor do coeficiente de determinação (R^2 de 0,98373) e o valor de F_{calc} foi maior que o tabelado (F_{tab}) indicando que este modelo pode ser considerado adequado para descrever o processo de extração de sólidos totais.

$$x_0 (\%) = 28,61479 + 2,94912 T + 0,64418 VS + 1,8999 C - 0,76737 C^2 \quad (13)$$

A Superfície de Resposta gerada pelo modelo de segunda ordem (Figura 10) indica que os maiores rendimentos globais estão nas maiores temperaturas e maiores quantidades de ciclos. Gomes et al. (2017) realizaram extração por ELP em folhas de passiflora e obtiveram maior rendimento global de 54,26% em extrato de *Passiflora alata* a 60°C, etanol 40% e 5 ciclos, sendo as três variáveis estudadas influenciadoras do rendimento, o que condiz com os dados apresentados, uma vez que temperatura e número de ciclos também foram os parâmetros que influenciaram o rendimento. A temperatura aumenta a difusividade do solvente nas folhas e a renovação de solvente faz com que aumente o gradiente de concentração facilitando a transferência de massa por difusão.

Figura 10. Superfície de Resposta gerada pelo modelo de segunda ordem que descreve a influência da T e do número de ciclos (C) para o rendimento global (X_0) (%).

Figura produzida pelo Software Statistica 13 consiste no valor do rendimento global e os valores dos níveis utilizados. Fonte: Própria Autoria.

Tabela 10 - Anovas das regressões de ajuste de primeira ordem e segunda ordem das variáveis resposta (MS residual).

Primeira ordem Rendimento Global (%)					
Variação	Soma de Quadrados	Graus de Liberdade	Quadrado Médio	F-valor	F _{tab}
Regressão (R)	93,0717	6	15,51195	22,5499	4,53
Resíduo (r)	2,75157	4	0,6878925		
Total (T)	95,82327	10			
R ²	0,9712				
Segunda ordem Rendimento Global					
Variação	Soma de Quadrados	Graus de Liberdade	Quadrado Médio	F-valor	F _{tab}
Regressão (R)	180,4447	9	20,05	47,03	3,68
Resíduo (r)	2,9845	7	0,4263		
Total (T)	183,4292	16			
R ²	0,98373				

Tabela 10. Anovas das regressões de ajuste de primeira ordem e segunda ordem das variáveis resposta (MS residual). Continuação.

Primeira Ordem Fenólicos Totais					
Variação	Soma de Quadrados	Graus de Liberdade	Quadrado Médio	F-valor	F _{tab}
Regressão (R)	168,1014	6	28,0169	33,5170	4,53
Resíduo (r)	3,3436	4	0,8359		
Total (T)	171,445	10			
R ²	0,9805				
Segunda Ordem Fenólicos Totais					
Variação	Soma de Quadrados	Graus de Liberdade	Quadrado Médio	F-valor	F _{tab}
Regressão (R)	283,7155	9	31,5239	23,9271	3,68
Resíduo (r)	9,2225	7	1,3175		
Total (T)	292,938	16			
R ²	0,9685				
Primeira ordem Flavonóides Totais					
Variação	Soma de Quadrados	Graus de Liberdade	Quadrado Médio	F-valor	F _{tab}
Regressão (R)	529,651	6	88,2751	353,1004	4,53
Resíduo (r)	1,00014	4	0,25		
Total (T)	530,6512	10			
R ²	0,99812				
Segunda ordem Flavonóides Totais					
Variação	Soma de Quadrados	Graus de Liberdade	Quadrado Médio	F-valor	F _{tab}
Regressão (R)	1027,2206	9	114,13	31,27	3,68
Resíduo (r)	25,577	7	3,65		
Total (T)	1052,7976	16			
R ²	0,9757				
Primeira Ordem Consumo Energético					
Variação	Soma de Quadrados	Graus de Liberdade	Quadrado Médio	F-valor	F _{tab}
Regressão (R)	1372,397	6	228, 733	28,9609	4,53
Resíduo (r)	31,592	4	7,898		
Total (T)	1403,98909	10			
R ²	0,9775				
Segunda Ordem Consumo Energético					
Variação	Soma de Quadrados	Graus de Liberdade	Quadrado Médio	F-valor	F _{tab}
Regressão (R)	1956,3048	9	217,36	32,8835	3,68
Resíduo (r)	46,3175	7	6,61		
Total (T)	2002,62235	16			
R ²	0,9768				

F_{tabelado} com 95% de confiança

% variação explicada (R²): SQ_R/SQ_T

O F_{calc.} (QM_R/QM_r) maior que o F_{tab.} no nível de 95% de confiança

Fonte: Própria autoria.

Na Tabela 9, com os resultados das extrações, a composição de fenólicos totais (CFT) variou de $30,02 \pm 0,24$ a $43,17 \pm 0,61$ mg EAG/g de folha, e a condição otimizada foi de 100 °C, 120 %VS e 4 ciclos. Na análise estatística excluindo-se os pontos axiais, foi encontrado que todos os parâmetros, a temperatura (T), o número de ciclos (C) e o volume de solvente (VS) obtiveram efeitos significativos sobre CFT e não houve efeitos de interações como observado no Diagrama de Pareto (Figura 9b). Os resultados da análise de Variância (ANOVA) (Tabela 10), mostram que o modelo de primeira ordem (Equação 14), foi bem ajustado aos dados experimentais em função de T, VS e C, e foi mais bem ajustado que o modelo de segunda ordem o qual foi analisado com adição dos pontos axiais. Obteve-se o valor do coeficiente de determinação (R^2) igual a 0,9805 e o valor de F_{calc} foi maior que o tabelado indicando que este modelo pode ser considerado adequado para descrever o processo de extração de compostos fenólicos totais.

$$CFT = 36,74455 + 4,04375T + 1,19875VS + 1,78625C \quad (14)$$

Nas Superfícies de contorno geradas pelo modelo de primeira ordem (Figura 11) observa-se novamente que o rendimento em fenólicos independe da porcentagem de volume de solvente usado no enxague e que depende pouco também do número de ciclos. A temperatura foi o fator mais relevante na obtenção de compostos fenólicos, e, segundo Yammine et al. (2018) esta é diretamente proporcional à melhora da extração do ácido gálico. Mariotti-Celis et al. (2018) e Castejón; Luna; Señoráns, (2018) em seus estudos também observaram que altas temperaturas e maiores quantidades de etanol na mistura água/etanol aumentam a recuperação de ácido gálico.

Ainda na Tabela 9, a composição de flavonóides totais (FVT) variou de $26,96 \pm 0,28$ a $58,76 \pm 0,21$ mg EQUER/g de folha, e a condição otimizada foi de 100 °C, 120 % de VS e 4 ciclos. Na análise estatística excluindo-se os pontos axiais, ou na análise dos efeitos principais, foi encontrado que os parâmetros, temperatura (T) e o número de ciclos (C) apresentaram efeitos significativos sobre FVT e houve também efeitos de interações entre VS e C como observado no Diagrama de Pareto (Figura 9c).

Os resultados da análise de Variância (ANOVA) (Tabela 10), mostram que o modelo de primeira ordem (Equação 15) foi bem ajustado aos dados experimentais em função de T, VS e C, e foi mais bem ajustado que o modelo de segunda ordem, o qual foi analisado com adição dos pontos axiais. Obteve-se o valor do coeficiente de determinação (R^2) igual a 0,9981 e o valor de F_{calc} foi maior que o tabelado indicando que este modelo pode ser considerado adequado para descrever o processo de extração de flavonóides totais.

$$FVT = 46,59273 + 7,21875 T + 3,52875 C + 1,13625 CVS \quad (15)$$

Na Superfície de contorno gerada pelo modelo de primeira ordem (Figura 12) observa-se que há proporcionalidade direta entre temperatura, número de ciclos e rendimento em flavonóides totais. Este resultado é similar ao de Gomes et al., (2017), porém, o número de ciclos não afetou o rendimento em flavonóides nos estudos deles com *P. alata*.

Como flavonóides é uma classe de fenólicos, pode-se dizer que altas temperaturas neste caso promoveu altos teores de compostos fenólicos e flavonóides nos extratos, pois a temperatura juntamente com a pressão reduzem a tensão superficial aumentando a penetração do solvente nos poros das folhas, aumentando, assim a transferência de massa (MENDIOLA et al., 2007; PEREIRA; MEIRELES, 2010; BARRALES et al., 2018).

Figura 11 . Superfícies de Contorno geradas pelo modelo de primeira ordem que descrevem a influência das variáveis de processo na composição em fenólicos totais (CFT).

Figura produzida pelo Software Statistica 13. Fonte: Própria autoria

Figura 12. Superfície de Contorno gerada pelo modelo de primeira ordem para que descreva a composição em flavonóides totais (FVT) em função da T e de C

Figura produzida pelo Software Statistica 13. Fonte: Própria Autoria.

O consumo de energia (CE) variou de 3,4 a 36,9 Wh, e uma condição de maior consumo foi de 113 °C, 100% VS e 3 ciclos. Na análise estatística excluindo-se os pontos axiais, foi encontrado que somente a temperatura (T) e o número de ciclos (C) obtiveram efeitos significativos sobre CE e houve efeitos de interações entre a T e C como observado no Diagrama de Pareto (Figura 9d). Os resultados da análise de Variância (ANOVA) (Tabela 10), mostram que o modelo de primeira ordem foi bem ajustado aos dados experimentais em função de T, VS e C, porém, o modelo de segunda ordem (Equação 16) foi o escolhido, o qual foi analisado com adição dos pontos axiais obtendo valor do coeficiente de determinação $R^2 = 0,9768$ e o valor de F_{calc} foi maior que o tabelado indicando que este modelo pode ser considerado adequado para descrever o processo de consumo energético.

$$CE = 19,95388 + 10,48061 T + 4,12460 C - 2,05641 VS^2 - 2,18141 C^2 + 3,68750 TC \quad (16)$$

A Superfície de Resposta gerada pelo modelo de segunda ordem (Figura 13) indica que os maiores consumos de energia estão nas maiores temperaturas e maiores quantidades de ciclos. Maiores temperaturas levam ao maior consumo de energia uma vez que há maiores gastos energéticos para o equipamento chegar a temperaturas mais elevadas, e o maior número de ciclos indica a quantidade de vezes que o solvente é bombeado até a célula, ou seja, seria o gasto energético com o acionamento da bomba.

Figura 13. A Superfície de Resposta gerada pelo modelo de segunda ordem para o consumo de energia (CE em Wh).

Figura produzida pelo Software Statistica 13 que consiste no valor da resposta obtida em relação aos níveis utilizados. Fonte: Própria autoria.

A validação do DCCR foi realizada com as extrações feitas em triplicata da condição otimizada, ou seja, foram realizadas triplicatas dos ensaios 9 para flavonoides (FVT) fenólicos (CFT) e consumo de energia (CE) e do ensaio 12 para o rendimento global (X_0). A validação pode ser vista na Tabela 11 e Figura 14 dos resultados preditos vs. os valores experimentais, indica que houve um bom ajuste aos modelos estatísticos. Os resultados obtidos nos modelos experimentais foram próximos aos resultados obtidos.

Tabela 11 - Validação do DCCR e do ponto otimizado, contendo os valores preditos e os experimentais.

Variável Resposta	Resultado Predito	Resultado Experimental
Rendimento Global (%)	33,53%	34,56% $\pm$ 0,37
Fenólicos totais	43,94 mgAG/g	42,01 $\pm$ 0,86 mgAG/g
Flavonóides totais	58,47 mgQUE/g	60,41 $\pm$ 0,95 mgQUE/g
Consumo energético	34 wh	31,4 $\pm$ 0,6 wh

Média $\pm$ desvio padrão, n =3. Os resultados preditos foram obtidos pela substituição nos modelos ajustados.

Figura 14. Valores preditos nos modelos e valores experimentais para as variáveis respostas avaliadas.

Valores preditos pelos modelos ajustados em relação aos valores experimentais para as variáveis resposta: rendimento global (a), rendimento em fenólicos totais (b), rendimento em flavonóides totais (c) e consumo energético (d). Fonte: Própria Autoria.

5.3. Extração por percolação

Na Tabela 9, ainda se observa os dados obtidos quando a extração foi feita via percolação. O rendimento global (X_0) foi de $21,79 \pm 0,37\%$, o teor de compostos fenólicos de $22,52 \pm 1,14$ mg EAG/g de folhas secas, o teor de flavonoides totais foi de $27,17 \pm 0,64$ mg EQUER/g de folhas secas e, o consumo de energia elétrica foi inexistente. Estes resultados apresentaram valores bem inferiores aos obtidos por extração com líquido pressurizado (ELP), e foram utilizados 185 ± 15 mL de solvente em cada extração por percolação. Estes resultados indicam que, o processo por ELP, além de ser mais rápido (uma vez que a percolação leva 26 h enquanto que o ensaio 9 durou 34 minutos), há também uma considerável economia de solvente, pois o maior volume de solvente usado na ELP (92 mL) (ensaio 9, Tabela 9) representa 49,7 % do solvente usado na percolação, menos da metade. Na comparação dos dois processos, embora na percolação não haja consumo de energia elétrica, o baixo consumo de energia na ELP e o emprego de menos solvente na extração, torna este equipamento bastante promissor para ser usado na indústria de produção de tinturas fitoterápicas.

Nos extratos de folhas de maracujá obtidos por percolação foram encontrados teores de compostos fenólicos totais (CFT) de $8,3 \pm 0,22$ mg EAG/g de folhas de *Passiflora edulis* por Da Silva et al. (2013). Dos Santos et al. (2016) encontraram, para a *Passiflora actínia*, $6,34 \pm 0,03$ mg equivalente em isovitexina/g de amostra de CFT de extratos obtidos em solução hidroalcoólica, (etanol 45 %, v/v). Estes resultados são bem inferiores aos encontrados neste estudo, mas espécies diferentes, solventes diferentes, processos de extração diferentes (tempo de percolação, por exemplo) podem gerar rendimentos diferentes.

Em relação ao X_0 , os resultados obtidos neste estudo foram bem próximos aos obtidos por Li et al. (2011). Eles percolaram folhas de *P. edulis* em etanol 60 % (v/v) e obtiveram rendimentos globais em torno de 20,1 %.

5.4. Cinética e modelagem do processo

5.4.1. Cinética de extração em purga semi-contínua (Caso 1)

A curva de extração global apresentada na Figura 15, mostra o comportamento do acúmulo da massa de extrato com o tempo de extração. Estas isotermas de rendimento global mostra o efeito da T (80, 90 e 100 °C) no comportamento do processo de extração. A condição estudada foi a otimizada no DCCR (ensaio 9, Tabela 9) com 120 % de VS, 4 C, mas T nos valores mencionados.

Esta análise pode ser feita em termos de rendimento global de extração como um todo ou para o rendimento global de um componente específico, neste caso está sendo avaliado o rendimento global (X_0). O rendimento global está intimamente relacionado com a solubilidade do soluto (ou mistura de solutos) no solvente ou na mistura de solventes (PEREIRA; MEIRELES, 2010). A curva de extração global inicia-se com o período de taxa de extração constante, na qual a superfície das partículas está coberta com o soluto que tem fácil acesso, e a convecção é o mecanismo de transferência de massa dominante. No segundo período ocorre a taxa de extração decrescente, na qual há falhas do soluto na camada da superfície da matriz e então inicia-se o mecanismo de difusão, fenômeno que atua combinado com a convecção. E, o último período é controlado pela difusão, onde a camada de soluto na superfície externa praticamente desapareceu e a transferência de massa ocorre principalmente por difusão do interior das partículas. Nas curvas da Figura 15, nota-se que a extração ocorre mais efetivamente no período de taxa constante e, a diferença entre elas, em decorrência da variação da temperatura só é nítida no período controlado pela difusão.

Figura 15. Curva de extração geral de sólidos totais em folhas de maracujá.

Fonte: Própria Autoria.

O rendimento global é um parâmetro importante na modelagem matemática da curva de extração global que também podem ser expressas pelo comportamento da concentração de extrato nas folhas (C_t) com o tempo como mostram as Figuras 16, 17 e 18. Ao se analisar a variação da concentração dos solutos (extrato) nas folhas, observa-se que C_t foi significativamente dependente do tempo e que a velocidade de extração foi superior nos primeiros 15 min de extração. O período de taxa de extração constante são os primeiros 5 min de extração, e o período de taxa de extração decrescente é o período entre 5 e 35 min e o período de taxa de extração controlada pela difusão começa a partir dos 35 até os 100 min. A velocidade de extração foi reduzindo até atingir a concentração de equilíbrio (após 100 minutos). Segundo Pereira; Meireles, (2010) a fase de taxa de extração constante representa a fase que se obtém a maior quantidade de extrato e para muitas aplicações na indústria a extração termina logo após esse período, uma vez que as melhores condições operacionais serão o maior rendimento no menor período de tempo possível. Neste contexto, para aplicações industriais, a faixa de 5 a 20 min de extração já seriam suficientes para extrair a maior parte dos compostos das folhas de maracujá, e industrialmente, isso torna o processo de obtenção da tintura por ELP muito mais vantajoso do que o método convencional da percolação.

Figura 16. Perfil de extração por purga semi-continua a 80 °C.

A linha vermelha consiste no modelo matemático e em azul são os dados experimentais Fonte: Própria Autoria

Figura 17. Perfil de extração por purga semi-continua a 90 °C.

A linha vermelha consiste no modelo matemático e em azul são os dados experimentais Fonte: Própria Autoria.

Figura 18. Perfil de extração por purga semi-continua a 100 °C.

A linha vermelha consiste no modelo matemático e em azul são os dados experimentais

Fonte: Própria Autoria.

O modelo da Lei de Fick (linhas vermelhas, Figuras 16, 17 e 18) apresentou bom ajuste aos dados experimentais ($R^2 = 0,9858, 0,9862$ e $0,9814$ para as temperaturas de 80, 90 e 100 °C respectivamente) (Tabela 12). A variação de temperatura, na faixa trabalhada não afetou a difusividade efetiva pois não houve diferença entre os valores ($p = 0,258387, \alpha = 0,05$). Os coeficientes de difusividade efetiva (D_{eff}) obtidos pela modelagem foram $6,44 \pm 0,416 \times 10^{-12} \text{ m}^2/\text{s}^2$ para a temperatura de 80° C, $6,07 \pm 0,383 \times 10^{-12} \text{ m}^2/\text{s}^2$ para a temperatura de 90°C e $5,83 \pm 0,421 \times 10^{-12} \text{ m}^2/\text{s}^2$ para a temperatura de 100 °C (Tabela 12). Geralmente, o aumento da temperatura aumenta a difusividade efetiva (MUSTAFA; TURNER, 2011) mas, neste caso, não houve diferença nos valores do coeficiente de difusividade com o aumento da temperatura. A concentração de extrato total extraída para cada T, determinada experimentalmente, foi considerada como sendo a concentração inicial de extrato na folha (c_1^{in}) e esta, foi inserida no modelo de Fick. Esta concentração (c_1^{in}) normalmente, é determinada quando o equilíbrio no processo de extração é alcançado, no entanto, neste processo de ELP semi-contínuo assim como no intermitente com purga do extrato, há renovação do solvente com o tempo durante a extração, portanto não há como considerar o alcance do equilíbrio. A partir desta constatação, considerou-se como condições de contorno, o valor de condição

inicial (c_1^{in}) específico para cada temperatura e a concentração no equilíbrio foi adotada como sendo nula (c_1^{eq}) para todas as temperaturas (Tabela 12).

Como o modelo de difusão de Fick considera que o processo de extração é controlado unicamente pela difusão, porém por ser um processo complexo, não se pode concluir o processo de transferência de massa do soluto das partículas para o solvente se dá principalmente pela difusão.

Nas Figuras 17 a 18, observa-se que a maior quantidade de extrato foi obtida nos primeiros 5 min do processo, ou seja, no período de taxa de extração constante, onde o processo é controlado principalmente por convecção, indicando que as partículas são facilmente acessíveis na superfície do sólido (PEREIRA; MEIRELES, 2010). A difusão do soluto do interior da partícula para a superfície também pode ser rápida quando se considera o tamanho da partícula. Se a partícula for pequena e o modelo indicado para difusão estiver bem ajustado, também se pode inferir que o soluto migra facilmente para a superfície. O modelo da Lei de Fick é simples e eficiente para calcular os parâmetros necessários para avaliar o aumento de escala do equipamento.

Mezzomo, Martínez, Ferreira (2009) também aplicaram o modelo de difusão de Fick na obtenção de óleo de amêndoa de pêssego por extração com fluido supercrítico, o tamanho das partículas variou de 882 a 3360 μm , e obtiveram valores de D_{eff} que variaram de $0,01 \times 10^{-10}$ a $9,60 \times 10^{-10} \text{ m}^2/\text{s}$, ou seja, superiores à difusividade efetiva calculada no processo de obtenção da tintura de maracujá via PLE com etanol 70%. Esta diferença pode explicar que, diferentes condições de extração, diferentes processos, solventes e matérias-primas fornecem respostas diferentes ao comportamento da transferência de massa.

Tabela 12 - Condições de contorno e coeficientes obtidos para a extração em purga semi-contínua (caso 1).

Propriedade	Valor		
T (°C)	80 °C	90 °C	100 °C
m_{in} (g)	7.06	7.06	7.06
m_{out} (g)	4.37	4.19	4.06
c_1^{in} (g/g)	0.381	0.407	0.425
c_1^{eq} (g/g)	0.0	0.0	0.0
$\bar{d}$ (m)	472.15×10^{-6}	472.15×10^{-6}	472.15×10^{-6}
D_{eff} ($\times 10^{-12}$ m ² /s ²)	6.44 ± 0.416	6.07 ± 0.383	5.83 ± 0.421
R^2 (-)	0.9858	0.9862	0.9814

Propriedade: Temperatura (T), Massa inicial de folhas (m_{in}), Massa de folha final (m_{out}), Concentração inicial de sólidos nas folhas (c_1^{in}), Concentração de equilíbrio (c_1^{eq}), Diâmetro médio das partículas ($\bar{d}$) e Difusividade Mássica Efetiva (D_{eff}). R^2 é o coeficiente de determinação.

Médias $\pm$ desvio padrão. Fonte: Própria autoria.

5.4.2. Estudo de caso 2: Extração por purga intermitente

O estudo da cinética e modelagem da extração com líquido pressurizado (ELP) em um processo com purga intermitente do extrato, efetivamente, descreve o mecanismo de funcionamento do equipamento em experimentação. Neste caso, a extração em condições otimizadas (T de 100 °C, VS de 120 % e 4 C) foi realizada em triplicata. Neste caso, a difusividade efetiva (D_{eff}) foi bem menor ($1,28 \pm 0,03 \times 10^{-12}$ m²/s) em relação ao processo semi-contínuo. A concentração inicial (c_2^{in}) (g de extrato na folha/g de folha) foi de 0,425 g/g e ao final dos 4 ciclos, ainda restou nas partículas a concentração de 0,114 g/g, indicando que na condição otimizada não ocorre a extração de todo o material extraível. No estudo do modelo, os dados experimentais (Figura 19) que mostra a concentração de soluto nas folhas com o tempo (s), ajustaram-se bem aos calculados pelo modelo matemático da Lei de Fick ($R^2 = 0,9989$ ajustando 5 pontos) gerando o valor da difusividade mássica efetiva (Tabela 13). Os dados experimentais (Figura 19) mostram que a concentração inicial foi de 0,425 g/g e após o primeiro ciclo, a concentração de extrato na folha caiu para 0,294 g/g. E no ciclo 2, a variação foi de 0,294 para 0,216 g/g, no ciclo 3 foi de 0,216 para 0,164 g/g e no ciclo 4 a variação foi de 0,164 para 0,114g/g.

Figura 19. Pontos experimentais obtidos à 100 °C por meio da extração com líquido pressurizado (ELP) em um processo com purga intermitente do extrato (Caso 2).

Fonte: Própria autoria.

Tabela 13 - Condições de contorno e coeficientes obtidos para extração com líquido pressurizado (ELP) em um processo com purga intermitente do extrato (caso 2).

Propriedade	Valor
T (°C)	100 °C
m_{in} (g)	7.01
m_{out} (g)	4.58
c_2^{in} (g/g)	0,425
$c_{2;ciclo\ 4}^{res}$ (g/g)	0,114
$\bar{d}$ (m)	472.15×10^{-6}
D_{eff} ($\times 10^{-12}$ m ² /s)	$1,28 \pm 0,03$
R^2 (-)	0.9995

Propriedade: Temperatura (T), Massa inicial de folhas (m_{in}), Massa de folha final (m_{out}), Concentração inicial de sólidos nas folhas (c_2^{in}), Concentração residual após o ciclo 4 ($c_{2;ciclo\ 4}^{res}$), Diâmetro médio das partículas ($\bar{d}$) e Difusividade Mássica Efetiva (D_{eff}). R^2 é o coeficiente de determinação.

Médias $\pm$ desvio padrão. Fonte: Própria autoria.

A Figura 20 mostra a variação da massa de extrato em cada um dos 4 ciclos do processo de extração com líquido pressurizado (ELP), com purga intermitente do extrato, predito pelo modelo da Lei de Fick. A solução analítica de Fick explica bem a variação da concentração de extrato na folha com o tempo. As curvas de maior decaimento são as do ciclo 1 e 2, dos primeiros 12 min de extração, indicando que a maior quantidade é extraída nos dois primeiros ciclos ou nas

duas primeiras purgas. A variação de concentração é bem menor nos ciclos 3 e 4.

Figura 20. Perfis do processo intermitente da purga de extrato em cada ciclo da ELP simulados a partir da solução analítica de Fick (Caso 2).

Fonte: Própria autoria.

Ao plotar as curvas que mostram os perfis de extração simulados a partir da solução analítica de Fick (Figura 20) e os dados experimentais (Figura 19) nota-se que os perfis traçados se ajustam aos dados reais como se nota na Figura 21.

Na avaliação das duas cinéticas previstas pela lei de Fick (Figura 22), aquela cujos dados experimentais foram obtidos em um processo semi-contínuo (Caso 1) com aquela que simulou o processo intermitente, como ele realmente ocorre (Caso 2), percebe-se que são muito próximas na região da curva que representa a taxa de extração constante.

Figura 21. Acoplamento dos resultados simulados pela Lei de Fick e dados experimentais (Caso 2).

Fonte: Própria Autoria.

Figura 22. Comparação entre os processos ELP semi-contínuo e o processo com purga intermitente do extrato (Caso 2) realizado à 100 °C

Fonte: Própria Autoria.

A cinética da ELP com purga intermitente de extrato usando etanol 70 %, obtida a partir das condições otimizadas do DCCR, ocorre próxima a região da curva (Figura 22) onde está a taxa de extração constante. Nota-se ainda que o processo intermitente apresentou menor taxa de difusão e isso se explica ao fato de que leva maior quantidade de tempo para se extrair a mesma quantidade de extrato em relação ao semi-contínuo. Mas, ao se considerar uma futura aplicação industrial, o comportamento do processo mostra que a maior quantidade extraída

é alcançada em menor período de tempo. Este estudo das cinéticas da ELP confirma ainda o emprego de menores quantidades de solvente para uma extração eficiente, pois o processo semi-contínuo apresentou maior utilização de solvente em relação ao processo operado em ciclos com purga intermitente do extrato. No processo intermitente, utilizou-se em torno de 90 mL de solvente no tempo de 1.400 s, enquanto que no processo semi-contínuo a utilização de solvente ficou em torno de 157 mL para o mesmo tempo de extração. O alto rendimento no período de taxa de extração constante sugere que o ELP pode ser realizado em poucos minutos com economia notável de solvente assim como observado também por Barrales et al. (2018).

5.5. Aumento de escala

As extrações em escala piloto foram feitas em triplicatas na condição otimizada do DCCR para compostos fenólicos (ensaio 16, Tabela 9), portanto ocorreram à 80 °C, com volume de enxague (VS) de 100 % o valor do volume do extrator de 2 L, dividido em 5 ciclos (C) com o tempo estático (tE) de 6 min. Os resultados do rendimento em sólidos em cada ciclo, do rendimento global (X_0) e do consumo energético são apresentados na Tabela 14.

Tabela 14 - Resultados do rendimento em sólidos por cada ciclo da ELP com etanol 70 % em um processo intermitente de purga de extrato, rendimento global e consumo de energia obtidos no extrator em escala piloto.

Massa de extrato seco ciclo 1 (g)	62,3 ± 6,72
Massa de extrato seco ciclo 2 (g)	31,8 ± 1,5
Massa de extrato seco ciclo 3 (g)	21,0 ± 0,3
Massa de extrato seco ciclo 4 (g)	12,9 ± 1,6
Massa de extrato seco ciclo 5 (g)	18,6 ± 3,16
Total de extrato seco (g)	146,6 ± 6,31
Rendimento global (X_0) (%)	35,6 ± 1,5
Consumo energético (Wh)	178,1 ± 23,5
Volume de solvente utilizado (mL)	3.768,4 ± 121,3

Média ± desvio padrão, n=3. Fonte: Própria autoria.

Os maiores rendimentos em extrato seco ocorrem até o terceiro ciclo, esta constatação vem tanto do comportamento do processo em escala piloto como dos resultados apresentados no item anterior, como podem ser visualizados na Figura 19. O rendimento global obtido foi maior que aquele obtido nas mesmas condições em escala laboratorial (30,46 %), bem como o consumo energético (ensaio 16, Tabela 9). Em termos operacionais, o aumento do consumo energético era esperado já que o aumento da célula de extração ocorreu de 34 mL para 2 L, além disso, a quantidade de solvente para ser aquecido é consideravelmente maior. Fazendo uma correlação simplista do tamanho do equipamento com consumo de energia e, sabendo que as variáveis operacionais se mantêm as mesmas, observa-se que a célula de extração do equipamento em escala laboratorial (34 mL) representa 1,7 % do extrator do equipamento em escala piloto (2 L) (Figura 5) enquanto que o consumo de energia elétrica (18,1 Wh) do equipamento em escala laboratorial mostra ter 10 % do consumo do equipamento em escala piloto (178,1 Wh). Isto indica que o consumo de energia elétrica não se mantém na proporcionalidade do tamanho. O consumo de energia elétrica no ELP em escala piloto, foi proporcionalmente menor já que a proporção de 1,7 % não se manteve. O equipamento em escala piloto consome cinco vezes mais energia que o equipamento menor, mas mesmo assim, o consumo energético ainda é relativamente baixo. Considerando os dados da Tabela 4, o custo energético pode ser estimado em torno de US\$ 0,1087/ kWh, então, pode-se estimar que o custo energético para uma extração seria de US\$ 0,019 dólares ou 11 centavos em reais, indicando que o equipamento tem grande potencial para economizar energia e solvente na indústria farmacêutica.

Comparando o consumo de solvente com o processo de percolação, para 412 g de matéria-prima, o ELP utilizou 3.768 mL de solvente, já em um processo de percolação, para 412 g seriam necessários 10 litros (fazendo uma relação com os dados laboratoriais da Tabela 8). Ainda com os dados da Tabela 4, considerando que cada kg de solvente custe US\$ 0,88 dólares, ou seja, R\$ 5,00 (data de 11 de abril de 2021), e considerando a densidade do etanol igual a 0,91794 g/mL a 25 °C, pode se dizer que uma percolação gastaria em torno de R\$ 45,85 reais enquanto que a extração em escala piloto gastaria R\$ 17,50

reais com solvente. Confirmando novamente o potencial da aplicação deste equipamento na escala industrial.

O último ciclo (ciclo 5) apresentou massa de extrato seco maior que o ciclo 4 (Tabela 14), e o inverso ocorre no equipamento em escala laboratorial para as mesmas condições durante a cinética de extração. No último ciclo, independentemente da escala, todo o extrato remanescente na célula é recolhido pela purga de Nitrogênio (N_2). No equipamento em escala laboratorial a purga ocorreu em 100 s, no equipamento em escala piloto a purga foi de 12 min, o que pode ter arrastado uma maior quantidade de sólidos da matriz, solúvel em etanol 70 %, desta forma a purga de N_2 na escala piloto deve ter, fortemente, contribuído para o maior teor de massa de sólidos extraídos.

Considerando que, para as mesmas condições operacionais (80 °C, com VS de 100 % o valor do volume do extrator, 5 C e 6 min de tE) em escala laboratorial, foi utilizado 80 mL de solvente como volume total em todo o processo para 7 g de folhas secas e trituradas, o equipamento em escala piloto deveria utilizar 4.708,57 mL de etanol 70% (v/v) se a proporcionalidade fosse mantida, no entanto o volume total na extração foi de $3.768,38 \pm 121,32$ mL. O volume total é proveniente do volume usado no preenchimento dos espaços vazios no extrator até que a pressão e a temperatura sejam alcançadas. Em escala piloto a quantidade de folhas secas foi maior e o empacotamento do leito pode ter modificado a porosidade, a qual não foi medida, o que influenciaria no volume de solvente usado para que P e T fossem alcançadas durante o enchimento.

O tempo de processo no ELP em escala piloto, após atingir a temperatura e pressão desejada foi de 62 min, porém, devido ao método de aquecimento da célula ser a circulação de silicone líquido aquecido em um banho termostático, percebeu-se que 90 min são necessários para que a célula de extração juntamente com a amostra e o solvente atinjam a temperatura de 80 °C. O sistema de aquecimento do fluido no extrator encamisado é um problema a ser resolvido na construção deste equipamento. Além disso, justamente por essa demora em atingir a temperatura (T), há também a dificuldade da manutenção dela durante a reposição do solvente durante a purga em cada ciclo, pois o solvente entra na célula em condição de T ambiente. Esse fato pode sugerir que a troca de um banho termostático por uma resistência talvez seja viável em

relação ao tempo de produção ou que a bomba que circule o silicone líquido pelo tanque encamisado seja mais eficiente. Vale ressaltar que, mesmo com a demora do equipamento em manter a temperatura do vaso extrator, ainda assim, o processo é considerado mais rápido e mais eficiente do que a percolação convencional.

Na Figura 23 são apresentados os dados experimentais da ELP em processo intermitente de purga de solvente em escala laboratorial (100 °C, VS de 120 %; 4 C e 6 min de tE) e em escala piloto (80 °C, VS de 100 %, 5 C e 6 min de tE). A ELP usando etanol 70 % apresentou comportamento semelhante ao ensaio em escala piloto. Embora a inclinação da curva do processo em escala piloto seja menos acentuada, devido ao maior tempo de operação, a maior quantidade extraída de sólidos solúveis também ocorre, justamente, nos dois primeiros ciclos de extração.

Figura 23. Curva do processo intermitente ELP com purga do extrato que mostra a concentração de sólidos extraídos das folhas de maracujá pelo número de ciclos ou tempo de extração.

Extração em escala laboratorial em condições otimizadas pelo DCCR (100 °C, VS de 120 %; 4 C e 6 min de tE); em escala piloto as condições experimentais foram (80 °C, VS de 100 %, 5 C e 6 min de tE)

Fonte: Própria autoria.

Os dados em escala laboratorial, modelados pela Lei de Fick (Figura 19) apresentam o mesmo comportamento da curva experimental (Figura 23) e, acredita-se que, ao se considerar maior tempo de extração e as particularidades do aumento de escala, o modelo se ajustaria bem para descrever estes dados experimentais e predizer o comportamento da extração em maior escala, uma vez que já foi comprovado por pesquisadores do LTAPPN que nesse tipo de processo, o tamanho do leito da célula de extração não interfere no rendimento se forem mantidos de uma célula menor para a maior, a razão massa de folhas pelo volume de solvente (COLIVET; OLIVEIRA; CARVALHO, 2016). Além disso, a concentração residual que permanece na matriz após a ELP em escala piloto foi bem próxima à obtida no processo intermitente em escala laboratorial (Figura 23).

Prado; Prado e Meireles (2011) também realizaram o estudo de aumento de escala, cerca de 15 vezes, para o equipamento de extração com fluido supercrítico, e relataram que a manutenção da relação matéria-prima e solvente constante (S/F) foi a melhor consideração a ser feita no aumento de escala. Os autores obtiveram rendimentos relativamente maiores que os de escala laboratorial e ainda relatam que se as formas das curvas de extração forem semelhantes, o fator de aumento de escala pode ser eficiente para o aumento do equipamento. Nesta pesquisa foi possível verificar que a manutenção desta razão constante também pode ser considerada um fator de aumento de escala para um processo intermitente de ELP com purga de extrato.

5.6. Análise Econômica

Na análise econômica foram avaliados dois sistemas, um com uma única célula de extração (Sistema 1 – Figura 6a) e outro (Sistema 2 – Figura 6b) com dois extratores. Em um processo industrial, o emprego de duas células de extração seria mais proveitoso, pois a operação passaria a ser vista como um sistema semi-contínuo, pois enquanto um equipamento estivesse em operação o outro já seria preparado para extrair sem que houvesse ociosidade na produção.

Na estimativa do custo de manufatura (COM) correlacionado ao número de ciclos (C) do processo intermitente de ELP com purga de extrato considerou-se

a produção do extrato em solução e a produção do extrato seco (Tabela 15), que compreende também o custo da remoção do solvente no extrato, por isso apresenta maior custo.

Nesta pesquisa, a proposta é defender um novo processo, rápido e eficiente, de produção de tinturas de plantas medicinais, assim o custo de manufatura condizente com este processo é o COM estimado para o extrato em solução.

Tabela 15 - Estimativa dos valores de COM para cada ciclo de extração dos Sistemas 1 e 2 em relação ao extrato em solução e ao extrato bruto (seco).

Ciclo	Sistema 1		Sistema 2	
	Extrato em Solução	COM específico (Extrato)	Extrato em Solução	COM específico (Extrato)
	US\$/kg solução	US\$/kg extrato	US\$/kg solução	US\$/kg extrato
1	16,75 ± 0,16	206,72 ± 23,80	14,08 ± 0,13	173,83 ± 20,01
2	13,42 ± 0,10	164,12 ± 23,80	11,31 ± 0,09	138,29 ± 12,55
3	11,83 ± 0,07	156,33 ± 23,80	10,48 ± 0,06	138,53 ± 9,83
4	10,91 ± 0,05	160,52 ± 23,80	10,03 ± 0,04	147,46 ± 8,50
5	10,27 ± 0,03	157,63 ± 23,80	9,69 ± 0,03	148,79 ± 6,34

Média ± desvio padrão, n =3.

Fonte: Própria autoria.

No Sistema 1, o qual é semelhante ao equipamento construído em escala piloto, apresentou maiores valores de COM quando comparado ao Sistema 2, indicando que para uma produção industrial, uma operação semi-contínua seria economicamente mais vantajoso (Tabela 15). Os diagramas de Gantt (Figuras 7 e 8) mostram que entre as bateladas do Sistema 1 tem um “gap” (lacuna) de tempo de 10 min para empacotamento da matéria-prima no leito. Esse “gap” não existe no Sistema 2, pois existe tempo suficiente para o empacotamento em um vaso enquanto o outro está em funcionamento. Esta ociosidade de tempo acaba deixando o produto mais oneroso.

Esta análise econômica levou em consideração o equipamento fornecido por uma empresa fabricante brasileira (Singularity Extraction Technology Serviços LTDA) que ao invés de incluir o banho que circula silicone líquido na camisa do extrator como meio de aquecimento considerou um aquecimento via resistência elétrica. Com base nesta consideração, o tempo de pressurização do sistema, como mostra os diagramas de Gantt (Figuras 7 e 8), foi bem mais curto que aquele do equipamento ELP construído no LTAPPN, cujo tempo de

pressurização é cerca de 90 min. Estudos posteriores poderão ser ajustados para a troca do banho termostático pela resistência a fim de se obter melhores condições em relação ao tempo de extração, outro ponto a ser considerado é a troca da bomba do banho termostatizado.

Ao se avaliar o COM para a produção do extrato em solução (Tabela 15) percebe-se que, à medida que o número de ciclos aumenta o custo de manufatura diminui. Isto ocorre porque o extrato que está sendo somado em cada ciclo, embora diluído, irá somar ao extrato final. Isto ocorre para ambos os sistemas, no entanto o COM é maior para o Sistema 1, aquele que opera com somente com um extrator.

O COM obtido no Sistema 1 após o último ciclo de purga do extrato (10.27 US\$/kg solução) é superior ao COM no Sistema 2, após o mesmo período nas mesmas condições operacionais (80 °C, VS de 100 %, 5 C e 6 min de tE). Em uma avaliação abreviada, já que não se está sendo levado em conta todos os impostos sobre o produto e o custo de venda, considerando que o kg de tintura de folhas de maracujá (ρ da tintura $\approx 0,8692$ g/mL) custa R\$ 632,76 ou US\$ 111.40 (OFICINA DE ERVAS, 2021) (R\$ 5,68 $\approx$ US\$ 1,00 em 11/04/2021) e que a carga tributária de medicamentos no Brasil é de 33 % (VIEIRA, 2020), o valor do produto para venda seria de US\$ 76.31/kg de tintura enquanto que o COM para ambos os sistemas seria por volta de US\$ 10.00 US\$/kg solução. Embora resumida as considerações, este cenário mostra que uma avaliação de mercado, na complementação deste estudo seria muito recomendado.

Ainda na Tabela 15, o menor valor de COM para o Sistema 1 em relação ao extrato seco foi de 156.33 US\$/kg extrato com a extração ocorrendo até o terceiro ciclo. Já no Sistema 2, o menor valor de COM foi com a extração ocorrendo nos ciclos 2 e 3 com valor de 138.29 US\$/kg extrato. A produção do extrato seco não é o objetivo desta pesquisa, mas na comparação da produção é nítido que, na produção de extrato seco, na medida em que o número de ciclos aumenta maior é o COM, após o segundo ou terceiros ciclos, o gasto com a produção se sobrepõe à quantidade de sólidos solúveis extraídos. Neste caso, se o objetivo fosse a produção de extrato seco, o número de ciclos do processo poderia ser reduzido para dois ou três. Fica evidente que a análise econômica sempre vem trazer um novo cenário para a otimização de processos, mostrando

que nem sempre extrair por mais tempo, ou mais ciclos, é melhor, pois o custo específico no tempo aumenta a partir de certo ponto.

Ao aumentar da escala piloto para a industrial, há cada vez mais viabilidade econômica uma vez que os valores de COM obtidos reduziram de 148.59 \$/kg para 46.14 \$/kg de dois extratores de 2 L para dois extratores de 100 L (Tabela 16), isto no cenário para produção de extrato seco. Para a produção de tintura, o COM vai de valor próximo a US\$ 10.00 US\$/kg solução para US\$ 3.00 US\$/kg solução.

Tabela 16. Valores de COM estimados para os sistemas de produção em escala industrial.

	Valores de COM		Produtividade	
	Solução	Extrato seco	Solução	Extrato seco
	\$/kg	\$/kg	kg/ano	kg/ano
2x2L	9,70	148,59	8171,00	533,26
2x10L	4,59	70,37	40869,00	2666,23
2x50L	3,35	51,38	204346,00	13331,28
2x100L	3,01	46,14	408688,00	26662,46

Fonte: Própria autoria.

Na avaliação econômica global, a produção de tintura via ELP usando purga intermitente de extrato torna-se interessante para a indústria farmacêutica fitoterápica.

6. Conclusão

Em escala laboratorial, a otimização do processo de obtenção de tintura de folhas de maracujá demonstrou que o rendimento global foi influenciado apenas pela temperatura (T) e pelo número de ciclos (C) e a condição otimizada foi a 113° C, 100% VS e 3 C. Para o teor de flavonóides totais e fenólicos totais, o que mais influenciou nestes resultados foram a temperatura seguido pelo número de ciclos (C). O tempo estático (tE) não afetou nenhuma das respostas analisadas e a porcentagem de volume de solvente afetou pouco a recuperação de fenólicos. A condição otimizada para fenólicos e flavonóides foi de 100 °C, 120 % de VS, 4 ciclos.

A modelagem do processo é essencial para o aumento de escala e análise econômica, uma vez que se obtém dados sobre o comportamento da extração e

este deve ser semelhante no equipamento em maior escala. Neste processo, observa-se que a faixa de temperatura estudada, de 80 a 100 °C não afetou a difusividade mássica efetiva, e que a maior quantidade de extrato foi obtida nos primeiros ciclos de extração. Além disso, há uma considerável economia de solvente pelo fato de o processo ser intermitente e não contínuo.

No aumento de escala, observou-se que o equipamento em escala piloto apresentou rendimentos levemente superiores à escala laboratorial, e o comportamento da extração foram semelhantes. O consumo de energia do equipamento laboratorial é 10% do consumo energético do equipamento piloto, e mesmo assim, o consumo é baixo, fazendo com que seja promissor o emprego deste equipamento na indústria. Porém, o sistema de aquecimento do fluido no extrator encamisado é um problema a ser resolvido na construção deste equipamento. Além disso, justamente pela demora em atingir a temperatura (T), há também a dificuldade da manutenção dela durante a reposição do solvente durante a purga em cada ciclo, pois o solvente entra na célula em condição de T ambiente. Nesta pesquisa foi possível verificar que a manutenção da razão S/F constante também pode ser considerada um fator de aumento de escala para um processo intermitente de ELP com purga de extrato.

Na análise econômica, ao avaliar o custo de manufatura demonstrou-se que a produção é mais viável em indústria em um processo simulando o equipamento semi-contínuo e que é mais vantajoso extrair em até 2 ciclos. Com isso, pode-se dizer que a técnica ELP pode ser aplicada na indústria farmacêutica e que é mais rentável devido ao baixo consumo de energia e de solvente, sendo um método superior aos métodos convencionais que não consomem energia.

7. Perspectivas para pesquisas futuras

Ainda há necessidade de estudos realizando-se a troca do banho termostático do equipamento por uma resistência, bem como a automatização do mesmo. Este estudo pode ser aplicado também a outros processos para se obter uma alternativa de extração com solventes verdes e visualização do comportamento de extração, tais como o processo de obtenção de óleo de

girassol e soja, além da indústria de obtenção de cafeína e produção de café solúvel, corantes, óleos essenciais e açúcar.

8. Referências Bibliográficas

AGATI, G. et al. Flavonoids as antioxidants in plants: Location and functional significance. **Plant Science**, v. 196, p. 67–76, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.plantsci.2012.07.014>>.

AGUILLÓN-OSMA, J. et al. Impact of in vitro gastrointestinal digestion on the bioaccessibility and antioxidant capacity of bioactive compounds from Passion fruit (*Passiflora edulis*) leaves and juice extracts. **Journal of Food Biochemistry**, v. 43, n. 7, p. 1–11, 2019.

ALBUQUERQUE, C. L. C. **Extração Supercrítica de Matrizes Vegetais Oleaginosas: rendimento global, cinética de extração, composição química e atividade antioxidante** Carolina Lima Cavalcanti de Albuquerque. 2008. 2008.

AMEER, K.; SHAHBAZ, H. M.; KWON, J. H. Green Extraction Methods for Polyphenols from Plant Matrices and Their Byproducts: A Review. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 16, n. 2, p. 295–315, 2017.

BARRALES, F. M. et al. Recovery of phenolic compounds from citrus by products using pressurized liquids — An application to orange peel. **Food and Bioproducts Processing**, v. 112, p. 9–21, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.fbp.2018.08.006>>.

BELANDRIA, V. et al. Pressurized-fluid extraction of cafestol and kahweol diterpenes from green coffee. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 37, p. 145–152, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.ifset.2016.07.022>>.

BENINCÁ, J. P. et al. Evaluation of the anti-inflammatory efficacy of *Passiflora edulis*. **Food Chemistry**, v. 104, n. 3, p. 1097–1105, 2007.

BERALDO, J. **Estudo farmacognóstico de *Passiflora edulis* Sims. (Passifloraceae).** 2008. 2008.

BERNACCI, L. C. *Passifloraceae*. v. 3, p. 247–274, 2003.

BEZERRA, M. A. et al. Response surface methodology (RSM) as a tool for optimization in analytical chemistry. **Talanta**, v. 76, n. 5, p. 965–977, 2008.

BITTENCOURT, G. M. et al. Application of Green Technology for the Acquisition of Extracts of Araçá (*Psidium grandifolium* Mart. ex DC.) Using Supercritical CO₂ and Pressurized Ethanol: Characterization and Analysis of Activity. **Journal of Food Science**, v. 84, n. 6, p. 1297–1307, 2019.

BRASIL. Formulário de Fitoterápicos Farmacopeia Brasileira - Primeiro Suplemento. p. 160, 2011. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/documents/33832/259456/Suplemento+FFFB.pdf/478d1f83-7a0d-48aa-9815-37dbc6b29f9a>>.

CARABIAS-MARTÍNEZ, R. et al. Pressurized liquid extraction in the analysis of food and biological samples. **Journal of Chromatography A**, v. 1089, n. 1–2, p.1–17, 2005.

CARVALHO, P. I. N. et al. Spatial and temporal temperature distributions in fixed beds undergoing supercritical fluid extraction. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 47, n. March, p. 504–516, 2018.

CASTEJÓN, N.; LUNA, P.; SEÑORÁNS, F. J. Alternative oil extraction methods from *Echium plantagineum* L. seeds using advanced techniques and green solvents. **Food Chemistry**, v. 244, n. September 2017, p. 75–82, 2018. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.10.014>>.

CHANDRASEKHAR, D. et al. Antiglycation property of *passiflora edulis* f. *Flavicarpa* deg. foliage in type 2 diabetic patients. **Clinical Epidemiology and Global Health**, v. 7, n. 3, p. 409–412, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.cegh.2018.07.002>>.

CLAUDE, B. et al. Selective solid-phase extraction of a triterpene acid from a plant extract by molecularly imprinted polymer. **Talanta**, v. 75, n. 2, p. 344–350, 2008.

COLIVET, J.; OLIVEIRA, A. L.; CARVALHO, R. A. Influence of the bed height on the kinetics of watermelon seed oil extraction with pressurized ethanol. **Separation and Purification Technology**, v. 169, p. 187–195, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.seppur.2016.06.020>>.

CONTE, E. et al. Comparison between accelerated solvent extraction and traditional extraction methods for the analysis of the herbicide diflufenican in soil. **Journal of Chromatography A**, v. 765, n. 1, p. 121–125, 1997.

CRANK J The mathematics of diffusion, 2nd edn. Clarendon Press, Oxford, (1975).

DA SILVA, J. K. et al. Antioxidant activity of aqueous extract of passion fruit (*Passiflora edulis*) leaves: In vitro and in vivo study. **Food Research International**, v. 53, n. 2, p. 882–890, 2013.

DATTA, A. K., & SABLANI, S. S.. Mathematical modeling techniques in food and bioprocess: an overview (pp. 1-11). CRC Press, Boca Raton, FL, USA, (2007).

DEGENER, O. *Passiflora edulis*. Flora Hawaiiensis, Honolulu, family 250, 1932.

DE OLIVEIRA, N. A. et al. Green coffee extracts rich in diterpenes e Process optimization of pressurized liquid extraction using ethanol as solvent. **Journal of Food Engineering**, v. 224, p. 148–155, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2017.12.021>>.

DE OLIVEIRA, N. A. et al. Composition and physical properties of babassu seed (*Orbignya phalerata*) oil obtained by supercritical CO₂ extraction. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 150, p. 21–29, 2019.

DENG, J. et al. Anxiolytic and sedative activities of *Passiflora edulis* f. *flavicarpa*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 128, n. 1, p. 148–153, 2010.

DHAWAN, K.; DHAWAN, S.; SHARMA, A. *Passiflora*: A review update. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 94, n. 1, p. 1–23, 2004.

DOS SANTOS, K. C. et al. *Passiflora actinia* hydroalcoholic extract and its major constituent, isovitexin, are neuroprotective against glutamate-induced cell damage in mice hippocampal slices. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 68, n. 2, p. 282–291, 2016.

EMBRAPA. EMBRAPA Mandioca e Fruticultura. p. 4–7, 2017.

FERRERES, F. et al. New C-deoxyhexosyl flavones and antioxidant properties of *Passiflora edulis* leaf extract. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, n. 25, p. 10187–10193, 2007.

GADIOLI, I. L. et al. A systematic review on phenolic compounds in *Passiflora* plants: Exploring biodiversity for food, nutrition, and popular medicine. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 58, n. 5, p. 785–807, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1080/10408398.2016.1224805>>.

GAMSE, T. Liquid-liquid extraction and solid-liquid extraction. Institute of Thermal Process and Environmental Engineering, **Graz University of Technology**. 2002.

p.80.

GOMES, S. V. F. **Aplicação do planejamento Box-Behnken na otimização de método de extração de flavonóides usando extração acelerada com solventes (ASE) e quantificação de marcadores químicos por CLAE-DADUV em espécies do gênero Passiflora**. 2013. Universidade Federal da Bahia, 2013.

GOMES, S. V. F. et al. Accelerated solvent extraction of phenolic compounds exploiting a Box-Behnken design and quantification of five flavonoids by HPLC/DAD in *Passiflora* species. **Microchemical Journal**, v. 132, p. 28–35, 2017.

GONÇALVES FILHO, A. et al. *Passiflora edulis* extract and the healing of abdominal wall of rats: Morphological and tensiometric study. **Acta Cirurgica Brasileira**, v. 21, n. 2, p. 7–14, 2006.

HASENCLEVER, L. et al. A Indústria de Fitoterápicos como Oportunidade de Desenvolvimento Local e Acesso a Medicamentos: uma discussão sobre a sua regulamentação. **Journal of Chemical Information and Modeling**, v. 53, n. 9, p. 1689–1699, 2015.

HINOJOSA, M. A. Diagrama de Gantt. p. 26, 2003. Disponível em: <[http://www.colegio-isma.com.ar/Secundaria/Apuntes/Mercantil/4Mer/Administracion/Diagrama de Gantt.pdf](http://www.colegio-isma.com.ar/Secundaria/Apuntes/Mercantil/4Mer/Administracion/Diagrama%20de%20Gantt.pdf)>.

HU, J. et al. Pressurized liquid extraction of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) with bioethanol: An efficient and sustainable approach. **Journal of Chromatography A**, v. 1218, n. 34, p. 5765–5773, 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.chroma.2011.06.088>>.

KHAN, Z. et al. Analysis of pesticide residues in tuber crops using pressurised liquid extraction and gas chromatography-tandem mass spectrometry. **Food Chemistry**, v. 241, n. May 2017, p. 250–257, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.08.091>>.

KIM, D. O.; JEONG, S. W.; LEE, C. Y. Antioxidant capacity of phenolic phytochemicals from various cultivars of plums. **Food Chemistry**, v. 81, n. 3, p. 321–326, 2003.

KRESSELMEIER, A.; DURBECK, H. W. Determination of alkylphenols and linear alkylbenzene sulfonates in sediments applying accelerated solvent extraction (ASE). **Fresenius' journal of analytical chemistry**, v. 354, n. 7–8, p. 921–

924,1996.

LEE, A. K. K. et al. Modelling of supercritical carbon dioxide extraction of canola oilseed in fixed beds. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 63, n.7, p. 921–925, 1986.

LI, H. et al. Comparative studies on anxiolytic activities and flavonoid compositions of *Passiflora edulis* “edulis” and *Passiflora edulis* “flavicarpa”. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 133, n. 3, p. 1085–1090, 2011.

MARIOTTI-CELIS, M. S. et al. Impact of an integrated process of hot pressurized liquid extraction–macroporous resin purification over the polyphenols, hydroxymethylfurfural and reducing sugars content of *Vitis vinifera* ‘Carménère’ pomace extracts. **International Journal of Food Science and Technology**, v.53, n. 4, p. 1072–1078, 2018.

MENDIOLA, J. A. et al. Screening of functional compounds in supercritical fluid extracts from *Spirulina platensis*. **Food Chemistry**, v. 102, n. 4, p. 1357–1367, 2007.

MEZZOMO, N.; MARTÍNEZ, J.; FERREIRA, S. R. S. Supercritical fluid extraction of peach (*Prunus persica*) almond oil: Kinetics, mathematical modeling and scaleup. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 51, n. 1, p. 10–16, 2009.

MONRAD, J. K. et al. Subcritical solvent extraction of anthocyanins from dried red grape pomace. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, n. 5, p. 2862–2868, 2010.

MUSTAFA, A.; TURNER, C. Pressurized liquid extraction as a green approach in food and herbal plants extraction: A review. **Analytica Chimica Acta**, v. 703, n. 1, p. 8–18, 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.aca.2011.07.018>>.

OBANA, H., KIKUCHI, K., OKIHASHI, M., & HORI, S. (1997). Determination of Organophosphorus Pesticides in Foods Using an Accelerated Solvent Extraction System. **Analyst**, 122(3), 217-220.

OFICINA DE ERVAS. Tintura de Folha de Maracujá (*Passiflora Edulis* Sims). Disponível em < <https://www.oficinadeervas.com.br/maracuja-passiflora>>, ultimo acesso em 11 de abril de 2021.

OKIYAMA, D. C. G. et al. Pressurized liquid extraction of flavanols and alkaloids from cocoa bean shell using ethanol as solvent. **Food Research International**,

v. 114, n. July, p. 20–29, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.07.055>>.

OLIVEIRA, A. L. et al. Isolation by pressurised fluid extraction (PFE) and identification using CPC and HPLC/ESI/MS of phenolic compounds from Brazilian cherry seeds (*Eugenia uniflora* L.). **Food Chemistry**, v. 145, p. 522–529, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.08.065>>.

ONGKOWIJOYO, P.; LUNA-VITAL, D. A.; GONZALEZ DE MEJIA, E. Extraction techniques and analysis of anthocyanins from food sources by mass spectrometry: An update. **Food Chemistry**, v. 250, n. July 2017, p. 113–126, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.01.055>>.

PAES, J. et al. Extraction of phenolic compounds and anthocyanins from blueberry (*Vaccinium myrtillus* L.) residues using supercritical CO₂ and pressurized liquids. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 95, p. 8–16, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.supflu.2014.07.025>>.

PALLARONI, L.; VON HOLST, C. Determination of zearalenone from wheat and corn by pressurized liquid extraction and liquid chromatography-electrospray mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 993, n. 1–2, p. 39–45, 2003.

PARDO, O. et al. Development of a pressurised liquid extraction and liquid chromatography with electrospray ionization-tandem mass spectrometry method for the determination of domoic acid in shellfish. **Journal of Chromatography A**, v. 1154, n. 1–2, p. 287–294, 2007a.

PARDO, O. et al. Determination of acrylamide in coffee and chocolate by pressurised fluid extraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry. **Food Additives and Contaminants**, v. 24, n. 7, p. 663–672, 2007b.

PEREIRA, C. G.; MEIRELES, M. A. A. Supercritical fluid extraction of bioactive compounds: Fundamentals, applications and economic perspectives. **Food and Bioprocess Technology**, v. 3, n. 3, p. 340–372, 2010.

PEREIRA, C.G.; PRADO, J.M.; MEIRELLES, A.J.A.; MEIRELES, M.A.A. Extração sólido-líquido. Capítulo 18 do livro Operações Unitárias na indústria de Alimentos, vol II, 2016.

PERRY, R. H., & GREEN, D. W. Perry's chemical engineers' handbook. New York: McGraw-Hill, 1934.

PETRY, R. D. et al. Comparative pharmacological study of hydroethanol extracts of *Passiflora alata* and *Passiflora edulis* leaves. **Phytotherapy Research**, v. 15, n. 2, p. 162–164, 2001.

PÓL, J. et al. Comparison of two different solvents employed for pressurised fluid extraction of stevioside from *Stevia rebaudiana*: Methanol versus water. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 388, n. 8, p. 1847–1857, 2007.

PRADO, J. M.; PRADO, G. H. C.; MEIRELES, M. A. A. Scale-up study of supercritical fluid extraction process for clove and sugarcane residue. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 56, n. 3, p. 231–237, 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.supflu.2010.10.036>>.

PRAKASH, D. et al. Total phenol, antioxidant and free radical scavenging activities of some medicinal plants. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, v. 58, n. 1, p. 18–28, 2007.

PUTNIK, P. et al. Green extraction approach for the recovery of polyphenols from Croatian olive leaves (*Olea europea*). **Food and Bioproducts Processing**, v.106, p. 19–28, 2017.

RAJHA, H. N. et al. Effect of the drying process on the intensification of phenolic compounds recovery from grape pomace using accelerated solvent extraction. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 15, n. 10, p. 18640–18658, 2014.

RAMIREZ, V. et al. Biological activity of *Passiflora edulis* f. *Flavicarpa* ethanolic leaves extract on human colonic adenocarcinoma cells. **Journal of Applied Pharmaceutical Science**, v. 9, n. 2, p. 64–71, 2019.

RAMOS PE, CERQUEIRA MA, COOK MT, BOURBON, A.I., KHUTORYANSKIY, V.V., CHARALAMPOULOS, D. et al. Development of an immobilization system for in situ micronutrients release. **Food Res Int** 90:121–132. (2016) <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2016.10.050>(2016)

REVERCHON, E.; MARRONE, C. Supercritical extraction of clove bud essential oil: Isolation and mathematical modeling. **Chemical Engineering Science**, v. 52, n. 20, p. 3421–3428, 1997.

RICHTER, B. E. et al. Accelerated solvent extraction: A technique for sample preparation. **Analytical Chemistry**, v. 68, n. 6, p. 1033–1039, 1996.

RODRÍGUEZ-CABO, T. et al. Assessment of alcoholic distillates for the extraction of bioactive polyphenols from grapevine canes. **Industrial Crops and**

Products, v. 111, n. August 2017, p. 99–106, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.10.011>>.

ROSA, P. T. V.; MEIRELES, M. A. A. Rapid estimation of the manufacturing cost of extracts obtained by supercritical fluid extraction. **Journal of Food Engineering**, v. 67, n. 1–2, p. 235–240, 2005.

ROSA, R. H. et al. Lattice Boltzmann simulation of cafestol and kahweol extraction from green coffee beans in high-pressure system. **Journal of Food Engineering**, v. 176, p. 88–96, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2015.07.002>>.

SAM SAGUY, I. Challenges and opportunities in food engineering: Modeling, virtualization, open innovation and social responsibility. **Journal of Food Engineering**, v. 176, p. 2-8, 2016.

SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic- Phosphotungstic Acid Reagents. *Americal Journal of Enology Viticulture*, v. 16, p. 144, 1965.

SOUZA-SANTOS, M.L. *Solid Fuels Combustion and Gasification: Modeling, Simulation, and Equipment Operations*, second ed. CRC Press, New York, 2010.

SPIGNO, G.; TRAMELLI, L.; DE FAVERI, D. M. Effects of extraction time, temperature and solvent on concentration and antioxidant activity of grape marc phenolics. **Journal of Food Engineering**, v. 81, n. 1, p. 200–208, 2007.

TADINI, C. C.; TELIS, V. R N ; MEIRELLES, A. J.a. ; PESSOA FILHO, P. A. . *Operações Unitárias na Indústria de Alimentos Vol 1*. 1. ed. RIO DE JANEIRO: LTC, 2015. v. 1. 562p

THERMO SCIENTIFIC. *Dionex ASE 350 Accelerated Solvent Extractor Operator's Manual*. **Thermo Fisher Scientific**, n. 065220, p. 268, 2011.

TURTON, R. C., BAILIE, W. B., WHITING, J. A., & Shaeiwitz, J. A. (1998). *Analysis, synthesis, and design of chemical process*. Upper Saddle River: Prentice Hall, PTR.

VALENTAS, K.J.;LEVINE, J. P.;CLARK, M.D. *Food processing operations and scale-up*.1991.

VIEIRA, S. O dirigente da entidade que reúne as farmácias e drogarias diz que o governo esqueceu de incluir remédios na proposta de desoneração enviada ao Congresso. Eles poderão ficar mais caros e até sumir das prateleiras. **Isto É**

Dinheiro.2020. Disponível em: <<https://www.istoedinheiro.com.br/o-brasil-ecampeao-em-impostos-sobre-medicamentos-e-isso-vai-piorar-com-a-reformatributaria/>> Acesso em 11 de abril de 2021.

VIGANÓ, J. et al. Pressurized liquids extraction as an alternative process to readily obtain bioactive compounds from passion fruit rinds. **Food and Bioproducts Processing**, v. 100, p. 382–390, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.fbp.2016.08.011>>.

VIGANÓ, J.; ZABOT, G. L.; MARTÍNEZ, J. Supercritical fluid and pressurized liquid extractions of phytonutrients from passion fruit by-products: Economic evaluation of sequential multi-stage and single-stage processes. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 122, n. 2017, p. 88–98, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.supflu.2016.12.006>>.

YAMMINE, S. et al. Extraction and purification of high added value compounds from by-products of the winemaking chain using alternative/nonconventional processes/technologies. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 58, n. 8, p. 1375–1390, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1080/10408398.2016.1259982>>.

ZHANG, Y. et al. Screening and isolation of potential neuraminidase inhibitors from leaves of *Ligustrum lucidum* Ait. based on ultrafiltration, LC/MS, and online extraction-separation methods. **Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences**, v. 1083, n. January, p. 102–109, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2018.03.006>>.

ZHISHEN, J.; MENGCHENG, T.; JIANMING, W. **The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals** *Food Chemistry*, 1999.