



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS  
FACULDADE DE ENGENHARIA QUÍMICA  
DEPARTAMENTO DE SISTEMAS DE PROCESSOS  
QUÍMICOS E INFORMÁTICA

---

**EXTRAÇÃO DE CORANTES NATURAIS E ÓLEOS  
ESSENCIAIS**

---

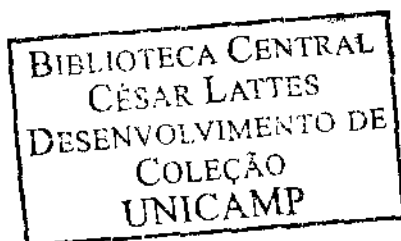
**Felix Martin Carbajal Gamarra**

Orientador: Prof. Dr. Elias Basile Tambourgi

Tese apresentada à Faculdade de Engenharia Química como parte dos requisitos exigidos para obtenção do título de Doutor em Engenharia Química.

Campinas – São Paulo

Agosto de 2006



UNIDADE BC  
Nº CHAMADA TUNICAMP  
C1772  
V \_\_\_\_\_ EX \_\_\_\_\_  
TOMBO BC/ 70580  
PROC. 16 P. 00123 ct  
C \_\_\_\_\_ B \_\_\_\_\_  
PREÇO 11,00  
DATA 16/11/06  
BIB-ID 391172

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

C177e Carbajal Gamarra, Felix Martin  
Extração de corantes naturais e óleos essenciais /  
Felix Martins/Carbajal Gamara.--Campinas, SP: [s.n.],  
2006.

Orientador: Elias Basile Tambourgi.  
Tese (Doutorado) - Universidade Estadual de  
Campinas, Faculdade de Engenharia Química.

1. Corantes. 2. Óleos essenciais. 3. Extração líquido-  
líquido. I. Tambourgi, Elias Basile. II. Universidade  
Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia  
Química. III. Título.

Título em Inglês: Essential oils and natural corants extraction

Palavras-chave em Inglês: Natural corants, Essential oils, Liquid-liquid

Área de concentração: Sistemas de Processos Químicos e Informática

Titulação: Doutor em Engenharia Química

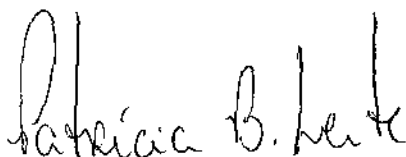
Banca examinadora: Ana Paula Brescancini Rabelo, Patrícia Bernardi Leite, Mario  
Eusébio Torres Alvarez e Elenise Bannwart de Moraes Torres

Data da defesa: 25/08/2006

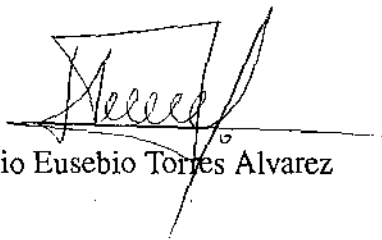
Tese de Doutorado defendida por Felix Martin Carbajal Gamarra , em 25 de agosto de 2006 e aprovada pela banca constituída pelos doutores:




Ana Paula Brescancini Rabelo



Patrícia Bernardi Leite



Mario Eusebio Torres Alvarez



Elenise Bannwart de Moraes Torres



Elias Basile Tambourgi

Esta versão corresponde à final da Tese de Doutorado , defendida por Felix Martin Carbajal Gamarra , em 25 de agosto de 2006.

A handwritten signature in black ink, consisting of several fluid, overlapping strokes that form a cursive name.

Prof Dr Elias Basile Tambourgi-orientador

## AGRADECIMENTOS

A Deus todo poderoso, por permitir concretizar meu objetivo e por estar presente em todos os momentos da minha vida.

Ao Prof. Dr. Elias Basile Tambourgi e ao Prof. Dr. Edison Bittencourt, pela orientação, por compartilhar seus conhecimentos, pela liberdade e confiança no desenvolvimento do projeto.

Aos meus Pais *Gerardo e Olinda* pelo amor, pela confiança, apoio e compreensão em todos os momentos! Aos meus queridos irmãos *Kathya, Gerardo, Gisela e Juan Carlos* por seus conselhos e compreensões, ao meu estimado tio *Jaime* pela força que sempre me dá. A *Nicolle* pessoa muito especial e maravilhosa na minha vida. A *Valquiria*, pessoa muito especial e pela constante colaboração e forças durante a realização da pesquisa.

A Família *Suassuna Lopes*. A meus amigos; *Lyssa, Patrícia, Jeny e Marco e Gisele*, pela nossa amizade, pelas palavras de incentivo.

Ao Prof. Dr. Fernando Antonio Cabral pelas sugestões e por permitir utilizar os equipamentos de ESC.

A todos os Doutores que participaram da banca das qualificações e da defesa de tese.

Ao pessoal do Laboratório; *Patrícia, Gilvan, Eloísa, José Carlos*, e a todos meus colegas da FEQ e da UNICAMP, por compartilhar todo este tempo de convivência. Aos Professores e Secretária do DESQ, assim como ao Pessoal administrativo da Graduação e Pós-Graduação da FEQ, pelas orientações prestadas na necessidade.

A Capes pelo financiamento da tese.

Dedicatória

*À melhora da saúde de Meu Pai*

## RESUMO

Nas últimas décadas, o estudo de produtos naturais aumentou notoriamente devido a presença de compostos químicos ativos de interesse com aplicações em diversas áreas. Dados de corantes naturais e óleos essenciais são dados escassamente publicados na literatura e os poucos dados que existem encontram-se em forma de patente, motivo pela qual justifica o estudo. Foram selecionados o Milho Roxo (*Zea mays L.*) e a Flor o Marigold (*Tagetes erecta L.*) devido à enorme importância a nível sócio-econômico, científico e industrial. Também foi selecionado o óleo essencial de limão devido à diversidade de aplicações industriais. O objetivo deste trabalho é obter dados experimentais para poder criar um banco de dados suficiente para montar modelos matemáticos que possam prever e descrever o comportamento termodinâmico e físico-químico, em função de grupos moleculares de maior presença nos produtos estudados. Foram utilizados diferentes métodos de extração visando selecionar o solvente mais seletivo e eficiência dos processos. Foi determinada a estabilidade dos corantes fazendo um acompanhamento dos extratos obtidos em função do tempo, assim como, o isolamento dos compostos de maior presença, a solubilidade, a recuperação dos solventes utilizados e a caracterização da matéria prima e dos extratos. Já no caso do óleo essencial foi determinada a influência do tempo na qualidade do óleo (sensorial e econômica) acompanhado e identificando os compostos por HPLC após a destilação convencional na qualidade do destilado.

**Palavras Chave:** Corantes naturais, Marigold, Milho Roxo, óleo essencial, métodos de extração, extração supercrítica.

## ABSTRACT

In the last decades, the study of natural products increased due to the presence of active chemical composites of interest which can be applied to different areas. There is scarce literature on data about natural colorants and essential oils and the few works published are found in the form of patents, which provide good rationale for this study. The Purple Maize (*Zea mays L.*) and Marigold (*Tagetes erecta L.*) were selected due to their major socio-economic, scientific and industrial importance. Lemon essential oil was also selected due to its diverse industrial applications. The objective of this work is to obtain experimental data that will enable to create a data base with enough information to set-up mathematical models that can predict and describe thermodynamic and physical-chemical behavior, as a function of the most present molecular groups of the products studied. Different methods of extraction were used to select the most selective and efficient solvent of the processes. The stability of the colorants was determined by accompanying the extracts obtained through time, as well as, by isolating the most common composites, the solubility, the recovery of the solvents used and the characterization of raw material and extracts. In the case of the essential oil the influence of time in the quality of the oil (sensorial and economic) was determined. The composites for HPLC were identified using the conventional distillation in the quality of the distilled.

**Key words:** Natural colorants, Marigold, Purple Maize, oil essential, extraction, and supercritical extraction.



## ÍNDICE GERAL

<b>CAPÍTULO 1</b>	1
1.1 Introdução	1
1.2 Objetivos	3
1.3 Revisão Bibliográfica	4
1.3.1 Corante	4
1.3.2 Milho Roxo ( <i>Zea mays L.</i> )	8
1.3.2.1 Antocianinas	10
1.3.2.1.1 Estrutura e Estabilidade	11
1.3.3 Flor o Marigold ( <i>Tagetes erecta L.</i> )	12
1.3.3.1 Xantofilas estrutura e estabilidade	13
1.3.4 Processos de Extração dos Pigmentos	14
1.3.4.1 Extração em CO <sub>2</sub> Supercrítico	15
1.3.4.1.1 Fundamentos Termodinâmicos	15
1.3.5 Equações do tipo Chrastil	16
1.3.6 Óleo essencial do limão	18
1.4 Referências Bibliográficas	20
<b>CAPÍTULO 2</b>	25
2. Influence on the quality of essential lemon ( <i>Citrus aurantifolia</i> ) oil by distillation process	26
2.1 Abstract	26
2.2 Introduction	26
2.3 Experimental Section	27

2.3.1	Material	27
2.3.2	Extraction of the Essential Oil by Distillation Process	28
2.3.3	Essential Oil Analysis	28
2.3.3.1	Sensorial	28
2.3.3.2	Gas Chromatography	28
2.3.3.3	Physical Determination	29
2.3.3.4	Aldehyde Determination	29
2.3.4	Statistical Analysis	29
2.4	Results and Discussion	30
2.5	Conclusions	34
2.6	References	34
	<b>Capítulo 3</b>	<b>36</b>
3.	Extração do corante natural do Marigold ( <i>Tagetes Erecta L.</i> ), solubilidade em CO <sub>2</sub> supercrítico, purificação da Luteína e recuperação dos solventes.	37
3.1	Resumo	37
3.2	Introdução	37
3.3	Experimental	39
3.3.1	Material	39
3.3.2	Extração e purificação dos pigmentos	40
3.3.2.1	Saponificação	41
3.3.2.2	<i>Cristalização</i>	43
3.3.3	Propriedades físico-químicas	43
3.3.4	Análises dos corantes	43

3.3.4.1 Solubilidade do pigmento (Luteína)	44
3.4 Resultados e Discussões	46
3.5 Conclusão	51
3.6.Referências Bibliográficas	53
<b>Capítulo 4</b>	<b>56</b>
4. Extração do corante natural do Milho Roxo ( <i>Zea Mays L.</i> ) e aplicações industriais	57
4.1 Resumo	57
4.2 Introdução	57
4.3 Experimental	59
4.3.1 Material	59
4.3.2 Caracterização das sementes	59
4.3.3 Sistema Extração de extração com solvente	60
4.3.4 Obtenção de papel indicador de pH	61
4.3.5 Teor das Antocianinas extraídas do milho roxo ( <i>Zea Mays L.</i> )	61
4.3.6 Análises dos pigmentos	61
4.4 Resultados e discussões	62
4.5 Conclusões	64
4.6 Referências Bibliográficas	65
<b>Apêndice</b>	<b>67</b>

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.3.1</b>	Classificação dos Corantes de acordo com os grupos funcionais	5
<b>Figura 1.3.2</b>	Aspecto geral do milho roxo (a) espiga com sementes expostas; (b) espiga com flores e (c) plantação em pleno desenvolvimento	9
<b>Figura 1.3.3</b>	Transformações estruturais de antocianinas de acordo com a variação do pH	11
<b>Figura 1.3.4</b>	Flor o Marigold ( <i>Tagetes erecta L.</i> )	12
<b>Figure 2.1</b>	Optical Rotation of essential Key Lime oil from 3 select (M1, M2, M3) obtained by steam distillation (1bar/25°C)	32
<b>Figure 2.2</b>	Refractive Index of essential Key Lime oil from 3 select (M1, M2, M3) obtained by steam distillation (1bar/25°C)	32
<b>Figure 2.3</b>	Specific Gravity of essential Key Lime oil from 3 select (M1, M2, M3) obtained by steam distillation (1bar/25°C)	33
<b>Figure 2.4</b>	Aldehyde content of essential Key Lime oil from 3 select (M1, M2, M3) obtained by steam distillation (1bar/25°C)	33
<b>Figura 3.1</b>	Sistema experimental	41
<b>Figura 3.2</b>	Reações de saponificação	42
<b>Figura 3.3</b>	Variação da cor $\Delta E$ com o tempo a 23°C	49
<b>Figura 3.4</b>	Solubilidade da luetina em função da temperatura a diferentes pressões; $\diamond$ 10Mpa; $\blacksquare$ 15Mpa; $\blacktriangle$ 25Mpa e $\times$ 30Mpa	51
<b>Figura A.1</b>	Ajuste do modelo aos dados experimentais da solubilidade do óleo das sementes de groselha em dióxido de carbono supercrítico	70

<b>Figura A.2</b>	Ajuste do modelo aos dados experimentais da solubilidade do óleo das sementes de uva em dióxido de carbono supercrítico	71
<b>Figure A.3</b>	Solubilidade da luetina em função da temperatura a diferentes pressões; $\diamond$ 10Mpa; $\blacksquare$ 15Mpa; $\blacktriangle$ 25Mpa e $\times$ 30Mpa	71
<b>Figura A.4</b>	Fluxograma do MCO <sub>2</sub> para estimativa da densidade do CO <sub>2</sub>	76

## ÍNDICE DE TABELAS

<b>Tabela 1.3.1</b>	Número de patentes no mundo, 1969 - 1978 e 1979 - 1984	7
<b>Tabela 1.3.2</b>	Classificação dos corantes naturais por sua natureza química	7
<b>Table 2.1</b>	Principal Key lime essential oil components (milliliters per kilogram of essential oil) obtained within 9 h of steam distillation process. Values represent the mean values of oils from the 3 select	30
<b>Tabela 3.1</b>	Composição química média do pó da flor inteira marigold	46
<b>Tabela 3.2</b>	Concentração do pigmento xantofila na flor do marigold utilizando diferentes solventes	46
<b>Tabela 3.3</b>	Comparação das propriedades físico-química dos extratos de marigold obtido utilizando diferentes solventes orgânicos, com dados da literatura	47
<b>Tabela 3.4</b>	Espectrofotometria no Colorquest Hunterlab do extrato das flores de marigold (luteína)	48
<b>Tabela 3.5</b>	Solubilidade da luteína em CO <sub>2</sub> a 313.15 K	49
<b>Tabela 3.6</b>	Porcentagem de solventes recuperados durante o processo	50
<b>Tabela 4.1</b>	Caracterização das sementes do milho roxo	62
<b>Tabela 4.2</b>	Caracterização e identificação do grupo antocianinas presentes nos extratos do milho roxo	62
<b>Tabela 4.3</b>	Mudança de cores do papel inserido em soluções tampões universais	63
<b>Tabela 4.4</b>	Concentração do pigmento antocianina na semente do milho roxo utilizando diferentes solventes	64

<b>Tabela A.1</b>	Ajuste dos dados à equação de Chrastil	70
<b>Tabela A.2</b>	Solubilidade do Óleo da semente de Groselha, (Sovová, <i>et al.</i> 2000)	72
<b>Tabela A.3</b>	Solubilidade do Óleo da semente de Uva, (Sovová, <i>et al.</i> 2000)	73
<b>Tabela A.4</b>	Solubilidade do Óleo da semente de Canola. (Temelli, 1992)	73
<b>Tabela A.5</b>	Solubilidade do Óleo da semente de Palma cru, (Stoldt, <i>et al.</i> 1998)	73
<b>Tabela A.6</b>	Solubilidade do Óleo da semente de Soja, (Stahl, <i>e. al.</i> 1980)	74
<b>Tabela A.7</b>	Solubilidade do Óleo da semente de Urucum, (Degnan, <i>et al.</i> 1991)	74
<b>Tabela A.8</b>	Constantes $C_i$ para estimação da densidade do $CO_2$	75

## NOMENCLATURA

A	Parâmetro a T constante de Chrastil (1982)	-
A	Absorvancia	-
A	Axial	-
a	Coordenada no espaço, representa faixa avermelhar-esverdear	-
a	Parâmetro da equação de Chrastil (1982)	-
a	Parâmetro da equação de Peng-Robinson	-
$a_{ij}=a_{ji}$	Parâmetros cruzado de Peng-Robinson	-
$a_m$	Parâmetro da mistura	-
A	Parâmetro da equação de Sthal (1978)	-
B	Coordenada no espaço, representa faixa amarelar-azular	-
B	Parâmetro da equação de Chrastil (1982)	-
$b_{ij}=b_{ji}$	Parâmetros cruzado de Peng-Robinson	-
$b_m$	Parâmetro da mistura	-
C	Solubilidade do corante	g/L
ESC	Extração Supercrítica	-
$f_i^{-L}$	Fugacidade do componente i na fase líquida	-
$f_i^S$	Fugacidade do componente i na fase sólida	-
k	Parâmetro da equação de Chrastil (1982)	-
$k_{a_{ij}}$	Parâmetro de interação binária	-
$k_{b_{ij}}$	Parâmetro de interação binária	-
GC	Gas Chromatography	-
m	Massa de semente e flor após seca	g.
m	Parâmetro da equação de Stahl (1978)	-
$M_o$	Massa dos resíduos do extrato	g.
P	Pressão	MPa
$P_c$	Pressão crítica	bar
$P^v$	Pressão de vapor	-
R	Constante geral dos gases (8,314)	J/mol.K
S	Solubilidade do corante	$g/m^3$ , g/L



T	Temperatura	K
$T_c$	Temperatura crítica	K
$T_r$	Temperatura reduzida	-
V	Volume	mL
$V_{1...V_n}$	Volumes de diluição do extrato	mL
$V_c$	Volume do coletor	mL
$V_e$	Volume da alíquota do extrato	mL
$V_m$	Volume molar da mistura	$\text{Cm}^3$
X	Fração molar do corante	-
$X_i, x_j$	Fração molar do componente i e j da fase pesada	-
$\bar{Y}$	Solubilidade do óleo dos corantes	g/kg
$\bar{Y}$	Solubilidade do óleo e triacilgliceróis	LN g/kg
$Z_c$	Fator de compressibilidade crítico	-

### Letras Gregas

$\Delta E$	Varição de cor no espaço tridimensional	-
$\lambda$	Comprimento de onda	Nm
$\alpha(T)$	Parâmetro da equação de Peng-Robinson	-
$\alpha(T, \omega)$	Parâmetro da equação de Peng-Robinson	-
$\alpha(T_r)$	Parâmetro da equação de Peng-Robinson	-
$\phi_i^L$	Coefficiente de fugacidade do componente i no líquido	-
$\phi_i^S$	Coefficiente de fugacidade do componente i no sólido	-
$\phi_i^{ESC}$	Coefficiente de fugacidade do componente i no fluido	-
$\phi_i^V$	Coefficiente de fugacidade na pressão de vapor do componente i	-
$\rho$	Densidade do $\text{CO}_2$	g/mL

## Capítulo 1

### **1. 1 Introdução**

O interesse por pesquisas na área de produtos naturais aumentou consideravelmente durante as últimas décadas, por motivo das restrições impostas pela Organização Mundial da Saúde (OMS), entre outras instituições, aos produtos sintéticos devido ao grave e irreparável impacto ambiental causado após um século do surgimento dos produtos sintéticos. Tendo em vista estas restrições, faz-se necessária a volta e a substituição dos produtos sintéticos por produtos naturais entre eles os corantes naturais e óleos essenciais.

A caracterização das propriedades físicas, físico-químicas e identificação dos principais compostos ativos e de maior percentagem presentes nos produtos naturais são de vital importância para poder estudar, conhecer e descrever o comportamento dos produtos e a composição que as compõem, assim como, prever matematicamente as propriedades físicas e termodinâmicas dos novos produtos a serem explorados, além da otimização dos processos (extração, purificação, rendimento, etc), em termos de seletividade e eficiência, selecionando os melhores métodos para estimar as propriedades dos principais grupos funcionais.

Cabe destacar as justificativas pela qual nos levou a trabalhar com produtos naturais, além de virar uma necessidade a volta do uso de fontes naturais, foram selecionados o óleo essencial de limão, marigold e milho roxo devido a escassa informação disponível na literatura e algumas vezes patenteados e/ou antigos, assim como, o grave impacto ambiental e a saúde ocasionado pelos produtos sintéticos, a importância a socioeconômica, industrial, saúde e demanda comercial que representa estas fontes, por isso, o estudo destes produtos é importante para montar um banco de dados experimentais suficiente para poder descrever o comportamento dos compostos e moléculas de outros produtos e fontes naturais por modelos matemáticos baseados nas propriedades físico-química e termodinâmica.

A seguir, são apresentados os resumos dos capítulos deste trabalho que se referem a trabalhos publicados e alguns submetidos a revistas científicas da área.

1. Capítulo 1. Revisão Bibliográfica, apresentando as características da matéria prima trabalhada, principais compostos, importância econômica, usos, métodos de extração, dados experimentais da extração de outros corantes, assim como, os fundamentos termodinâmicos para o desenvolvimento da extração supercrítica, estimativa da solubilidade do CO<sub>2</sub> e densidade do CO<sub>2</sub> puro.
2. Capítulo 2. Determinação experimental da influência do tempo na qualidade do óleo essencial de limão galego (*Citrus aurantifolia*) destilado. O trabalho mostra a influencia do tempo na qualidade do óleo essencial destilado em termos sensoriais e físico-química, devido ao incremento de compostos oxigenados; carboxílicos (CO, CHO, entre outros), porem perdendo valor econômico e qualidade. Cabe destacar que estes experimentos foram realizados a escala piloto e a identificação dos compostos foi acompanhada por HPLC.
3. Capítulo 3. Determinação experimental da extração do corante natural do marigold (*Tagetes Erecta L.*) utilizando diferentes métodos de extração (imersão, lixiviação e extração supercrítica), mostrando que o melhor método de extração é o ESC. Foram correlacionados os dados obtidos da solubilidade da luteína em CO<sub>2</sub> supercrítico empregando a Equação de Chrastil, cujo interesse é montar um modelo matemático para prever o comportamento dos grupos moleculares principais (luteína, xantofila, entre outros). Também foram determinadas as propriedades físico-químicas da matéria prima e do corante extraído quantificando a percentagem de oleoresinas extraídas, acompanhado por UV-VIS e IV, assim como a purificação e recuperação dos solventes utilizados durante a extração por lixiviação.
4. Capítulo 4. Determinação experimental da extração do corante do milho roxo (*Zea Mays L.*). Caracterização das sementes do milho. Identificação e isolamento dos principais grupos moleculares que compõem o corante extraído, assim como, percentagem de pigmento extraído utilizando solventes orgânicos (etanol, ciclohexano, entre outros). Também foi obtido o papel indicador de pH, demonstrando o uso deste em laboratórios, clinicas e escolas. O comportamento do corante extraído foi acompanhado por espectrofotometria UV e colorimetria.

### 1.2 Objetivo Geral:

Extração de corantes naturais e óleos essenciais.

#### 1.2.1 Objetivos Específicos:

- Determinação da qualidade do óleo essencial de limão galego durante o processo de uma destilação convencional;
- Montagem dos sistemas de extrações, imersão, lixiviação e extração supercrítica utilizando fluido CO<sub>2</sub> como fluido para operá-lo de maneira estática;
- Caracterização físico-química das matérias primas, identificação e isolamento dos principais compostos dos corantes por HPLC, assim como, determinação dos rendimentos dos extratos obtidos para cada processo de extração;
- Obtenção de papel indicador de pH a partir dos extratos do milho roxo, poder de tingimento, fixação, e estabilidade do corante acompanhado por colorimetria e espectrofotometria;
- Obtenção de uma base de dados para o desenvolvimento de um programa computacional para cálculo de propriedades físicas e termodinâmicas do dióxido de carbono (densidade) a partir das equações propostas por Huang et al., (1985);
- Obtenção dos parâmetros da equação de Chrastil (1982) pelo ajuste aos dados experimentais de solubilidade com a temperatura e a densidade do fluido.

### 1.3 Revisão Bibliográfica

#### 1.3.1 Corante

É uma substância obtida por síntese química ou extraída de fontes naturais, isolada e derivada, com algumas modificações sem atingir uma mudança final da identidade, que quando seja utilizado como aditivo ou nutriente transmita cor. Aplica-se em solução ou dispersão e o substrato onde é aplicado deve ter certa afinidade química para absorver.

Os corantes foram amplamente utilizados na preparação de alimentos e bebidas e continua sendo em nível mundial, com uma contribuição significativa na preparação e processamento dos mesmos. Assim, desde os primeiros séculos, antes do desenvolvimento da indústria de síntese de corantes, o tingimento das fibras se fazia com plantas que continham corantes naturais, chamadas espécies tinturas. Desde as primeiras civilizações, o homem utilizou materiais corantes. Os pigmentos ou substâncias corantes são extraídos das plantas, animais e minerais. Estas substâncias eram utilizadas para tingir roupas, pintar a pele e fabricar objetos religiosos e recreativos. A Figura 1.3.1 mostra uma classificação dos corantes de acordo com os grupos funcionais mais representativos.

As substâncias vegetais mais utilizadas eram: galho de campeche, cúrcuma, índigo natural, de animais se utilizava a cochililha. No ano 1856 iniciou-se a era dos corantes sintéticos, a partir do descobrimento de William Henry Perkin (1838 - 1907), que conseguiu obter o corante púrpura por oxidação da anilina com ácido crômico. Woulfe, em 1771, obteve o primeiro corante, o ácido pírico, preparado a partir da ação do ácido nítrico sobre o índio natural. Já em 1855, encontrou-se a forma técnica de preparar a partir do alquitran de uréia. A partir deste composto, Friedlich Ferdinand Runge, em 1834, preparou a aurina.

Nos últimos 130 anos, se sintetizaram mais de 1000 compostos químicos com cores, dos quais quase 1000 foram produzidos em escala industrial, tratando-se, em muitos casos, de sintetizar produtos idênticos aos naturais, como o  $\beta$ -caroteno. De acordo com os maiores

países produtores do mundo de carotenos, se estimou que a produção mundial de corantes entre os anos 2004 e 2006 estaria em média aproximada de 1500000 toneladas; esta produção, um pouco mais de 50% foi destinada à indústria têxtil e 2,2% foi destinada para o setor de alimentos, medicamentos e cosméticos, concordando com estimativas de (Lock, 1997).

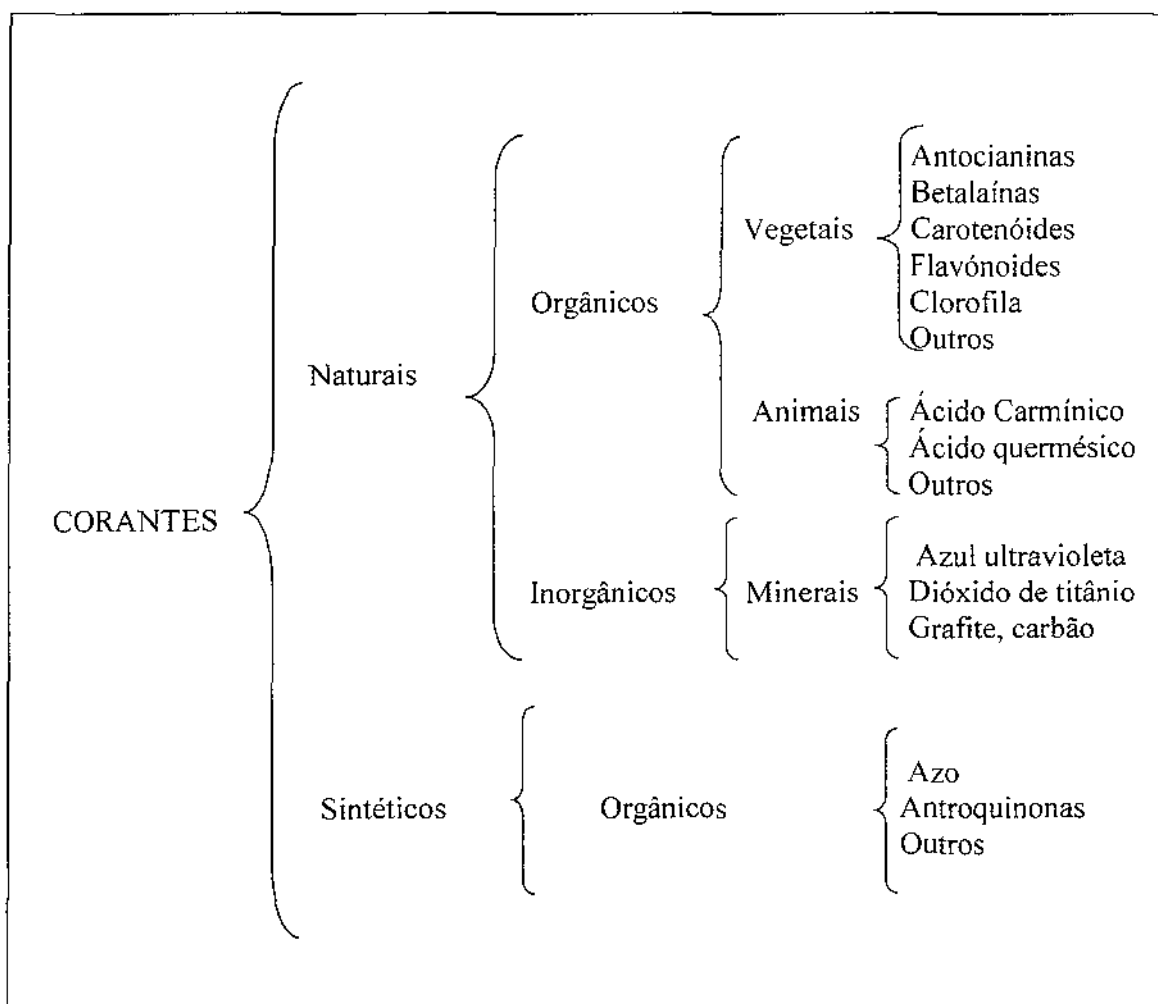


Figura 1.3.1 Classificação dos Corantes de acordo com os grupos funcionais

Deve-se esclarecer que, enquanto alguns corantes são permitidos em alguns países, e outros não, isso depende da legislação de cada país; por exemplo, o vermelho alura (Vermelho N° 40) e o azul brilhante (Azul N° 1) não são permitidos na União Européia já nos EUA são permitidos pela administração de alimentos, medicamentos e cosméticos, (AMC), quanto com os corantes carmoisina (E 122) e o Ponceau 4R (E 124), acontece o contrário, de acordo com (Silva, 1999).

A situação e perspectivas atuais dos corantes naturais podem-se exemplificar com os carotenos, que é um dos grupos mais importantes na área de alimentos, medicamentos e cosméticos. Dentre estes compostos, destaca-se o  $\beta$ -caroteno, por suas propriedades antioxidantes e por ser precursor da Vitamina A, com um mercado estimado em mais de 150 milhões de dólares em 1997, dos quais 70% vão para o setor de alimentos, 21,1% para suplemento vitamínico, 5,3% para cosméticos e 3,6% para outros fins (fármacos, têxtil, plásticos), (Lock,, 1997). Isto originou um considerável interesse e tendência mundial no desenvolvimento de corantes naturais. Um indicativo disto é a distribuição das patentes reportadas a nível mundial entre 1969 e 1984. Segundo (Toyofa e Garcia, 1993) lista-se a Tabela 1.3.1, o aumento em patentes é maior nos últimos cinco anos e de um total de 353 patentes, a 217 estão referidas a corantes naturais e 136 a corantes sintéticos.

Nestes últimos anos, o interesse pelos corantes naturais foi renovado devido a recentes limitações no uso de alguns sintéticos em alimentos, medicamentos, cosméticos e têxteis, por causa da sua toxicidade. São freqüentes as denúncias pelo uso de corantes sintéticos não adequados, como o Rhodamina  $\beta$  e Laranja, presentes em batons, ou de corantes “permitidos” em caramelos, refrescos e gelatinas, de acordo com (Lock, 1997).

**Tabela 1.3.1** Número de patentes no mundo, no período de 1969 - 1978 e 1979 - 1984 (Tayofa e Gracia, 1993).

	Período	Período	Total
	1969 - 1978	1979 - 1984	
Fonte de corantes	210	217	427
Aplicações dos corantes	134	136	270
Total	344	353	697

Os corantes naturais podem estar classificados segundo a natureza química em diversos grupos, como se lista na Tabela 1.3.2. Encontram-se seus valores de  $\lambda_{\max}$  correspondente. Como fontes naturais de corantes se pode considerar plantas superiores, algas, fungos e líquenes, etc, assim como alguns organismos marinhos (Lock, 1997).

**Tabela 1.3.2** Classificação dos corantes naturais por sua natureza química (Lock, 1997).

Natureza química	Alguns exemplos	Cor predominante	$\lambda_{\max}$ , nm
Tetrapirroles (linares e cíclicos)	Ficobilinas	azul-verde	610-650 (ficocianinas)
		amarelo-vermelho	540-570 (ficoeritrinas)
		Verde	640-660
Carotenóides	Carotenóides	Amarelo-laranja	400-500
Flavonóides	Flavonas	branco-creme	310-350
	Flavonoles	amarelo-branco	330-360
	Chalconas	amarelo	340-390
	Auronas	amarelo	380-430
	Antocianinas	Vermelho-azul	480-550
Xantonas	Xantonas	amarelo	340-400
Quinonas	Naftoquinonas	vermelho-azul-verde	
	Antroquinonas	Vermelho-purpura	420-460
Derivados do índio	Índigo	azul-rosa	
	Betalainas	amarelo-vermelho	470-485

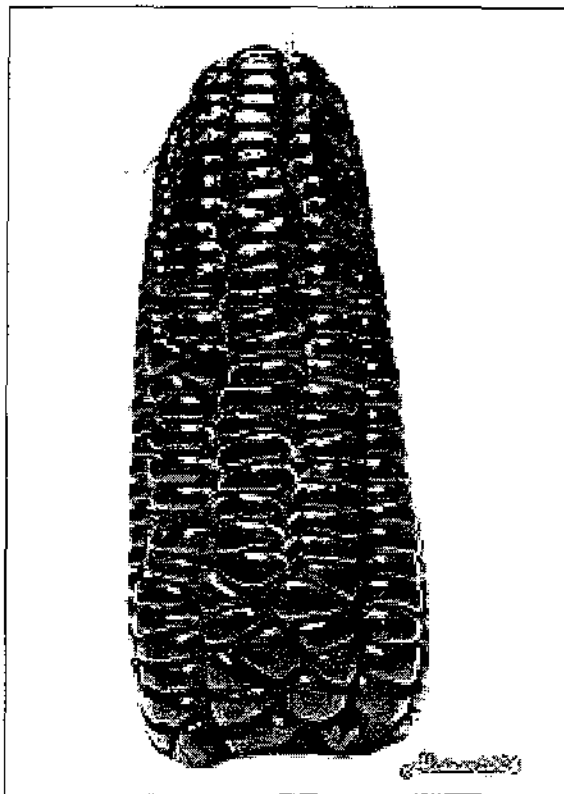


### 1.3.2 Milho Roxo (*Zea mays* L.)

O milho roxo é uma planta que predomina nos Andes e, em particular, no Peru, que detém a maior parte da produção mundial. Assim, as sementes desta variedade de milho são cobertas na casca, o sabugo e as folhas por pigmentos de cor roxa. Tem como nome científico *Zea mays* L, pertencente à família da *Gramínea*, de variedade roxo (purple) (Lock, 1997).

O milho roxo é de origem americana. Sua Antigüidade é comprovada pelas espigas encontradas nas tumbas antiqüíssimas, assim como por representações do milho na cerâmica, encontrados nas ruínas arqueológicas mais comumente chamados de “sementeiros” no Peru Pré-colombino. As características botânicas e físicas da planta desta variedade de milho são muito parecidas à do milho de grãos amarelos, pois esta é considerada um híbrido do milho amarelo, feito pelos moradores antigos (Incas e Mayas). Cada espiga contém um determinado número de sementes de acordo com tamanho da espiga.

Na época do descobrimento de América, tanto no Peru como no México já eram usados esses pigmentos para uso culinário, para pintar suas peles, seus tecidos, como meio de ornamentação, proteção de raios solares. Existem diversas variedades, as principais foram mencionadas por Soukup, que foi o primeiro a classificar o milho. Têm-se, o *kulli*, que tem grãos vermelho-escuro similar ao roxo; há também a variedade *haña-kaa* (v. *aimara*), chamada de milho roxo (púrpura) (Lock, 1997), como apresentado na Figura 1.3.2. Seu cultivo vem sendo desenvolvido de forma empírica e quase sempre prevalecendo a experiência do produtor rural. A colheita é feita após a maturação das espigas em forma mecânica, os quais são cortados ou retirados da plantas e armazenados para a venda.



(a)



(b)



(c)

**Figura 1.3.2** Aspecto geral do milho roxo (a) espiga com sementes expostas; (b) espiga com flores e (c) plantação em pleno desenvolvimento.

### 1.3.2.1 Antocianinas

O termo antocianina foi utilizado pela primeira vez por Maquat em 1835 para designar aos pigmentos azuis das flores. (Harborne, 1973), descobriu que tanto a cor púrpura, lilás, magenta e todos os tons de vermelho, rosado e escarlate, que aparece em muitas flores, frutos e algumas raízes de plantas, deve-se a pigmentos similares, às antocianinas, encontradas por Maquat. Em 1913, Willstätter e Everest propõem que o termo antocianina seja aplicado para o glicosídeo e a antocianidina para a aglicona (livre de açúcar).

Todas as antocianinas derivam do cátion flavílio. Um cátion flavílio devidamente adicionado aos grupos fixados sobre os ciclos aromáticos, principalmente grupos hidroxilas, é chamado antocianidina (ou aglicona). Contam-se vinte variedades de antocianinas, mas apenas 6 dentre elas têm importância na área de alimentos: a pelargonidina (Pg), cianidina (Cn), delphinidina (Df), peonidina (Pn), petunidina (Pt) e a malvidina (Mv) de acordo com (Hrazdina, 1982). Algumas definições sobre as antocianinas consideram que estas compõem o maior grupo de pigmentos naturais hidrossolúveis, os quais são responsáveis por muitas cores de flores, folhas e frutos, tais como o vermelho, violeta e azul (Strack e Wray, 1993; Dao *et al.* 1998).

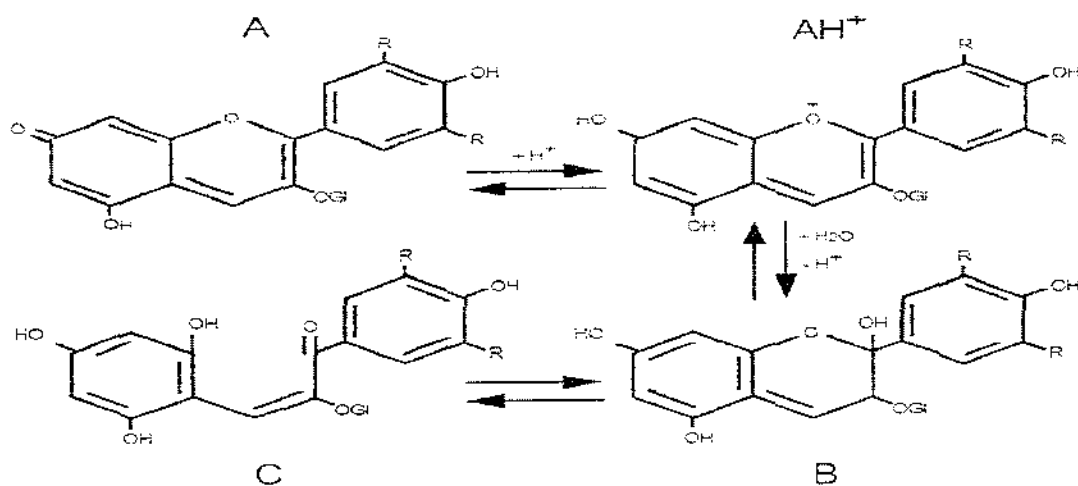
As antocianinas são pigmentos responsáveis por uma faixa de cores muito abrangente que variam do vermelho ao azul. São da classe dos flavonóides e o estudo das antocianinas como indicador ácido-base é alvo de discussões na literatura segundo (Lima, *et al.* 1995). Dentre os flavonóides destacam-se o grupo das antocianinas (cianidina, pelargonidina, entre outras) as quais podem ser extraídas usando água e etanol de acordo com (Curtright, *et al.* 1996). A nomenclatura dos pigmentos antocianinas é complexa. De acordo com pesquisas realizadas por (Curtright *et al.* 1996) e (Aoki, *et al.* 2002), o núcleo principal da molécula de antocianina é constituído por três anéis com ligações duplas como é apresentado na Figura 1.3.3.

### 1.3.2.1.1 Estrutura e Estabilidade

As antocianinas fazem parte dentro do grupo dos flavonóides, devido á sua estrutura química  $C_6 - C_3 - C_6$  e mesma origem, bio- sintético, mas diferem quando absorvem fortemente na região visível do espectro (Lock, 1997).

Existem seis antocianidinas (agliconas das antocianinas) comuns, sendo a mais comum a cianidina responsável da cor magenta. As cores vermelho-laranja devem-se a pelargonidina (com um grupo hidroxila a menos que a cianidina), enquanto que as cores lilás e azul a delfinidina (com um grupo hidroxilo mais) (Brouillard, 1982; Lock , 1997).

Segundo (Mazza e Brouillard, 1987), em uma solução aquosa ácida podem existir quatro formas estruturais de antocianinas em equilíbrio entre si: a base quinoidal A (Azul), o cátion flavilium  $AH^+$  (vermelho), a pseudo-base ou carbinol B (incolor) e a chalcona C (incolor). A inter-conversão entre as quatro formas encontra-se resumida na Figura 1.3.3.



**Figura 1.3.3** Transformações estruturais de antocianinas de acordo com a variação do pH. (Mazza e Brouillard, 1987).

A forma  $AH^+$  vermelha é mais importante e, também, a mais estável. Assim, qualquer tentativa para aumentar a estabilidade da cor pela redução da dependência do pH deve, necessariamente, envolver a manutenção do pigmento na forma  $AH^+$  (Francis, 1992).

Os diferentes comportamentos apresentados nos tipos de antocianinas existentes levam à variações de estabilidade, o que explica por que certos frutos, flores, etc ou mesmo certas variedades tenham diferentes tipos estrutura molecular (Lamikanra, 1988). A sua instabilidade dos pigmentos de antocianinas, diante fatores como a temperatura, pH, presença de oxigênio, luz e tempo de armazenagem gera interes e discussões na pesquisa justificando a proliferação de estudos no âmbito de estabilizar estes pigmentos sob condições controladas de acordo com (Francis, 1989) e (Withy *et al.*, 1993). Estes estudos tentam explicar o mecanismo de degradação, estabelecer faixas operacionais para processamento, como também sua aplicação na fibra têxtil.

### 1.3.3 Flor o Marigold (*Tagetes erecta L.*)



Figura 1.3.4 Flor o Marigold (*Tagetes erecta L.*)

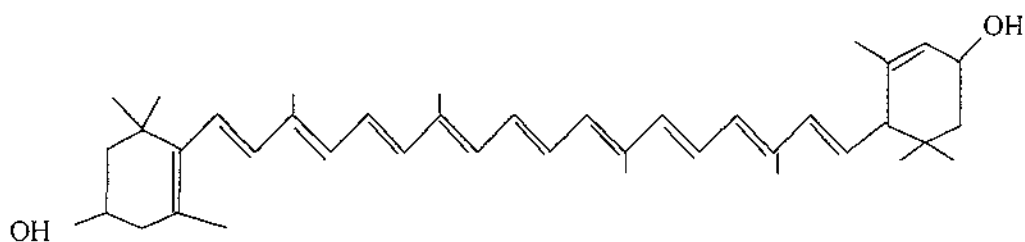
A planta nativa do México é utilizada em forma tradicional na América Latina em medicina, tingimento de fibras têxteis, alimentos e bebidas. É também conhecida como planta ornamental, crescendo em determinadas partes da Índia, México, e em outras partes do mundo, sendo plantada comumente na beira dos jardins.

Dependendo das variedades e da técnica de cultivo praticada, o rendimento das flores varia notavelmente, em função do peso e número de flores, em torno de 11 a 30 ton/hectare (Sowbhagya, *et al.* 2004). O rendimento de flores de marigold foi relatado aproximadamente 30 000 kg/hectare na Índia, 1976 (Sowbhagya, *et al.* 2004). Cabe mencionar que as pétalas representam de 40% a 50% do peso da flor. Outros fatores que podem afetar a qualidade e rendimento são; o tempo, a colheita, a técnica de secagem das pétalas e condições de armazenamento. A flor o Marigold contém como principal componente a luteína ( $C_{40}H_{56}O_2$ ), constituindo o grupo mais importante dentre os corantes naturais. A concentração de ésteres de luteína em flores frescas do marigold varia de 4 ug/g em flores amarelas e de 800 ug/g em flores marrons e alaranjadas (Gregory, *et al.* 1986). As flores escuras contêm aproximadamente 200 vezes mais ésteres de luteína do que as flores mais claras. O conteúdo de xantofila varia de 4 a 5 g/lb (Sowbhagya, *et al.* 2004). As flores de marigold são consideradas como uma das fontes natural mais rica em xantofilas, principalmente na forma de luteína (Ausich e Sanders, 1997).

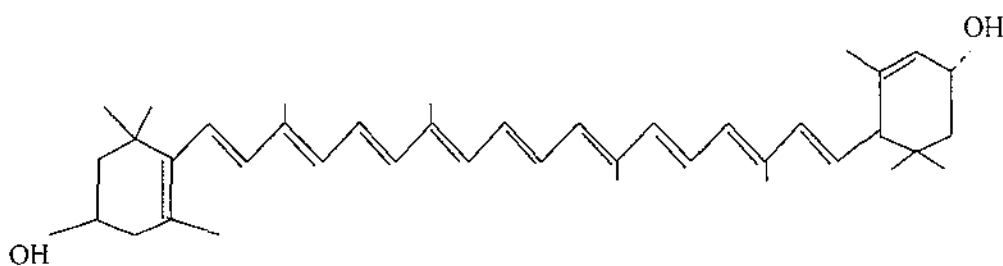
### 1.3.3.1 Xantofilas, estrutura e estabilidade

As xantofilas como principal grupo dos carotenóides é responsável pela presença de maior quantidade da cor amarela em flores e frutos. Contem uma estrutura molecular simples (estrutura plana e com função oxigenada) o que facilita seu uso e adaptação em aplicações industriais. Em presença de altas temperaturas tende a oxidar-se rapidamente afetando as duplas ligações. Já em presença de ácidos graxos se reduzem podendo sofrer isômeromerações, passando da forma “trans” estável á correspondente forma “cis”, assim como diminui a estabilidade. São solúveis em solventes orgânicos (éter de petróleo, hexano, etanol, entre outros). Encontra-se em maior quantidade que o caroteno, integrando

proteínas atingindo elevados pesos moleculares. A continuação se apresenta estruturas moleculares mais importantes das xantofilas.



(XVII) Luteina ( $\beta$ ,  $\epsilon$ -caroteno-3,3-diol)



(XXI) Lactucaxantina ( $\epsilon, \epsilon$ -caroteno- 3,3-diol)

### 1.3.4 Processos de Extração dos Pigmentos

Os pigmentos das sementes do milho roxo e da flor do marigold ambos após secos podem ser extraídos por processos mecânicos através da atrição e raspagem das sementes e físico-químicos através de solventes. A extração pode ser feita por vários métodos (lixiviação, imersão, membranas, utilizando solventes supercríticos, entre outros), mas a extração com solventes inofensivos e com menor impacto ambiental resulta ser a forma mais pura e seletiva de extrair os pigmentos. Em todas as técnicas deve-se levar em consideração a degradação destes pigmentos pela luz e calor excessivos. A extração dos pigmentos de diversas espécies de fontes vegetais (flores, sementes, folhas e frutas) vem

sendo estudada há muito tempo utilizando na maioria dos casos solventes orgânicos, assim temos; (Bridle e Timberlake, 1997), (Brouillard R, 1982), (Francis F, 1989), dentre outros.

### 1.3.4.1 Extração em CO<sub>2</sub> Supercrítico

A extração com fluido supercrítico (ESC) é uma operação unitária que explora as propriedades dos solventes acima de seus pontos críticos para extrair ou separar componentes de uma mistura. A aplicação de ESC está baseada na observação experimental de que muitos gases aumentam seu poder de dissolução quando comprimidos acima do ponto crítico. Apesar desta observação ser bastante antiga, somente nos últimos anos este processo ganhou importância industrial. Algumas destas características tornam esta técnica muito atraente, como: elevada densidade, baixa viscosidade, baixa tensão superficial, alta difusividade e influência da convecção natural. A vantagem, em comparação com outras técnicas, está na facilidade de separação do extrato do solvente, obtendo um produto final puro; no processamento a temperaturas baixas, evitando a degradação do mesmo e nas altas taxas de transferência de massa fornecendo alto rendimento. O uso de co-solventes após a extração supercrítica em pequenas quantidades proporciona aumento significativo na solubilidade do soluto. Já com relação ao custo geral (solvente, equipamento, entre outros) é uma desvantagem com relação a os métodos convencionais (imersão, lixiviação)

#### 1.3.4.1.1 Fundamentos Termodinâmicos

Foram considerados os fundamentos termodinâmicos para a realização da extração supercrítica, as condições de equilíbrio termodinâmico Líquido-Líquido, e Líquido-Sólido, a igualdade de fugacidade em cada fase, baseados nas equações de estado mais simples, do tipo Van der Waals, destaca-se o sucesso incomparável da equação de Peng e Robinson, (1976) como se mostra na formula 1. também foi estimado a propriedade do CO<sub>2</sub> puro (densidade) a partir das equações propostas por (Huang, *et al.*1985) modelado no programa MCO2 desenvolvidos para este fim. Foi estimada a densidade apresentada no anexo A.



$$P = \frac{RT}{V-b} - \frac{a(T)}{V(V+b)+b(V-b)} \quad (1)$$

$$a(T_c) = 0,45724(R^2 T_c^2) / P_c, \quad a(T_c) = 0,45724(R^2 T_c^2) / P_c, \quad a(T_c) = a(T_c) \alpha(T, \omega),$$

$$Z_c = 0,307, \quad \alpha(T, \omega) = (1 + m(1 - T_r^{\frac{1}{2}}))^2 \text{ e } m = 0,37464 + 1,254226 * \omega - 0,26992 * \omega^2$$

### 1.3.5 Equações do Tipo Chrastil

Uma das formas de ajustar os dados experimentais da solubilidade é usar correlações empíricas. Esta abordagem é específica para um determinado grupo de componente. Czubyrt, (1970) com base na teoria das soluções regulares propôs a seguinte correlação:

$$\log(y_i) = aSP^2 + bSP + C \quad (2)$$

Onde  $y_i$  é a fração molar do soluto no gás comprimido, SP é o parâmetro de solubilidade do soluto e a, b e c são parâmetros ajustáveis.

Stahl et al. (1978) propôs uma relação direta entre a concentração do soluto no gás e a densidade do gás da seguinte forma:

$$\ln(S) = m \ln(\rho) + n \quad (3)$$

Onde S é solubilidade do soluto no fluido em g de soluto/L de solução,  $\rho$  é a densidade do fluido em g/L, m é um fator que depende da densidade do solvente e n é um parâmetro que varia com as propriedades do soluto. Chrastil (1982) se encontra nesta categoria. De acordo com Chrastil, as moléculas do soluto se associam com as moléculas do fluido supercrítico com a formação de um complexo que está em equilíbrio com o fluido. Assim desse modo pode-se calcular a concentração de equilíbrio. Em um caso ideal, no qual uma molécula de um soluto A se associa com k moléculas do solvente (fluido

supercrítico) B, para formar uma molécula do complexo  $AB_k$  em equilíbrio com o sistema, pode-se escrever:



$$K = \frac{[AB_k]}{[A][B]^k} \quad (5)$$

$$\ln K + \ln[A] + k \ln[B] = \ln[AB_k] \quad (6)$$

Onde:

$[A]$  é a concentração molar de vapor do soluto,  $[B]$  é a concentração molar do solvente, e  $[AB_k]$  é a concentração molar do soluto no solvente,  $K$  é a constante de equilíbrio que pode ser expressa como  $K = \Delta H_{solv} / RT + q_s$ , onde  $\Delta H_{solv}$  é o calor de solvatação, e  $q_s$  é uma constante. A concentração do soluto  $[A]$ , pode ser aproximada pela equação de Clapeyron - Clausius:  $\ln[A] = \Delta H_{vap} / RT + q_v$ , onde  $\Delta H_{vap}$  é o calor de vaporização do soluto, e  $q_v$  é uma constante. Usualmente,  $[A] \ll [AB_k]$ . Assim, combinando estas expressões em (6), temos:

$$\ln[k] = \ln[A] + k \ln[B] = \ln[AB_k] \quad (7)$$

Onde;

$$\Delta H_{solv} \text{ é o calor total de reação, } \Delta H = \Delta H_{sol} + \Delta H_{vap}, \quad \text{e } q = q_s + q_v$$

Se as concentrações e a densidade do gás forem expressas em (g/L), e, nestas novas unidades, definido  $C$  como sendo a concentração do soluto no solvente (g/L), e  $\rho$  a densidade do fluido (g/L), então  $[AB_k] = C / (M_A + kM_B)$ , e  $[B] = \rho / M_B$ , onde  $M_A$  e  $M_B$  são as massas molares do soluto e solvente, respectivamente. A partir daí, chegou-se a:

$$\frac{\Delta H}{RT} + q + k \ln \rho - k \ln M_B = \ln C - \ln(M_A + kM_B) \quad (8)$$

E finalmente:

$$C = \rho^k \exp\left(\frac{a}{T} + b\right) \quad (9)$$

Onde:

C é a solubilidade (g/L),  $\rho$  é a densidade do solvente (fluido supercrítico) (g/L), T é a temperatura (K),  $a = \Delta H / R$ , e  $b = \ln(M_A + M_B) + q - k \ln M_B$

Devido à sua simplicidade e capacidade de reproduzir os dados experimentais, a equação de Chrastil tem sido amplamente empregada para correlacionar e extrapolar dados experimentais de solubilidade de diversos solutos em fluidos supercríticos.

Diversos trabalhos publicados utilizaram a equação de Chrastil e correlacionaram com sucesso dados experimentais de solubilidade das mais diversas substâncias em dióxido de carbono supercrítico. Pode-se citar: Li, *et al.* (1991) para teobromina e cafeína; Fathi, *et al.* (1998) a utilizou para antraquinonas; Tsai e Tsai (1995) para isômeros de ácidos metil bezóico; Reverchon, *et al.* (1995) para hidrocarbonetos de alto peso molecular. Vetere, (1998), utilizou a equação de Chrastil para correlacionarem dados de sólidos em dióxido de carbono supercrítico.

### 1.3.6 Óleo essencial de limão

Os óleos cítricos constituem um grande setor na produção industrial mundial de óleo essencial. Entre eles, destaca-se o óleo extraído de limão e suas variedades, considerado um dos aromas mais importantes, obtidos por separação (destilação, entre outros processos). A produção de limão, além de destinar-se para o consumo *in natura* e para indústria de suco, também é utilizada para extração do óleo essencial contido na casca dos frutos. Este óleo é comumente utilizado por indústrias de bebidas de refrigerantes, como também para fabricação de cosméticos, essências aromáticas e na culinária, entre outros.

Os frutos cítricos apresentam três partes morfológicamente diferente: o epicarpo, o mesocarpo e o pericarpo. O epicarpo é a porção colorida da casca, conhecida como flavedo, e contém os carotenóides que diferenciam a cor da casca de laranja, tangerina, limão e outros. As glândulas de óleo estão presentes no flavedo e são as estruturas elevadas das cascas dos frutos que contém o óleo essencial característico de cada cultivarem (Ting e Rouseff, 1994).

O processo mais utilizado para a obtenção desse óleo essencial é a destilação, por ser considerado o mais econômico e apresentar bom rendimento de extração. O óleo de limão é amplamente utilizado em muitos tipos de bebidas, refrigerantes, refrescos em pó, balas, doces, sorvetes, entre outros. Também é empregado na área de fármacos e cosméticos Guenther (1995). A composição do óleo varia de acordo com o clima e a matéria prima; no entanto, o tipo de processo de extração também apresenta grande influência no rendimento e na qualidade do óleo essencial Blanco, et al. (1995). Existem mais de 350 compostos identificados no óleo de limão, sendo a maioria insaturados, como os terpenos, os quais sofrem facilmente modificações levando a perda de aroma e fragrância do óleo essencial. As características sensoriais e físico-químicas destes estão diretamente relacionadas ao conteúdo de aldeídos e compostos carboxílicos (Van Straten e Maarse, 1983).

A determinação do teor de óleo essencial para frutos de limão é um assunto importante, mas que, até o momento, mereceu pouca atenção da comunidade científica, talvez pela pequena fatia do mercado de frutos cítricos destinados à extração de óleo essencial, ou pela dificuldade de se trabalhar com espécies cítricas que apresentam de 3 a 4 florescimentos por ano.

O mercado é exigente quanto à qualidade da casca do limão, uma vez que esta característica é refletida diretamente na indústria, que requer rendimento na extração de óleo essencial. Entretanto, a necessidade de valorização da determinação do conteúdo de óleo total na casca de frutos cítricos surgiu com o início de sua industrialização (Almeida, 1995).

#### 1.4 Referências Bibliográficas

Almeida, E. L. P. Limão Siciliano: mais uma opção para o citricultor. Laranja, Cordeirópolis, v.16, n.2, p.335-339, 1995.

Angus, S., Armstrong, B. e Reuck, K. M., in Carbon Dioxide: International Thermodynamic Table of the Fluid State, v.3, Pergamon Press, N York, p.266, 1976.

Aoki, H., Kuze, N., Kato, Y. Food & Ingredients Journal of Japan. v.208 (199) p. 400-406, 2002.

Ausich, R. L. e Sanders, D. J. Process for the formation, isolation and purification of comestible xanthophyll crystals from plants. US Patent No. 5,648,564, 1997.

Blanco Tirado. C., Stashenko, E. E., Combariza, M. Y., Martinez, J.R. Comparative study of Colombian citrus oils by high-resolution gas chromatography and gas chromatography-mass spectrometry. Journal of Chromatography A, 697, 501-513, 1995.

Bridle, P. e Timberlake, C. F. Anthocyanins as natural food colors-selected aspect. Food Chemistry, v.58, p.103-109, 1997.

Brouillard, R. Chemical Structure of Anthocyanins. In P. Markakis (Ed), Anthocyanins as Food Colors (pp. 1- 40). New York: Academic Press (Chapter 1). 1982.

Chrastil, J. Solubility of Solids and Liquids in Supercritical gases. The Journal of Physical Chemistry, 86(15) 3016-3021, 1982.

Curtright, R., Rynearson, J. A., Markwell, J. Anthocyanins model compounds for learning about more than pH. Journal Chemical Educational. V. 73, n, 4. p. 306 – 309, 1996.

Czubryt, J. J., Myres, M. N. e Giddings, J. C. Solubility phenomena in dense carbon dioxide gas in the range 270 to 1900 atmospheres. *Physical Chemistry*, 24, 4260-4267, 1970.

Dao, L. T., Takeoka, G. R., Edwards, R. H., Berrios, J. Improved method for the stabilization of anthocyanidins. *J. Agricultural Food Chemistry*. v. 46(9), p. 3564-3569, 1998.

Degnan, A. J., Elbe, J. H. e Hartel, R. W. Extraction of annatto seed pigment by supercritical carbon dioxide. *Journal of Food Science*, 56(6), 1655-1659, 1991.

Fathi, M. R., Yamini, Y., Sharghi, H. e Shamsipur, M. Solubility of some 1,4-dihydroxy – 9, 10-anthraquinone derivatives in supercritical carbon dioxide. *Journal of Chemical Engineering Data*. v. 43, p. 400-402, 1998.

Francis, F. J. Food colorants: anthocyanins. *Cit. Rev. Food Science and Nutr.* v. 28(4), p. 273-314, 1989.

Francis, F. J. A new group of food colorants. *Trends in Food Science & Technology*, Cambridge, v.3, p. 27-30, 1992

Gregory, G. K., Chen, T. S., Philip, T. Quantitative analysis of lutein esters in marigold flowers (*Tagetes erecta*) by high performance liquid chromatography. *Journal Food Science*, N° 51, v. 4, p. 1093-1094, 1986.

Guenther, E. "The Essential Oils", vol. 1, Ed. Fritzsche Brothers INC, New York, USA, 427p, 1955.

Harborne, J. B. *Phytochemical Methods*. Chapman and Hall, London. 1973.

Hrazdina, G. Anthocyanins. and the Flavonoids, (Harbone, J. B., Mabry, T. J., eds.) Chapman and Hall, N. Y. p. 135-186.

Huang, F. H., Li, M. H., Lee, L. L., Starling, K. E. e Chung, F. T. H. An Accurate curate equation of state for carbon dioxide, Journal of Chemical Engineering of Japan, 18(6) 490-496, 1985.

IUPAC - International Union of Pure and Applied Chemistry "International Thermodynamic Tables of the Fluids State Carbon Dioxide" Edited by S. Angus, B.; Armstrong and K. M. de Renck. Pergamom Pulisher Co. New York, 1976.

Lamikanra, O. Develop of anthocyanin and the aging of red wine. Hort Science. 23, S.3, 1. p. 597-599. 1988.

Li, S., Varadajan, G. S. e Hartland, S. Solubility of Theobromine and caffeine in supercritical carbon dioxide. Fluid Phase Equilibria, v. 68, p. 263-280, 1991.

Lima, V. A., Battaggia, M., Guaracho, A., Infante, A. Estudando o Equilíbrio ácido-base. Química Nova na Escola, n. 1, p. 32-33, 1995.

Lock Sing, U. Colorantes Naturales. Primeir Edição. Pontificia Universidade Catolica de Peru, Fondo Editorial, 1997.

Mazza, G., Brouillard, R. Color stability and structural transformations of cyannidin 3,5-diglucoside and four 3-deoxyanthocyanins in aqueous solutions, Journal Agric. Chem., v.35, p.422-426, 1987.

Peng, D. Y. e Robinson, D. B. A new two-constant equation of state. Ind. Eng. Chem. Fundam. 15, 59-64, 1976.

Reverchon, E., Russo, P. e Stassi, A. Solubilities of solid octacosane and triacontane in supercritical carbon dioxide. *Journal of Chemical and Engineering Data*, v. 38, p. 458–460, 1995.

Silva, G.F. Extração de Pigmentos do Urucum com dióxido de carbono supercrítico. Tese de Doutorado, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, 1999.

Sovová, H., Marie, Z., Miroslav, V. e Karel, S. Solubility of two vegetable oils in supercritical carbon dioxide. *Journal of Supercritical Fluids*. v. 20 p. 15-28, 2001.

Sowbhagya, H. B., Sampathu, S. R e Krishnamurthy N. Natural Colorant form Marigold-Chemistry and Technology. *Food Reviews International*, 20, 1, 33-50, 2004.

Stahl, E., Schütz, E. e Willing, E. A quick method for the microanalytical Evaluation of The Dissolving Power of Supercritical Gases. *Angew Chemical. Int. Engl.* v. 17, p 731-738, 1978.

Stahl, E., Schütz, E. e Mangold, H. K. Extraction Of Seed Oils With Liquid And Supercritical Carbon Dioxide. *Journal of Agricultural And Food Chemistry*. v. 28, p. 1153-115, 1980.

Stoldt e G. Brunner. Phase equilibrium measurements in complex systems of fats, fat compounds and supercritical carbon dioxide. *Fluid Phase Equilibria*. v.146, p. 269-295 1998.

Strack, D., Wray, V. Anthocyanins, in Harborne, J. b., *Plant phenolics*. Academic Press, London, UK, series *Methods in Plant Biochemistry*, v. 1, p. 325-355, 1993.

Tayofa, A., Garcia, F. *Colorantes en Biotecnología Alimentaria* (Garcia, M., Quintero, R., López, A., eds), Ed. Limusa, Mexico, 1993.



Temelli, Feral. Extraction of Triglycerides and Phospholipids from canola with Supercritical Carbon Dioxide and Ethanol *Journal of Food Science* v. 57, No. 2, 1992.

Ting, S. V. e Rouseff, R. L. *Citrus fruits and their products: analysis and technology*. New York: Marcel Dekker, 293p. 1994.

Tsai, K. L. e Tsai, F. N. Solubilities of methylbenzoic acid isomers in supercritical carbon dioxide, *Journal of Chemical Engineering Data* v. 40, p. 264-266, 1995.

Van Straten, S., Maarse, H. *Volatile compounds in food*, Division for Nutrition and Food Research, TNO: Zeist, 1983.

Vetere, A. A short-cut method to predict the solubilities of solids in supercritical carbon dioxide. *Fluid Phase equilibria*, v. 148, p. 83 – 93, 1998

Withy, L., Heartherbell, D. A., Fisher, B. M. Red raspberry wine-effect of processing and storage on color and stability. *Fruit Process*. V. 8, p. 303-307, 1993.

---

## Capítulo 2

### INFLUENCE ON THE QUALITY OF ESSENTIAL LEMON (*CITRUS AURANTIFOLIA*) OIL BY DISTILLATION PROCESS

*Gamarra, F.M.C.<sup>1\*</sup>, Sakanaka, L.S.<sup>2</sup>, Tambourgi, E. B.<sup>1</sup>  
Cabral, F.A.<sup>3</sup>*

*(1) DESQ-FEQ / State University of Campinas, CP 6066, CEP 13081-970*

*Campinas-SP, Brazil. \*Email: [gamarra@feq.unicamp.br](mailto:gamarra@feq.unicamp.br)*

*(2) DTAM-CCA/ State University of Londrina, CP 6001, CEP 86051-970*

*Londrina -PR, Brazil.*

*(3) DEA-FEA/ State University of Campinas, CP 6121, CEP 13083-970*

*Campinas - SP, Brazil.*

Trabalho Publicado na revista *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, v. 23, N° 01, p. 147-151, 2006. Versão em inglês.

---

## **2. Influence on the quality of essential lemon (*Citrus aurantifolia*) oil by distillation process.**

### **2.1 Abstract**

The essential oil of key lime (*Citrus aurantifolia*) was obtained by steam distillation at normal conditions (1.0 bar/25°C) with steam at 110°C, during 10h. The GC analysis identified about 10 principle substances, being limonene, p-cymene, myrcene and  $\beta$ -bisabolene the most significative compounds. Aldehyde content increased significantly during distillation time. After 10h of process, oil has presented more than 3% of aldehydes content due to oxidative reactions.

### **2.2 Introduction**

In addition to juice production, essential oil is one of the main byproducts of citrus processing [1]. Citric essential oil consists on one of the most important essential oils, like the oil extracted from lemon that is an important flavor agent, normally obtained by distillation process. Some processes require two steps, being the second one also called desterpenization. In this process, the terpenes are removed so oil becomes more soluble in water. This component thus can be utilized as flavoring agent of non alcoholic carbonated beverages.

Oil of lemon is one of the most important flavoring oils, used widely in all kind of beverages, soft drinks, soft drinks powders and tablets, and in baked goods, such as cakes, pastries, pie fillings, confectionery, soft and hard center candies, gelatin desserts, ice creams, etc. The oil is also employed in perfumes, toilet waters, eaux de Cologne, and in cosmetics to which it imparts a refreshing top note [2].

Lemon essential oil are complex mixtures of chemical compounds like limonene,  $\gamma$ -terpinene, citral, linalool and  $\beta$ -caryophyllene among others, which can be represented by three main classes: terpenes, oxygenates and sesquiterpenes. The most significant flavor

---

compound is citral, while linalool possesses highly distinctive organoleptic characteristics. In addition, limonene, myrcene, octanal, and  $\gamma$ -terpene among others contribute with high aroma flavor of lemon oil [3, 4].

The quality of essential oil depends on different factors. Among them are the chemotype and biotype of the plant, the climatic conditions as well as extraction process [1,5]. There is more than 130 volatiles identified in lemon oil, being most of them unsaturated, like the terpenes, which can be easily modified, causing losses on the flavor and aroma of the essential oil [4]. Essential lemon oil basically consists of 75% of terpenes, 12% of oxygenated compounds and 3% of sesquiterpenes.

Actually, there is an increasing industrial demand for limonene, the main component of the essential lemon oil. The sensory and physical-chemical properties of this oil are directly related to the aldehydes content [1]. Quantities above 3% of these compounds are undesirable and prohibited when food application is requested, what make the acquisition of accurate compositional data highly desirable.

Considering the great interest on the production of these essential oils, the aim of the present work was to study the influence of distillation time extraction on the sensory quality and physical-chemical properties of the essential oil obtained of key lime (*Citrus aurantifolia*) by cold pressing.

## **2.3 Experimental Section**

### **2.3.1 Material**

The fruits (*Citrus aurantifolia*) used in this study were collected on different plantations belonged at northern Peru and Sao Paulo, Brasil, at mature stage. These plantations were chosen so the industry could standardize their raw material. Extraction was performed at the same day it was collected.

---

### **2.3.2 Extraction of the Essential Oil by Distillation Process**

For the isolation of the essential oil distillation process was conducted at Backus industry, using industrial equipment and laboratory of at Department of Systems Chemical, *DESQ-FEQ, State University of Campinas*. In the distillator, the oil glands in the flavedo are ruptured by pressure in equipment (6 m high and 1.8m of diameter) especially constructed to the industry. The emulsion, composed of lemon juice and oil, is collected quickly and the solids are separated from the liquids by a screening device (screw-type finisher), which removes the particles of the fruit peels. Then, the emulsion is transferred to the distillation tank and steam, at 110°C, is injected.

This process undergoes in normal conditions (1.0 bar, 25°C). The condensed volatiles follows to a condenser fed with cold water (3°C). The condensed volatiles are recovered at temperature between 35 and 40°C, and separated in oil and water by a decanting flask of 200ml. Than, the oil is sent to a homogenizer tank, where is homogenized at 10 rpm before it is stored in tambours at 25°C. Samples of 10 ml were taken during distillation process and collected every hour, in triplicate, during the 10h of process. Samples were immediately analyzed.

### **2.3.3 Essential Oil Analysis**

#### **2.3.3.1 Sensorial**

Sensory quality of key lime essential oil was performed by eight trained people. They evaluate the following attributes: presence of particles in suspension, color, flavor and taste. Each appraiser was oriented to give a note for each of the attribute from 0 to 10.

#### **2.3.3.2 Gas Chromatography**

Volatile oil samples were analyzed on an Agilent – 6850, Serie GC system equipped with a split-splitless injector and capillary non-polar column (10 m long, 0.100 mm ID,

---

0.20  $\mu\text{m}$  film thickness) type Agilent DBWAX (J&W Scientific). Helium (AGA, 99.995%) was used as the carrier gas. The analysis procedure involved injecting 0.1  $\mu\text{L}$  of essential oil submitted to 9 hours of steam distillation. The samples were diluted in ethanol at a ratio of 0.5 mg of sample in 1 ml ethanol and temperature program of 318K. To recognize elution times for each component, pure compounds injections in the GC were performed and the peak assignation was carried out. The composition of lemon oil was then obtained by assuming a direct proportion between the response of the integrator of the GC and the mass fraction of the mixture.

#### **2.3.3.3 Physical Determination**

Optical rotation [6], refractive index [6] and specific gravity [6] were determined in triplicate.

#### **2.3.3.4 Aldehyde Determination**

The determination of aldehydes by hydroxylamine method consists on the use of a solution of hydroxylamine hydrochloride and the subsequent neutralization with standardized alkali of the dydrochloric acid liberated by the reaction. After the reaction with the aldehyde, the mixture is titrated with standardized acid. The quantity of aldehyde is expressed in percentage [6].

#### **2.3.4 Statistical Analysis**

An analysis of variance (ANOVA) was used. Duncan's multiple-range test was applied for the calculation of the significant differences of the samples among the distillation time process.

---

## 2.4 Results and Discussion

The degree of ripeness is an important factor affecting the concentration and composition of the volatile compounds in the fruit [7]. These researchers found that limonene is most abundant in oils from greenish-yellow peel coloration fruits (intermediate maturation). The highest yield of volatiles secondary metabolites was also observed at this stage of maturation, what indicates that limonene could be used as a functional index of ripeness. Nevertheless, in this work, essential oil was extracted of key lime at mature stage, once is in this stage where most juice is extracted and is economically viable for the industry.

Essential key lime oil presented crystalline, without particles in suspension, with a yellow color, a fresh and piquant odor and a lightly bitter taste.

Table 2.1 shows the mean composition of the oils used in the experimental runs after 9 hours of hydrodistillation. Only the more significant compounds are listed. Terpenes (around 60%) are represented basically by the monoterpene hydrocarbon limonene (which alone accounts for 50%) followed by both  $\alpha$ -thujene and p-cymene, other important terpene hydrocarbons components that account for about 5%. The class of oxygenates includes different components such as aldehydes, alcohols and acetates.

**Table 2.1** Principal Key lime essential oil components (milliliters per kilogram of essential oil) obtained within 9 h of steam distillation process. Values represent the mean values of oils from the 3 select.

Composition	ml/Kg
$\alpha$ -thujene	1.14323
$\alpha$ -pinene	0.86805
Sabinene	0.28189
$\beta$ -pinene	0.87092
Myrcene	1.26942
p-cymene	1.56630
d-limonene	49.65704
$\beta$ -caryophyllene	0.47698
trans- $\alpha$ -bergamottene	0.79584
$\beta$ -bisabolene	2.29847

---

The most important oxygenate is aldehyde citral, present in the form of its stereoisomers neral and geranial. Citral contributes significantly to the quality of lemon flavor and aroma [8]. Finally, as regards sesquiterpenes (condensed terpenes characterized by very high molecular weight and very low volatility) the highest weight fraction was registered for bisabolene (2.50%).

These results are in accordance to the ones obtained by Benvenuti et al. [3], although the concentrations of their components are higher. In their work, they reported a concentration of d-limonene around 70% and 0.84% of bisabolene in essential oil of peel from Sicilian lemon variety.

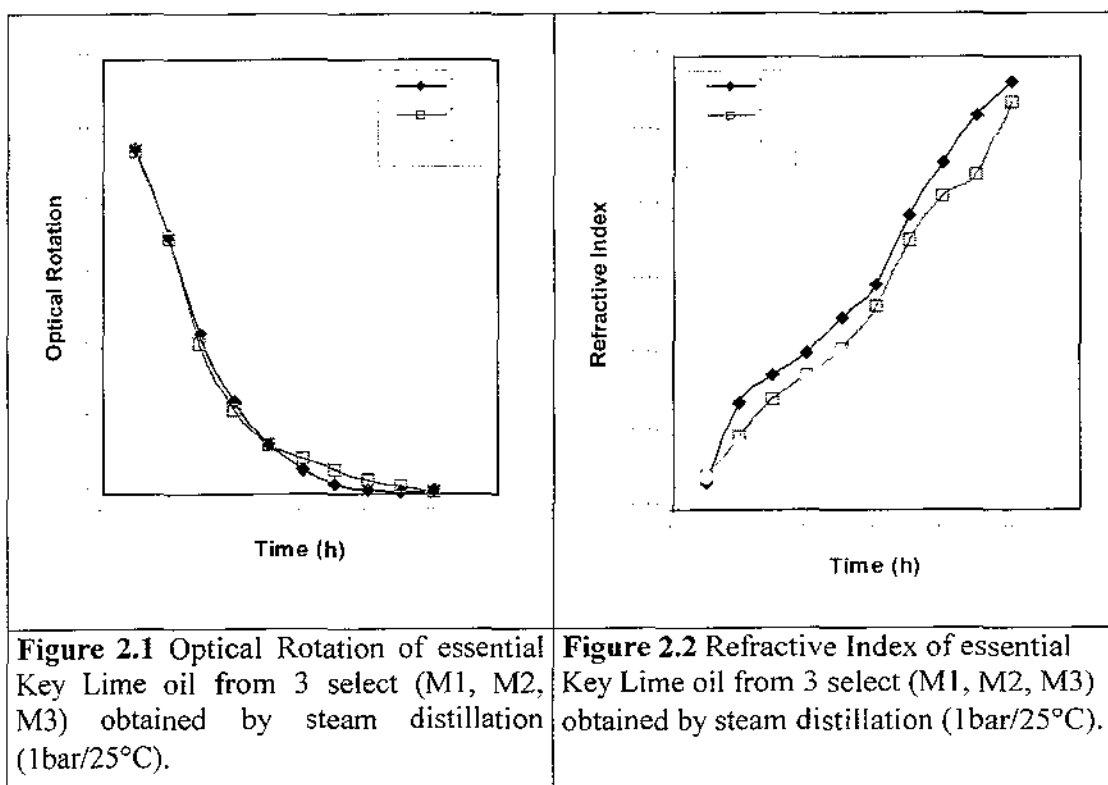
Combariza et al. [7] also found that monoterpenes represent the main (86-88.79%) family of components in *Citrus volkameriana* peel oil. After limonene (78.2-79.4% depending on the state of ripeness of the fruit), the most abundant monoterpene encountered was  $\gamma$ -terpinene, followed by myrcene,  $\alpha$ -pinene, sabinene and p-cymene. Moreover, they found that steam distillation yielded a higher fraction of oxygenated compounds than cold pressing. The amount of oxygenated compounds in key lime essential oil can also be associated with the extending distillation process time, once other researches have reported steam distillation process of maximum 3 h at laboratory scale [1, 5, 7].

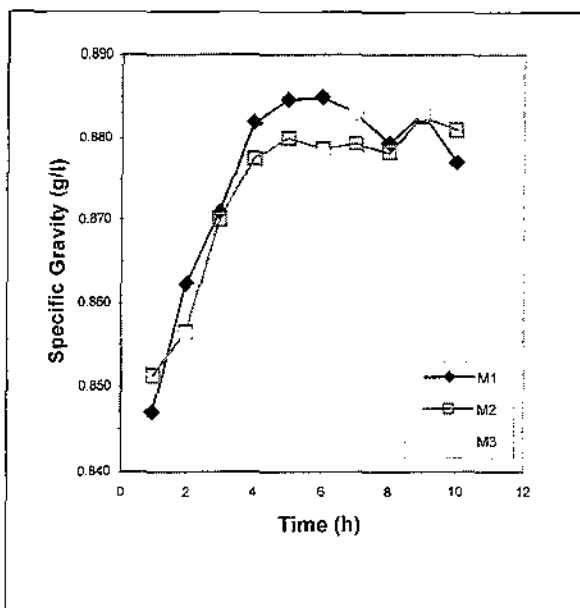
No significant differences ( $p \leq 0.05$ ) were encountered between the essential oils provided by the different regions of Peru and Brasil, during steam distillation process and related to optical rotation (Figure 2.1). As distillation time increases from 1 to 10h, oils optical rotation diminished from a range of 42 to 49 to values in the range of -4.7 and 0.8.

This result can be explained by the fact that during the first hours of distillation, terpenes and some of the oxygenated compounds are distilled. These compounds are responsible for the levogene behavior due to its chemical composition structure. Lately, during the process, optical rotation values becomes low and levogene by the increase of these oxygenated compounds, like aldehydes, alcohols and esters.

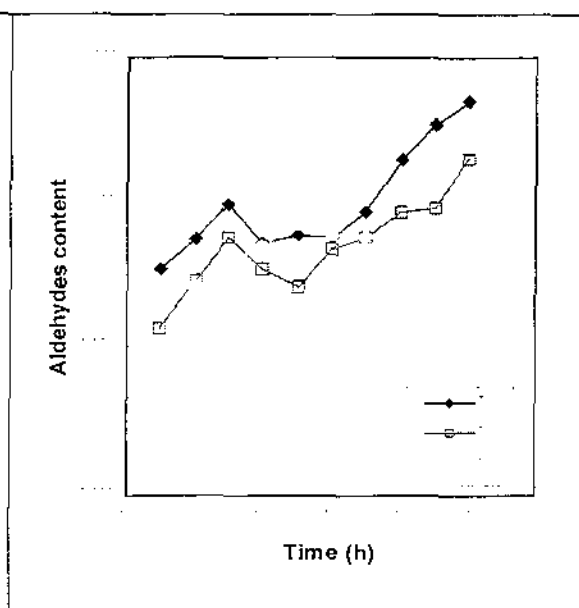


On the other hand, refractive index showed a different behavior during distillation time, for the oils extracted of lemons from the three different regions (Figure 2.2). Refractive index showed a slight increase on the values from 1.475 (first hour) to values in the range of 1.479 and 1.485, for the samples of M1 and M2 regions. It was observed a gradual increase and oscillating behavior for samples of M3 region that could be explained by the presence of more unstable oxidative compounds in this sample. As for optical rotation, the low values for refractive index encountered in the first hours of the distillation process are due to the higher amount of terpenes, whereas at the final distillation stage, the oxygenated compounds presence prevails. The values of the essential key lime oil specific gravity maintained practically constant during the distillation process, increasing slightly from 0.847 to 0.882 g/L (Figure 2.3). This result can be explained by that fact that since the distillation process is slow, it causes gradual changes in the oil, so the volatiles compounds, as terpenes, volatizes slowly and gradually. At the same time, carbonylic compounds are also gradually formed. Since these oxygenated compounds have a higher molecular weight, the oils specific gravity increases.





**Figure 2.3** Specific Gravity of essential Key Lime oil from 3 select (M1, M2, M3) obtained by steam distillation (1bar/25°C).



**Figure 2.4** Aldehyde content of essential Key Lime oil from 3 select (M1, M2, M3) obtained by steam distillation (1bar/25°C).

In relation to the aldehydes content, the samples from the different regions showed different behaviors during distillation process (Figure 2.4). For the samples of M3 region, the fact that the emulsion juice-oil remained in contact for longer time than for the other regions, allowed a higher oxidation of its compounds, thus altering its aldehyde content. Longer distillation time resulted in essential oils with higher amounts of aldehydes (samples from M1 and M2 regions).

The aldehyde content is the most important indication of the quality of the essential oils, and it is related to the presence of the oxygenated compounds. These compounds, especially the carbonylics, have an important influence on the aroma of the essential oil.

Essential key lime oil with good quality can be obtained within 10 h of steam distillation process at normal conditions. The recovery of essential oil from the condenser at a temperature of 35°C is also important to maintain a high oil quality, once it avoids more oxidative reactions and losses of the terpenes at this stage. Above 10 h of process, the presence of carbonylic compounds in the oil over 3% compromises its applications in

---

foods. This information could be of great interest for flavor industries to better utilize the raw material.

## 2.5 Conclusions

Steam distillation time process influences the quality of essential key lime oil. Under the conditions performed in this study, essential oil with 1.10% of carbonylic compounds was obtained within 10 h of process. This essential oil can be used as flavoring agent of non alcoholic carbonated beverages.

## 2.6 References

- [1] Vekiari, S.A.; Protopapadakis, E.E.; Papadopoulou, P.; Papanicolaou, D.; Panou, C.; Vamvakias, M. Composition and seasonal variation of the essential oil from leaves and peel of a cretan lemon variety. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 147-153, 2002.
- [2] Guenther, E. "The Essential Oils", vol. III, Ed. Fritzsche Brothers INC, New York, USA, 777p, 1955.
- [3] Benvenuti, F; Gironi, F.; Lamberti, L. Supercritical deterpenation of lemon essential oil, experimental data and simulation of the semicontinuous extraction process. *Journal of Supercritical Fluids*, 20, 29-44, 2001.
- [4] Van Straten, S.; Maarse, H. Volatile compounds in food, Division for Nutrition and Food Research, TNO: Zeist, 1983.
- [5] Blanco Tirado, C; Stashenko, E.E.; Combariza, M.Y., Martinez, J.R. Comparative study of colombian citrus oils by high-resolution gas chromatography and gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 697, 501-513, 1995.

---

[6] Guenther, E. "The Essential Oils", vol. 1, Ed. Fritzsche Brothers INC, New York, USA, 427p, 1955.

[7] Combariza, M.Y.; Blanco Tirado, C.; Stashenko, E.; Shibamoto, T. Limonene concentration in lemon (*Citrus volkameriana*) peel oil as a function of ripeness. Journal of High Resolution Chromatography, 17, 643-646, 1994.

[8] Gramshaw, J.W.; Sharpe, K. Estimation of citral in lemon oil by gas-liquid chromatography using a capillary column. Journal of Science and Food Agricultural, 31, 93-98, 1980.

---

## Capítulo 3

### EXTRAÇÃO DO CORANTE NATURAL DO MARIGOLD (*TAGETES ERECTA L.*), SOLUBILIDADE EM CO<sub>2</sub> SUPERCRÍTICO, PURIFICAÇÃO DA LUTEINA E RECUPERAÇÃO DOS SOLVENTES

*Gamarra F.M.C.<sup>a</sup> \*; Tambourgi E. B.<sup>a</sup>; Bittencourt E.<sup>b</sup>.*

*<sup>a</sup> DESQ-FEQ/Universidade Estadual de Campinas, CP 6066, CEP 13081-970  
Campinas – SP- Brasil. \* Email: [gamarra@feq.unicamp.br](mailto:gamarra@feq.unicamp.br)*

*<sup>b</sup> DTP-FEQ/ Universidade Estadual de Campinas, CP 6066, CEP 13081-970  
Campinas – SP-Brasil.*

Trabalho Publicado nos Anais do *AICHE*, 2006. Revista *AICHE*, 2006.  
Este trabalho é traduzido do Inglês ao português e apresentado nesta tese.

---

### **3. Extração do corante natural do Marigold (*Tagetes Erecta L.*), solubilidade em CO<sub>2</sub> supercrítico, purificação da Luteína e recuperação dos solventes**

#### **3.1 Resumo**

Limitações legislativas crescentes impostas pelos organismos mundiais ao uso de corantes sintéticos, resultaram renovado interesse pelos corantes naturais, voltando ter importância, surgindo como possíveis substitutos na indústria de alimentos, têxteis, entre outras, diminuindo o impacto ambiental e danos ao organismo humano. O marigold, embora o extrato de flor seja utilizado como suplemento na alimentação veterinária, em forma tradicional, é escassa e insípida a informação disponível na literatura em termos de rendimentos, qualidade, estabilidade, segurança e aplicações. Neste trabalho fica demonstrado que o método de extração com fluido supercrítico (ESC), utilizando como solvente o CO<sub>2</sub> supercrítico é o mais eficiente na extração de corante xantofila (96%). As percentagens de recuperação dos solventes durante o processo foram altamente satisfatória, superior a 80% em todos os casos. O objetivo deste trabalho é determinar os rendimentos dos extratos, utilizando solventes (etanol, entre outros), por métodos de imersão, lixiviação e SFE, assim como a recuperação dos solventes, purificação da luteína.

#### **3.2 Introdução**

Devido à toxicidade potencial dos corantes sintéticos, dentre eles (hidroxitolueno, hidroxitolueno-BHT butilhidroquinona, ésteres do ácido 3, 4, 5- trihidroxibenzóico, entre outros) Ito et al., (1985), motivaram o interesse em pesquisar corantes de fontes naturais como possíveis substitutos dos sintéticos, tais como os obtidos de fontes vegetais, folhas, sementes, cereais, frutas, obtidas por vários métodos; extração, fracionamento e purificação criteriosos segundo Rogez, (2000), Wang e Lin, (2000). Numerosas investigações provaram que as ervas medicinais contêm diversas classes de compostos tais como polifenóis, tocoferóis, fenóis, alcalóides, taninos, carotenóides, terpenóides, entre outros (Velioglu et al., (1998) e Yoshida et al., (1989)). Dentre potenciais fontes de corantes, encontram-se a flor o marigold Aztec Africano (*Tagetes erecta L.*) nativa do México e a flor o marigold

---

Francesa (*Tagetes patula*) nativa da Guatemala. O Aztec Africano contém flores de cor amarelo e alaranjado, e o marigold Francês contém dois tons amarelos ou alaranjado e vermelho. A cor varia do amarelo limão, ao amarelo dourado até laranja.

A planta nativa do México é utilizada também em medicina, no tingimento de fibras têxteis, em alimentos e bebidas, é também conhecida como planta ornamental, crescendo em determinadas partes da Índia, México, e em outras partes do mundo, sendo plantada comumente na beira dos jardins. Dependendo das variedades e da técnica de cultivo praticada, o rendimento das flores varia notavelmente, em função do peso e número de flores, em torno de 11 a 30 ton/hectare Sowbhagya et al., (2004). O rendimento de flores de marigold foi relatado aproximadamente 30 000 kg/hectare na Índia, 1976 Sowbhagya et al., (2004). Cabe mencionar que as pétalas representam de 40% a 50% do peso da flor. Outros fatores que podem afetar a qualidade e rendimento; o tempo, colheita, técnica de secagem das pétalas e condições de armazenamento. O corante extraído da flor do marigold contém como principal componente a luteína ( $C_{40}H_{56}O_2$ ), constituindo o grupo mais importante dentre os corantes naturais. A concentração de ésteres de luteína em flores frescas do marigold varia de 4 ug/g em flores amarelas e de 800 ug/g em marrom e alaranjado Gregory et al., (1986). As flores escuras contêm aproximadamente 200 vezes mais ésteres de luteína do que as flores mais claras. O conteúdo de xantofila varia de 4 a 5 g/lb Sowbhagya et al., (2004). As flores de marigold são consideradas como uma das fontes natural mais rica em xantofilas principalmente na forma de luteína concluiu Ausich e Sanders, (1997).

Diversos métodos são utilizados na separação e extração de corantes naturais, entre eles a extração ESC, que utiliza como solventes  $CO_2$ , propanol, entre outros, bem como métodos convencionais como a imersão e lixiviação. O método ESC mostrou ser eficiente e seletivo na extração dos pigmentos, Naranjo-Modad et al., (2000). Além de ser uma técnica que a princípio pode substituir os processos convencionais. Quando comparada aos processos convencionais, a extração com  $CO_2$  supercrítico em alimentos oferece as vantagens do  $CO_2$  ser um gás inerte, não tóxico, não inflamável e de baixo custo. Pode ser

---

um gás a condições normais, é fácil a sua separação do soluto, obtendo-se um produto final puro, isento de traços de solventes orgânicos. Possibilita também o processamento a temperaturas relativamente baixas, evitando a degradação térmica de componentes termolábeis.

Quanto à qualidade e rendimentos da oleoresina e corantes xantofilas obtidas da flor do marigold por lixiviação entre outros métodos não foram devidamente discutidos ao nível de literatura disponível, assim como, faltam dados sobre a recuperação dos solventes utilizados. O objetivo deste trabalho é determinar o melhor rendimento da extração de oleoresina e corantes do grupo xantofila (luteína e zeaxantina) do marigold Aztec Africano (*Tagetes erecta L.*), seja por imersão, lixiviação e ESC, utilizando como solventes o hexano, éter de petróleo, etanol para a imersão e lixiviação, CO<sub>2</sub> supercrítico para SFE. Também foi determinada a caracterização físico-química dos extratos, solubilidade do corante no CO<sub>2</sub>, purificação do corante (luteína), acompanhamento da estabilidade e recuperação dos solventes utilizados.

### **3.3 Experimental**

#### **3.3.1 Material**

Foram utilizadas flores frescas de marigold Aztec (*Tagetes erecta L.*) para extração do corante, adquiridas de uma fazenda da região norte do Peru, cidade de Piura e na região de Campinas, São Paulo, Brasil, mantidas em condições de 23°C e 6,5 de pH do solo. As flores selecionadas apresentaram cores de amarelo até laranja. Separadas em lotes para uma melhor caracterização, e evitar mudanças nas propriedades das flores frescas, as mesmas foram mantidas e armazenadas a 4°C, seladas em sacos de polipropileno preto até o início dos ensaios experimentais. Solventes químicos diversos foram fornecidos pela Merck. Todas as vidrarias utilizadas foram de cor âmbar para proteção contra luz difusa. Os ensaios experimentais foram desenvolvidos nos laboratórios da Faculdade de Engenharia Química, Departamento de Sistemas de Processos Químicos e Informática DESQ, e na



---

Faculdade de Engenharia de Alimentos, laboratório de Extração, Termodinâmica Aplicada e Equilíbrio, EXTRAE da Universidade Estadual de Campinas, São Paulo, Brasil.

### 3.3.2 Extração e purificação dos pigmentos.

Foram selecionadas flores compactadas (com alta densidade de pétalas) por lotes, provenientes de ótima floração. As pétalas foram submetidas ao processo de desidratação até atingir o teor de umidade desejada de 10% ( $\pm 1$ ), mantendo esta operação a 60°C durante 150 minutos, e fluxo de ar de 0,4 m/s, evitando a degradação do pigmento. O tamanho da partícula obtida após a secagem foi em média de 0,395 mm.

As extrações dos corantes foram desenvolvidas pelo o processo de imersão, lixiviação (soxhlet), utilizando os solventes selecionados, todos com grau analítico, a saber; etanol, hexano e éter de petróleo, em solução com pH 7, mantendo o processo a temperatura entre 40 a 50°C. No caso da imersão, o tempo da extração foi de 8 horas em ambiente acondicionado para evitar a volatilidade dos solventes que leva consigo o corante (oleoresina). Já o tempo da extração para a lixiviação foi de 6 horas, tempo no qual o solvente acumulado na cápsula de extração não apresentou a coloração da oleoresina suscetível de ser extraída, sinal que a extração havia se completado. Uma vez concluída a extração, as fases foram analisadas para quantificar os compostos e determinar os rendimentos da extração expressado em termos de % oleoresina extraída. A recuperação dos solventes nesta etapa foi realizada no mesmo equipamento, com fundamento nas propriedades físico-químicas (ponto de ebulição, entre outras) da oleoresina. A oleoresina retirada foi colocada na estufa a 60°C durante 2 horas, após foi esfriada no dessecador por 50 minutos. Com o objetivo de aumentar a concentração de luteína nos extratos de marigold e o enriquecimento das xantofilas, procedeu-se à purificação do extrato, pelos processos de saponificação e cristalização, assim como se realizou a recuperação dos solventes utilizados. Também foram realizadas extrações utilizando sistema de extração supercrítica, tendo como solvente o CO<sub>2</sub> supercrítico, como mostra a Figura 3.1 o esquema experimental, as condições de operação foram com temperaturas de 313,15K e 328,15K, e pressões de 100, 150, 250 e 300 bar.

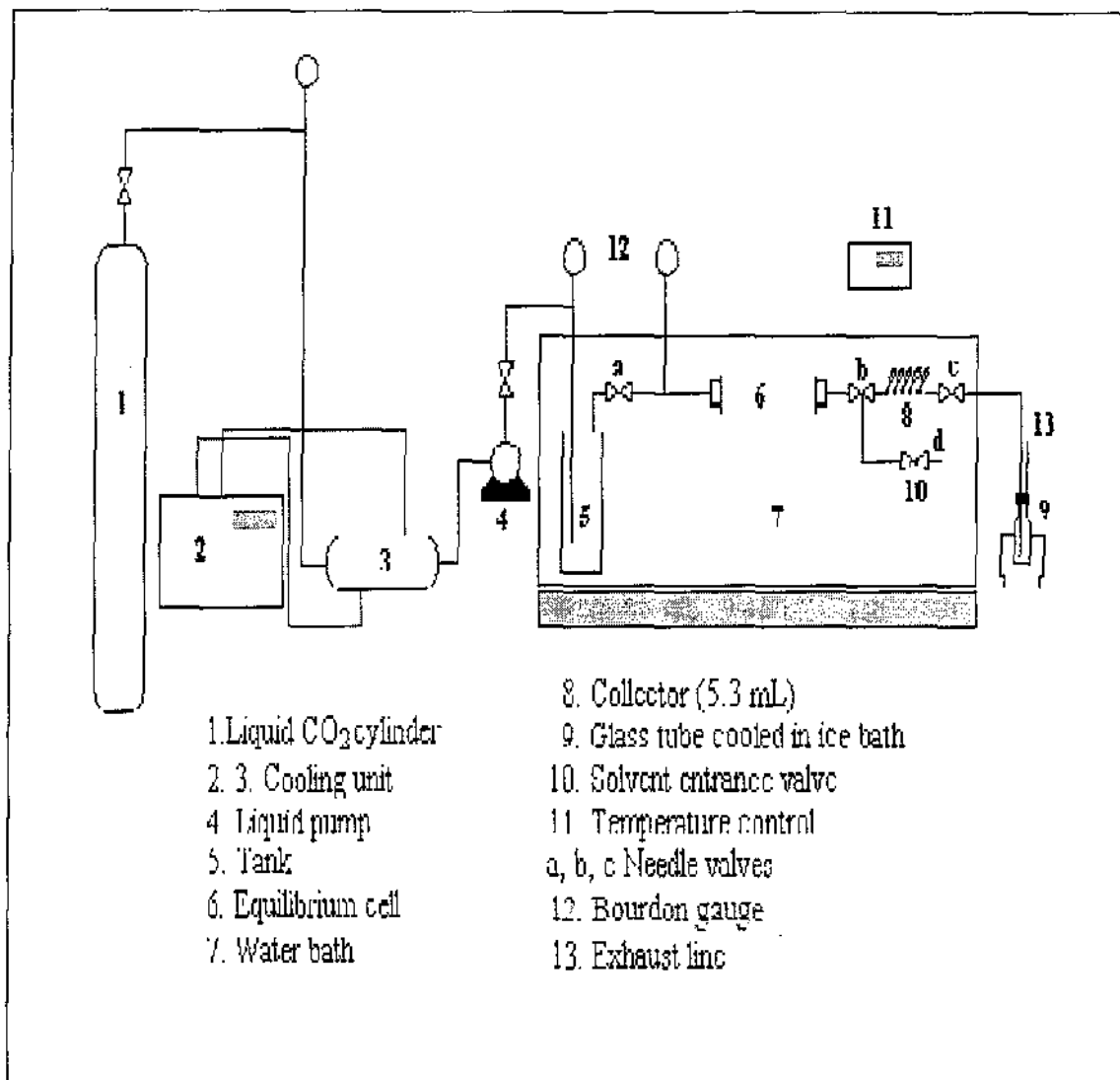


Figura 3.1 Esquema experimental (Sistema estático)

### 3.3.2.1 Saponificação

A saponificação do extrato de marigold foi realizada adicionando-se 40% de KOH e mantendo em refluxo a 55°C por 20 minutos. Após refrigerar, o hexano foi adicionado mantendo-se a solução em agitação por 2 horas a 60°C, em ambiente condicionado para evitar o contato com a luz. Concluída a saponificação, as substâncias saponificadas foram precipitadas. O sobradante foi levado à estufa a 60°C por 45 minutos para eliminar a umidade e os resíduos de hexano. O processo é concluído deixando-se o extrato em

resfriamento no dessecador por 30 minutos. Na Figura 3.2, mostra-se a reação de saponificação que foi utilizada.

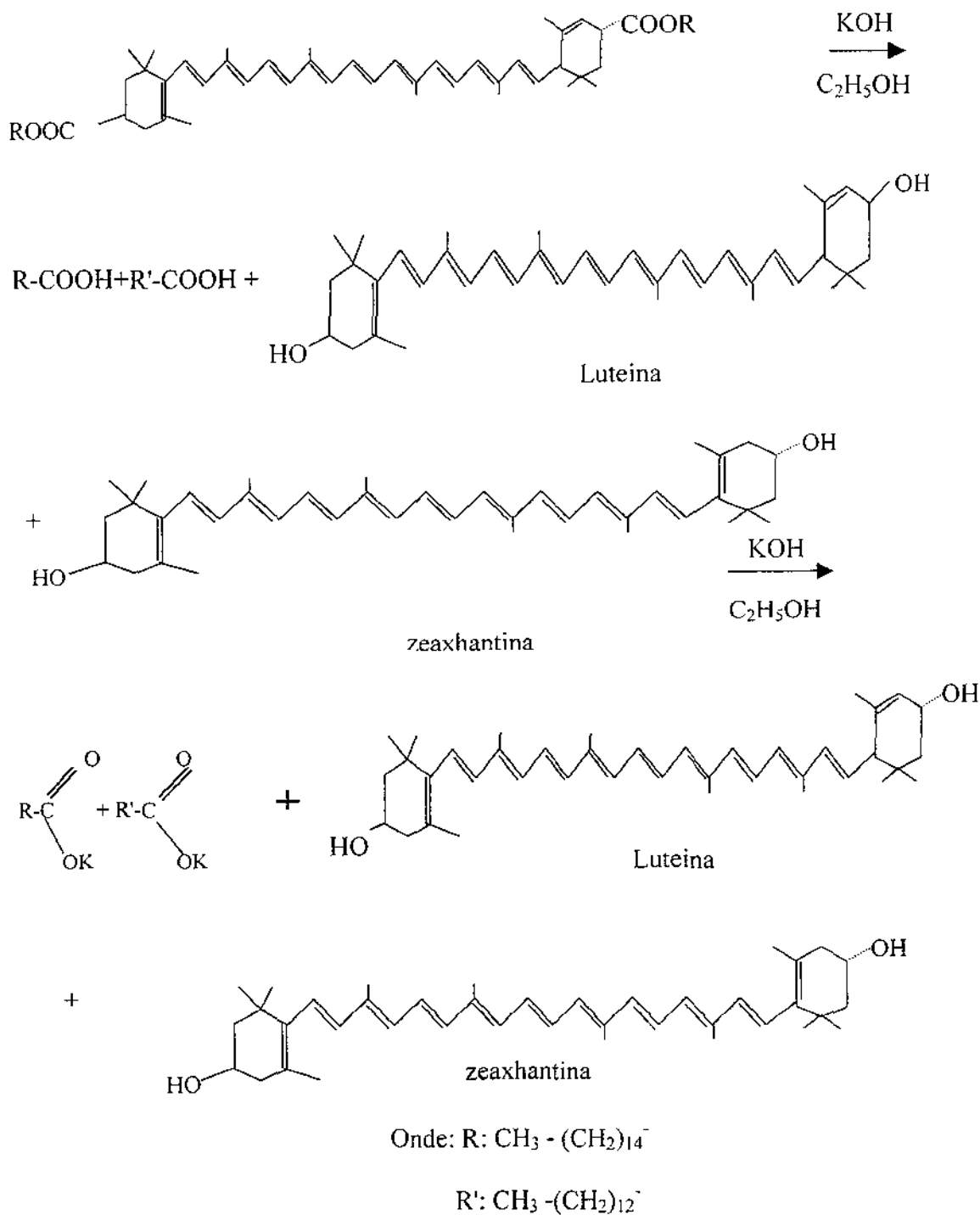


Figura 3.2 Reações de saponificação.

---

### 3.3.2.2 Cristalização

Sabendo-se que os ésteres de luteína encontram-se em maior percentagem nos extratos de marigold, e baseados em estudos realizados anteriormente por Federick, (1995) e Sowbhagya et al., (2004) o processo de cristalização foi modificado utilizando dois tipos de solventes, um com maior poder de solubilização (hexano) e outro com menor poder de solubilização (etanol). Após colocar o sobnadante em contato com os solventes, a mistura foi resfriada a 10°C por 5 horas. Em seguida, a solução foi filtrada e o precipitado seco em estufa a 60°C obtendo-se, então, cristais em forma de flocos amorfos.

### 3.3.3 Propriedades físico-químicas

O ponto de fusão, o índice de acidez, o índice de iodo e o índice de saponificação do extrato de marigold foram determinados de acordo à metodologia da AOAC, (1984). Além das propriedades do pó; umidade, cinzas, fibras, proteínas e ácidos graxos.

### 3.3.4 Análises dos corantes

A espectrofotometria UV-VIS foi realizada de acordo ao método da AOAC, (1984) para estimação de xantofilas. A espectrofotometria infravermelha IV foi determinada de acordo ao método descrito por Rogez, (2000) com algumas modificações, metodologia também descrita pela AOAC, (1984). As características colorimétricas do corante foram determinadas utilizando o espectrofotômetro Colorquest Hunterlab, com refletância especular incluída, determinando-se os valores de L (Luminosidade), a\* (intensidade de vermelho) e b\* (intensidade do amarelo), por reflexão das amostras, usando Iluminante C e sistema de leitura CIElab. Os valores médios foram calculados pelas equações 1 e 2, de acordo com o método de Calvo e Durán, 1997; Mabon, 1993.

$$\Delta E = \sqrt{\Delta L^2 + \Delta a^2 + \Delta b^2} \quad (1)$$

---

$$\Delta C = \sqrt{\Delta a^2 + \Delta b^2} \quad (2)$$

Onde:  $\Delta L = L_{amostra} - L_{padrão}$

$\Delta a = a_{amostra} - a_{padrão}$  e

$\Delta b = b_{amostra} - b_{padrão}$

### 3.3.4.1 Solubilidade do pigmento (Luteína)

Foi determinada a estabilidade do corante acompanhando os extratos obtidos em função do tempo.

A solubilidade S (g luteína / m<sup>3</sup>) calculada pela seguinte equação, baseada na lei de Beer:

$$S = \frac{A \cdot V}{E \cdot d \cdot V_c} \quad (3)$$

Onde:

S = Solubilidade em g Luteína / m<sup>3</sup> CO<sub>2</sub>

A = Absorbância a 470 nm

E = Emitância 282.6 m<sup>3</sup> of CHCl<sub>3</sub>/kg luteína

V = Volume total do extrato (mL)

V<sub>c</sub> = Volume do coletor (mL)

d = Diâmetro da cubeta.

---

Como a fase leve do equilíbrio para os sistemas em estudo é pouco concentrada em soluto, foi considerada que a densidade é a do CO<sub>2</sub> puro. Os valores de densidade do CO<sub>2</sub> nas diferentes condições de temperatura e pressão foram calculados através de um programa computacional que utiliza a equação desenvolvida por Huang et al., (1995) que reproduz valores experimentais da IUPAC segundo Angus et al., (1976). Os valores experimentais de solubilidade foram correlacionados ajustando os parâmetros da equação de Chrastil (1982).

$$S = \rho^k \exp A \quad (4)$$

Onde:

S (kg.m<sup>-3</sup>) é a solubilidade,  $\rho$  (kg.m<sup>-3</sup>) é a densidade do SC-CO<sub>2</sub>, T (K) é A é o parâmetro que depende da temperatura  $A = \left( \frac{a}{T} + b \right)$

Os ensaios experimentais foram realizados em triplicata utilizando as análises de variância (ANOVA) com ( $\alpha=0,5$ ) para determinar as diferenças estatísticas. O teste de Duncan, com múltiplos ranges, tendo como critério estatístico  $p < 0, 05$ , aplicado para calcular as diferenças significativas dos extratos obtidos assim como da recuperação dos solventes e cor. Já os dados de solubilidade do corante em CO<sub>2</sub> supercrítico foram correlacionados e ajustados utilizando a Equação de Chrastil.

### 3.4 Resultados e Discussões

**Tabela 3.1** Composição química média do pó da flor inteira do marigold.

Composição	Flor inteira (% média)
Cinzas	5,13
Umidade	7,55
Fibra	13
Proteína	12
Ácidos graxos	14
Xantofilas	14,5

**Tabela 3.2** Concentração do pigmento xantofila na flor do marigold utilizando diferentes solventes.

Solventes	Oleoresina extraída (% em peso)	Pigmento xantofila extraído (% em peso)
Etanol	92,07	0,806
Hexano	86,36	1,895
Éter de petróleo	81,85	2,304
CO <sub>2</sub> Supercrítico	98,85	2,851

A Tabela 3.1 lista os valores médios de 4 amostras que caracterizam o pó das flores do marigold. Estes valores concordam com os valores encontrados em pó comerciais exceto a concentração de xantofilas apresentando um valor médio superior 14,5 ( $\pm 0.3$ ) comparados aos 11 ( $\pm 0.5$ ) (g de xantofilas / kg total de pó) obtidos por Sowbhagya et al., (2004). Já ao comparar com os valores obtidos de processos fermentativos, de acordo com estudos realizados por Buser et al., (1999), 17,81 ( $\pm 0.3$ ), os valores obtidos ficaram distantes, embora os processos fermentativos apresentem a desvantagem de ter um maior tempo de processo. Quanto à identificação dos principais grupos funcionais presentes nos extratos, estes foram realizados por Espectro-infravermelho (IV). As análises levaram em conta as bandas características de absorção dos respectivos grupos funcionais encontrados no corante. Foram identificados também ácidos graxos (ácido mirístico, láurico e esteárico), em menores percentagens, destacando-se o ácido palmítico em maior percentagem, ao redor de 60%, valor semelhante ao encontrado na literatura segundo Sowbhagya et al., (2004). O ensaio de umidade, fator fundamental da degradação dos corantes, apresenta teores dentro dos limites, comparáveis aos da literatura, cujo valor varia de 8% a 10% Sowbhagya et al., (2004) e Buser et al., (1999). Também se observa uma

elevada percentagem de proteínas e fibras obtidas, o que pode constituir um potencial insumo para a indústria de alimentos, corroborando, assim, as diversas aplicações tradicionais realizadas por países da América Central.

A Tabela 3.2 lista as percentagens de oleoresina e corantes do grupo xantofila extraída das pétalas com diferentes solventes e métodos de separação, onde os valores extraídos com hexano (1,895%) e etanol (0,806%) estão de acordo aos valores da literatura Sowbhagya et al., (2004). No caso da extração com éter de petróleo (2,304%), obtiveram-se valores acima de 2%, superior aos publicados na literatura, onde se utilizam solvente como etanol, metanol e hexano cujos valores variam de 1 a 2% de xantofilas, extraídas também por lixiviação. Quanto às percentagens de oleoresina nos extratos, observa-se que a extração realizada com etanol (extrato de cor marrom após a destilação) resulta na maior concentração (92,07% de oleoresina) comparada aos dados da literatura publicados por Philips e Berry, (1975). Deve-se esta maior concentração ao maior grau de polaridade. Os valores obtidos com hexano (86,36%) e éter de petróleo (81,85%) são similares aos encontrados na literatura. Já as extrações realizadas com CO<sub>2</sub> supercrítico, mostram ser este processo e solvente mais seletivo e eficiente em todos os ensaios. Quanto às análises de espectrofotometria ultravioleta e visível UV-VIS para quantificação dos extratos, o comprimento de onda utilizado variou de 280 a 750 nm.

**Tabela 3.3** Comparação das propriedades físico-química dos extratos de marigold obtido utilizando diferentes solventes orgânicos, com dados da literatura.

Propriedades	Padrão FAO	Extração com etanol	Extração com Hexano	Extração com Éter de petróleo
Ponto ebulição	53,5 – 55°C	54,7°C	52,5°C	53,5°C
Índice de iodo	132 – 145	146,02	138,36	140,41
Índice de saponificação	175 – 200	192,81	194,65	195,70
Índice de acidez	0,6 – 1,20	1,19	1,14	1,09
Resíduos de solvente	Mínima 25 ppm	47	26	40



**Tabela 3.4** Espectrofotometria no Colorquest Hunterlab do extrato das flores de marigold (luteína).

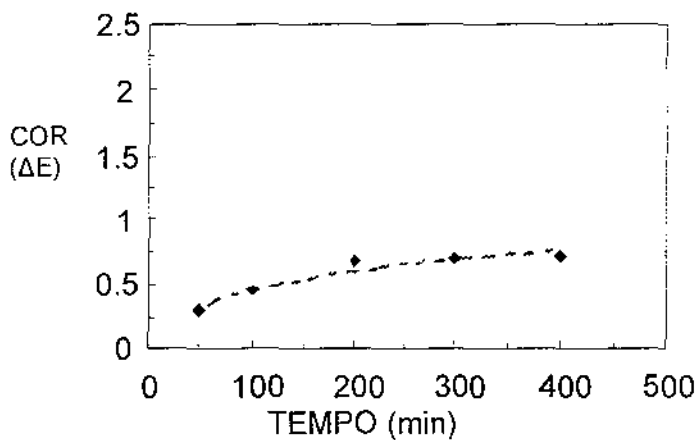
Cor observada	Hunter color		
	L	a	b
Amarelo (hexano)	42,8	17,5	23,6
laranja (hexano e éter de petróleo)	37,5	23,4	18,8
laranja-marrom (etanol)	25,7	16,3	7,2
Verde (hexano)	47,3	1,5	26,7

A Tabela 3.3 lista as propriedades físico-químicas dos extratos obtidos por imersão e lixiviação utilizando diferentes solventes orgânicos. Observa-se que os valores obtidos utilizando hexano e éter de petróleo está dentro dos especificados pela FAO, Marmion, (1985). Quanto aos valores obtidos com etanol, estes estão próximos dos permitidos, isto é devido que o etanol arrasta outros compostos além dos corantes. Destacam-se os valores obtidos de resíduos, por HPLC, dos solventes presentes nos extratos, que estão próximos dos valores permitidos pela FAO.

A Tabela 3.4 mostra as leituras colorimétricas (L, a, e b) dos extratos obtidos após a imersão e lixiviação selecionada por meio do Colorímetro, estes valores são superiores ao comparar com os valores de sintéticos comerciais entre eles o amarelo N° 6, sunset yellow (indicando a presença de oleoresina e luteína). Não foram observadas diferenças significativas nas leituras realizadas para os extratos utilizando o mesmo solvente. No entanto observa-se diferença significativa com respeito às cores dos extratos comparados com os diferentes solventes utilizados nas extrações.

A Figura 3.3 mostra o comportamento da cor dos valores médios obtidos das extrações dos três métodos de separação utilizados em função do tempo, medidos por leituras colorimétricas, realizadas a 23°C. Calculou-se a diferença da cor ( $\Delta E$ ) mediante as equações 1 e 2, observa-se o comportamento de  $\Delta E$  tem uma variação acentuada nos primeiros minutos, atingindo um valor máximo de 0,53, indicando uma maior concentração de pigmentos (luteína) após a extração, adquirindo uma tendência constante e estável. Quanto às leituras do espectro UV (absorbâncias), estas apresentaram pequenas variações nos primeiros 150 minutos, após este tempo não houve variações nem diferenças significativas em todas as leituras, indicando que a degradação dos compostos acontece nos

primeiros minutos da extração, com tendência a estabilizar-se. Cabe mencionar que os extratos foram armazenados em condições apropriadas para evitar a degradação dos pigmentos. A estabilidade da cor, também foi acompanhada tendo em conta o comportamento da figura 3.3 mostrando um comportamento com tendência estável.



**Figura 3.3** Variação da cor  $\Delta E$  com o tempo a 23°C

**Tabela 3.5** Solubilidade da luteína em  $\text{CO}_2$  a 313.15 K

P (MPa)	$\rho_{\text{CO}_2}$ ( $\text{kg.m}^{-3}$ )	S ( $\text{g.m}^{-3}$ )
10	629.3	2,015
15	781.6	4,89
25	880.2	21,1
30	935.0	32,71

A Tabela 3.5 relaciona os valores da solubilidade da luteína a 313,15K. Observa-se que a solubilidade se incrementa proporcionalmente com a densidade, assim como, a pressão mantendo constante a temperatura. Estes valores foram comparados aos valores

obtidos por outros pesquisadores que também utilizaram o CO<sub>2</sub> supercrítico como solvente de extração. Naranjo-Modad et al., (2000) mediram a solubilidade da luteína a 40°C e 45°C com pressões que variam de 115 bar a 316 bar, obtendo valores levemente inferiores aos valores obtidos neste trabalho e na mesma ordem de grandeza. Também foi comparado a valores obtidos de extrações de corantes semelhantes realizados por Silva et al., (2006), Degnan et al., (1991) entre outros, onde mediram a solubilidade da bixina pura a 313,15K, mostrando um comportamento e valores obtidos similar aos obtidos.

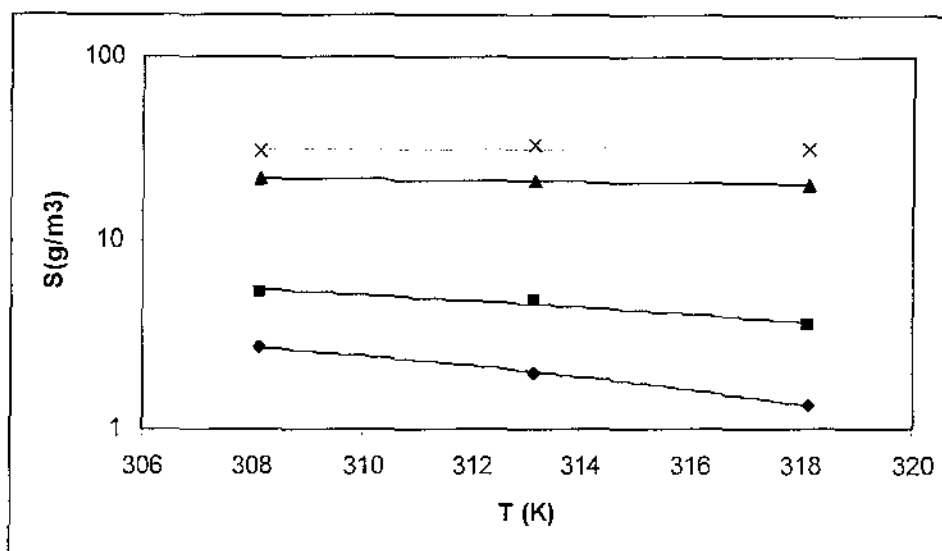
**Tabela 3.6** Percentagem de solventes recuperados durante o processo

Solventes utilizados	% Solventes recuperados por etapas		
	Extração	Separação (L-L) Hexano recuperado	Purificação Hexano recuperado
Etanol	90,12	81,68	82,77
Hexano	81,47	85,65	84,05
Éter de petróleo	80,55	87,19	83,33

A Tabela 3.6 mostra a percentagem de solventes recuperados após as etapas de extração (imersão e lixiviação), separação e purificação. Observa-se que as recuperações dos solventes na etapa da extração apresentaram valores acima de 80% para cada solvente utilizado, a recuperação é função das propriedades físico-químicas dos solventes, verificando-se que o etanol resultou ser a maior percentagem de recuperação. Nas etapas de separação e purificação o hexano recuperado apresentou valores de até 81%.

A Figura 3.4 apresenta os valores da solubilidade da luteína em função da temperatura para cada isobárica. Os valores da solubilidade foram substancialmente maiores que a solubilidade da luteína pura durante os testes preliminares realizados, chegando a ser 5 vezes superior. Indicando com isto que a oleoresina atua como co-solvente do CO<sub>2</sub> na extração de luteína. Este comportamento também foi observado por Degnan et al., (1991) e Silva et al., (2006). Dois fatores são importantes na solubilização do soluto, a densidade do solvente e a temperatura transcrita em termo de aumento da pressão do vapor do soluto. Estas contribuições são bem evidenciadas quando se analisa os valores

segundo a equação de Chrastil (1982). Para incrementar a solubilidade da luteína se utiliza um co-solvente (Hexano) baseado na polaridade do CO<sub>2</sub> e do solvente.



**Figura 3.4** Solubilidade da luteína em função da temperatura a diferentes pressões; ◇ 10Mpa; ■ 15Mpa; ▲ 25Mpa e × 30Mpa

### 3.5 Conclusão

O sistema supercrítico utilizando CO<sub>2</sub> supercrítico como solvente mostrou ser o mais adequado e o melhor em termos de reprodutibilidade de valores (rendimento, solubilidade e seletividade) na extração da luteína. A presença de um co-solvente tipo hexano, entre outros, além da presença de óleos na flor aumenta a solubilidade em mais de 5 vezes quando comparada à solubilidade pura e à de outros corantes semelhantes. A equação de Chrastil pode ser utilizada para modelar e correlacionar os valores da solubilidade do sistema em função do grupo luteína. A recuperação de solventes dados escassamente divulgado na literatura e considerado fator ligado ao impacto ambiental, observa-se que os valores obtidos foram satisfatórios e estiveram acima de 80%, em todos os casos. As propriedades físico-químicas dos extratos apresentaram resultados aceitáveis comparados aos especificados pela FAO, mostrando que o corante obtido adequasse à indústria de alimentos. A leitura colorimétrica das cores laranja e amarelo, na maioria dos casos apresentou valores com intensidade similares e alguns casos superiores a outras

---

fontes naturais e aos sintéticos, além da estabilidade do corante com o tempo. Embora não se tenha registrado dados de toxicidade do pigmento, fica demonstrado que o extrato purificado de marigold é um potencial substituto aos corantes sintéticos, podendo ser utilizado como aditivo em diversas áreas, entre elas a indústria de alimentos e têxtil.

### **Agradecimentos**

Agradeço pela colaboração nesta pesquisa a Faculdade de Engenharia Química, DESQ, da Universidade Estadual de Campinas-São Paulo, Brasil e CAPES pelo apoio financeiro.

---

### 3.6 Referências Bibliográficas

Angus, S., Armstrong, B., Reuck, K. M. In Carbon Dioxide: International Thermodynamic Table of the Fluid State. Pergamon Press, 3. New York, 266p. 1976.

Association of Official Analytical Chemists, (AOAC). 1984.

Ausich, R. L., e Sanders, D.J. Process for the formation, isolation and purification of comestible xanthophyll crystals from plants. US Patent No. 5,648,564, 1997.

Buser, M. D., Stone, M. L., Brusewitz, G. H., Maness, N. O., Whitelock, D. P. Thin-layer drying of marigold flowers and flower components for petal removal. American Society of Agricultural and Biological Engineers, 42, 5, 1367-1374. 1999.

Calvo, C., Durán, L. Propiedades Físicas II: Ópticas y color In. Temas em Tecnologia de Alimentos, ed. Aguilera, M. CYTED, Instituto Politécnico Nacional, México, 261, 1997.

Chrastil J. Solubility of Solids and Liquids in Supercritical gases. The Journal of Physical Chemistry. 86(15): 3016-3021. 1982.

Degnan, A. J, Elbe, J. H., Hartel, R. W. Extraction of annatto seed pigment by supercritical carbon dioxide. Journal Food Science. 56 (6):1655-1659. 1991.

Dillard, C. D., e German, J. B. Phytochemicals: Nutraceuticals and human health. urnal of the Science of Food and Agriculture, v.80, 1744–1756, 2000.

Federick Khachik, F. Process for Isolation Purification and Recrystalization of Lutein from Saponified Marigold Oleoresin and Uses there of. US Patent v. 53, p. 82,714, Jan 17, 1995.

Gregory, G. K., Chen, T. S., Philip, T. Quantitative analysis of lutein esters in marigold flowers (*Tagetes erecta*) by high performance liquid chromatography. Journal Food Science, N° 51, v. 4, p. 1093-1094, 1986.

---

Helrich, K. AOAC. Official Methods of Analysis. 15<sup>th</sup> ed. Arlington, Virginia, p. 1048-1049, 1990.

Huang, F. H., Li, M. H., Lee, L. L., Starling, K. E., Chung, F. T. H. An accurate equation of state for carbon dioxide. *Journal of Chemical Engineering of Japan*. 18(6): 490-496, 1985.

Ito, N., Fukushima, S., e Tsuda, H. Carcinogenicity and modification of the carcinogenic response by BHA, BHT and other antioxidants. *CRC Critical Reviews in Toxicology*, 15, 109–112, 1985.

Mabon, T. J. *Color measurement of foods world*, 38, 21-25, 1993.

Marmion, M. D. *Handbook of US-Colorants for Food, Drugs and Cosmetics*. A wiley Interscience Publication, John Wiley & Sons, 1985.

Naranjo-Modad, S., López-Munguia, A., Vilarem, G., Gaset, A., & Bárzana, E. Solubility of purified lutein diesters obtained from *Tagetes erecta* in supercritical CO<sub>2</sub> and the effect of solvent modifiers. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v.48, p. 5640–5642, 2000.

Philips, T., Berry, Nature of lutein acylation in marigold flowers (*Tagetes erecta*). *Journal Food Science*, N°40, v. 5, p.1089-1090, 1975.

Rogez, H. Açai; Preparo, composição e melhoramento da conservação. Belém: EDUFPA, 2000.

Silva, G. F. Extração de Pigmentos do urucum com CO<sub>2</sub> supercrítico. Dissertação de Tese de Doutorado em Engenharia de Alimentos, FEA/UNICAMP, Campinas, p. 208, 1999.

Sowbhagya, H. B., Sampathu, S. R and Krishnamurthy N. Natural Colorant form Marigold- *Chemistry and Technology*. *Food Reviews International*, 20, 1, 33-50, 2004.

---

Velioglu, Y. S., Mazza, G., Gao, L., & Oomah, B. D. Antioxidant activity in fruits and total phenolic in selected fruits, vegetables, and grain products. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v. 46, p. 4113–4117, 1998.

Wang, S. Y., e Lin, H.-S. Antioxidant activity in fruits and leaves of blackberry, raspberry, and strawberry varies with cultivar and developmental stage. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v. 48, p. 140–146, 2000.

Yoshida, T., Mori, K., Hatano, T., Okumura, T., Uehara, I., Komagoe, K., Fujita, Y., & Okuda, T. Studies on inhibition mechanism of autoxidation by tannins and flavonoids. V. Radical-scavenging effects of tannins and related polyphenols on DPPH radical. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, v. 37, p. 1919–1921, 1989.



---

## Capítulo 4

### EXTRAÇÃO DO CORANTE NATURAL DO MILHO ROXO (*ZEA MAYS L.*) E APLICAÇÕES INDUSTRIAIS

*Gamarra F.M.C.<sup>a</sup> \*; Tambourgi E. B<sup>a</sup>; Bittencourt E<sup>b</sup>.*

*<sup>a</sup> DESQ-FEQ/Universidade Estadual de Campinas, CP 6066, CEP 13081-970 Campinas –  
SP- Brasil. \* Email: [gamarra@feq.unicamp.br](mailto:gamarra@feq.unicamp.br)*

*<sup>b</sup> DTP-FEQ/ Universidade Estadual de Campinas, CP 6066, CEP 13081-970  
Campinas – SP-Brasil.*

Trabalho Publicado nos Anais do *AICHE*, 2006. Revista *AICHE*, 2006.  
Este trabalho é traduzido do Inglês ao português e apresentado nesta tese.

---

## **4. Extração do corante natural do Milho Roxo (*Zea Mays L.*) e aplicações industriais**

### **4.1 Resumo**

Restrições impostas pela organização mundial da saúde (OMS) aos corantes sintéticos tornam necessários estudos de obtenção, caracterização e aplicação de corantes naturais. O corante do milho, a antocianina, ao longo da história sempre foi parte da dieta humana. Nas últimas décadas aumentou o interesse sobre este corante, que encontra um amplo espectro de aplicações. Este Trabalho tem como objetivo a extração dos pigmentos do milho roxo por imersão, lixiviação e ESC, utilizando diversos solventes. Também foi realizada uma caracterização da matéria prima, uma quantificação e identificação dos compostos extraídos e determinados dos rendimentos dos extratos. A obtenção de papel indicador utilizando os extratos obtidos mostrou ser esta utilização eficiente e estável podendo ser utilizado em laboratórios químicos.

### **4.2 Introdução**

Tendo em vista as restrições impostas pela organização mundial da saúde (OMS), aos corantes sintéticos, faz-se necessários estudos de obtenção, ou seja, extração, caracterização e purificação de corantes naturais. O corante do milho, a antocianina, entre outros compostos, com tonalidades roxas, tem sido utilizada em alimentos e bebidas, por muitos séculos de forma artesanal pelos povos do Peru segundo Brack-Egg, (1999), Lock, (1997), podendo também ser usado na indústria têxtil, farmacêutica, cosmética, laboratórios químicos. Estes corantes têm sido obtidos de forma empírica por processos mecânicos através de atrito e raspagem da semente.

O termo antocianina foi proposto por Marquat em 1835, descrevendo o pigmento azul do repolho roxo (*Brassica oleracea*). Pertencentes à família dos flavonóides, compõem o maior grupo de pigmentos hidrossolúveis, os quais são responsáveis por muitas cores de

---

frutas, flores e frutos, que vai da faixa de cores de vermelho, azul, violeta e laranja segundo Strack e Way, (1993); Dao, (1998).

O milho roxo é classificado como um alimento funcional, considerado componente integral da dieta humana que fornece energia e nutrientes essenciais, devido a presença das antocianinas, as quais apresentam em sua estrutura grupos fenólicos, característica que lhes proporciona grande capacidade oxidante, exercendo uma importante função preventiva contra o câncer e doenças cardiovasculares, evidenciado em trabalhos recentes através de numerosos trabalhos entre eles Heinonen *et al*, (1998); dentre outros autores.

Os consumidores e as instituições de saúde aumentaram as exigências quanto à qualidade dos produtos, no que se refere a saúde e danos ambientais. Essas restrições são principalmente direcionadas ao uso de produtos químicos desde a etapa inicial (plantio) até o produto final. O processo de extração é uma etapa crítica, pois deve preservar as características naturais do produto de origem, evitando o uso de produtos químicos em grandes quantidades que possam deixar resíduos indesejáveis no produto final. Torna-se também necessário determinar a estabilidade e permanência da cor das antocianinas diante de vários fatores como temperatura, pH, presença de oxigênio, luz e tempo de armazenagem, incluindo a estrutura e concentração de pigmentos, fatores a serem controlados para evitar a degradação do produto, como demonstram trabalhos realizados por Mazza *et al.*, (1987); Francis (1989).

As extrações de corantes por lixiviação e imersão são operações tradicionais que utilizam solventes orgânicos como etanol, água, hexano entre outros. Comparando-se com outros processos, este apresenta as vantagens de baixo custo, facilidades de separação soluto/solvente; bem com a possibilidade de processamento a temperaturas relativamente baixas, evitando a degradação do produto final. A proposta de uso desta técnica para extração de pigmentos de milho roxo é justificável, devido a escassa literatura sobre o assunto. O corante em questão é um produto nobre, com alto valor agregado, apresentando grande potencial tecnológico e comercial. Este estudo tem como objetivo a extração dos

---

pigmentos presentes nas sementes do milho roxo por imersão, lixiviação, e por extração com fluido supercrítico (CO<sub>2</sub>), utilizando solvente, como água deionizada, etanol, ciclohexano, e éter de petróleo. Foram realizados estudos quantitativos, incluindo a determinação do rendimento dos concentrados de corantes extraídos, tendo sido estudada a obtenção de papel indicador como teste comparativo para futuras aplicações dos extratos nas fibras vegetais. Este trabalho faz parte de um programa que objetiva deste o plantio de fontes de corantes naturais, extração, e estudos de aplicações em diversos setores, incluindo o têxtil.

### **4.3 Experimental**

#### **4.3.1 Material**

Foram utilizadas sementes de milho roxo (*Zea Mays L.*), adquiridas no mercado local da Cidade de Lima, Peru e da plantação feita em Campinas, São Paulo, Brasil. As sementes foram selecionadas em lotes, dividido em 4 lotes (Lote 01A, Lote 01B, Lote 01C e Lote 01D) de acordo as características físicas (cor e densidade) para uma melhor caracterização. Todos os lotes foram embalados e armazenados em sacos de polipropileno com vácuo no congelador com temperatura em torno de - 10°C até início dos ensaios. Também foram selecionados os solventes a trabalhar, fornecidos pela Merck. A vidraria utilizada foi de cor âmbar para proteção da luz difusa e evitar a degradação do corante. Os ensaios experimentais foram desenvolvidos nos laboratórios da Faculdade de Engenharia Química, Departamento de Sistemas de Processos Químicos e Informática DESQ, na Faculdade de Engenharia de Alimentos, laboratório de Extração, Termodinâmica Aplicada e Equilíbrio, EXTRAE da Universidade Estadual de Campinas e nos Laboratórios de Química Têxtil do IPT, instituto de Pesquisas Tecnológicas, São Paulo, Brasil.

#### **4.3.2 Caracterização das sementes**

Duas frações de cada amostra foram retiradas das sementes de cada lote para determinação das características dos extratos. A determinação da umidade foi realizada de acordo com a metodologia descrita pela AOAC, (1995), o diâmetro da semente foi

---

calculada segundo o método de Cavalcanti Mata *et al*, (1986), o índice de acidez, a porcentagem de carboidratos, teor de fibras e minerais foram desenvolvidos baseados pelo método da AOAC, (1990).

#### 4.3.3 Sistema Extração de extração com solvente

As sementes foram submetidas ao processo de desidratação até atingir o teor de umidade desejada de 11% ( $\pm 1$ ), mantendo o processo a 60°C durante 150 minutos, e fluxo de ar de 0,4 m/s, evitando a degradação do pigmento. O tamanho da partícula obtida após a secagem foi em média de 10,20 mm.

Extraíram-se pigmentos das sementes do milho roxo, utilizando os métodos de imersão, lixiviação (soxhlet) e ESC, os quais consistem em promover o contato entre o soluto e solvente na forma estática em solução com pH 7 ou alcalino, mantendo o processo a temperatura constante 60°C, e pressão atmosférica, para evitar a degradação dos pigmentos. A extração com fluido supercrítica foi realizada a temperaturas de 40 e 45°C, e pressão de 250 e 300bar. O tempo em média foi de 90 minutos para a lixiviação, 48 horas para a imersão e 4 horas para a extração supercrítica. Foram utilizados como solventes; etanol, isso-propanol, ciclo hexano, éter de petróleo, água deionizada e metanol, todos de grau analítico. Também foi utilizado CO<sub>2</sub> como solvente para a extração supercrítica. Todos os ensaios foram realizados por triplicata.

Uma vez concluída a extração, as fases foram analisadas para quantificar os compostos e determinar os rendimentos da extração expressada em termos de porcentagem de antocianinas extraídas. A recuperação dos solventes nesta etapa foi realizada utilizando o mesmo equipamento (soxhlet), levando em conta as propriedades físico-químicas dos pigmentos. Os extratos retirados foram colocados na estufa a 60°C durante 2 horas, após foram esfriada no dessecador por 50 minutos.

---

#### 4.3.4 Obtenção de papel indicador de pH

A obtenção do extrato foi realizada por imersão em quente das sementes em contato com a água deionizada, com temperatura controlada de 60°C e 1 hora de aquecimento. Após decantar o extrato foi retirado e filtrado para concentrar a um volume de 15 mL, e dividido em duas amostras. A uma delas foi adicionado 1 mL de formaldeído para conservar por período suficientemente longo. Após preparar o extrato, tiras de papel de filtro são impregnadas no concentrado por 5 horas. O comportamento do tingimento foi realizado por colorimetria, até atingir uma cor constante, seguindo-se secagem por 8 horas. Este método foi baseado nos estudos realizados por Bernardino *et al*, (2002).

#### 4.3.5 Teor das Antocianinas extraídas do milho roxo (*Zea Mays L.*)

O teor de antocianinas e rendimentos extraídos, assim como a identificação e isolamento dos grupos antocianínicos foram realizados por cromatografia de camada delgada HPLC, baseado nos estudos realizados por Aoki, *et al*, (2002).

#### 4.3.6 Análises dos pigmentos

Foram realizadas medições diárias para acompanhar a, estabilidade, degradação e identificação do corante extraído, utilizando a técnica de espectrofotometria UV-VIS na faixa de 400 a 700nm, de acordo ao método descrito por Rogez, (2000) com algumas modificações, também descritas na literatura do AOAC, (1990). As características calorimétricas do corante foram determinadas utilizando o espectrofotômetro Colorquest Hunterlab, com refletância especular incluída, determinando-se os valores de L (Luminosidade), a\* (intensidade de vermelho) e b\* (intensidade do amarelo), por reflexão das amostras, usando Iluminante C e sistema de leitura CIElab de acordo com método descrito Calvo e Durán, 1997; Mabon, 1993, de acordo com o manual do ColorQuest II Sphere Sistem.

Os ensaios experimentais foram realizados em triplicata utilizando a análises de variância (ANOVA) com ( $\alpha=0,5$ ) para determinar as diferenças estatísticas. O teste de

Duncan, com múltiplos alcances, tendo como critério estatístico  $p < 0,05$ , aplicado para calcular as diferenças significativas dos extratos obtidos.

#### 4.4 Resultados e discussões

A tabela 1 lista os valores da composição das sementes inteiras do milho roxo, realizado por métodos antes mencionados.

**Tabela 4.1** Caracterização das sementes do milho roxo

Características	Lote	Lote	Lote	Lote	Média
	01A	02B	03C	04D	
Umidade (% base seca)	11.31	11.33	11.42	11.29	11.34
Diâmetro (cm)	9.7	10.2	11.5	11.3	10,68
PH	5.7	5.4	6.0	6.2	5.83
Carboidratos (% peso)	52.4	50.3	53.6	50.8	51.78
Teor de Fibras (% peso)	2.8	3.2	3.1	2.9	3
Minerais (% peso)	0.97	0.99	0.94	1.1	1

**Tabela 4.2** Caracterização e identificação do grupo antocianinas presentes nos extratos do milho roxo

Compostos	(%)
Cianidina	$76 \pm 3.1$
peonidina	$16.2 \pm 3.6$
Perlagonidina	$8.2 \pm 1.2$
Ácidos e derivados (malônico)	$1.7 \pm 0.5$

A Tabela 4.1 mostra a composição físico-química dos principais componentes das sementes do milho roxo. Com relação ao tamanho das sementes e percentagens de carboidratos não existe diferenças significativas comparadas ao padrão do milho amarelo da AOAC (1990). Quanto a umidade atingida de 11% em média, sabemos que este é um valor ótimo para objetivo, por que nos permite eliminar a maior quantidade de água do grão

evitando uma perda ou degradação do corante. O pH é mais ácido que algumas variedades do milho amarelo de acordo com as normas da AOAC. Entretanto, o teor de fibras é bem inferior comparado ao milho amarelo, bem como igual ao conteúdo de minerais. Cabe destacar a diferença significativa com relação à presença de óleos e gordura, onde no milho amarelo varia de 8 a 18% dependendo da variedade, já o milho roxo é insignificante o valor encontrado.

A Tabela 4.2 lista-se o teor das principais antocianinas identificadas nos extratos do milho roxo por HPLC. Foram identificadas do total dos extratos obtidos, aproximadamente 60 a 85 % do grupo antocianinas do qual o grupo de maior presença é das cianidina (70%). Cabe mencionar que a quantidade de antocianinas presentes nos extratos depende do tipo de solvente e método utilizado.

**Tabela 4.3** Mudança de cores do papel inserido em soluções tampões universais

Faixa de pH	Cor	Leitura, $\lambda$ (nm)
13	Amarelo	-
11-12	Verde	590
9-10	Azul	568-572
5-8	Lilás	547-564
1-4	Vermelho	519-535

A Tabela 4.3 observa-se que durante os ensaios da preparação do papel indicador as amostras contendo formaldeído não apresentaram variação de cor respeito aos espectros de absorção ao longo de 31 dias, mostrando boa estabilidade aumentando o comprimento de onda de absorção. Já o extrato sem formol apresentou alteração da cor durante os primeiros dias com tendência a estabilizar-se. Também foi comprovada a mudança de cores acompanhadas por espectrofotometria UV, como pode ser observado na tabela 3, onde foram utilizadas soluções tampões universais das faixas do 1-13, e tiras de papel filtro N°5. A variação de cor no papel foi observada nas faixas tanto para pH ácido como pH alcalinos conferindo com trabalhos já existentes na literatura Bernardino *et al*, (2002).



**Tabela 4.4** Concentração do pigmento antocianina na semente do milho roxo utilizando diferentes solventes.

Solventes	Antocianinas extraídas (%)	Pigmento cianidina (%)
Água deionizada	60	75
Etanol	70	65
Ciclo - hexano	45	65
Isopropanol	62	70
Éter de petróleo	55	65
Metanol	85	75
CO <sub>2</sub> Supercrítico	5	70

A tabela 4.4 lista-se as percentagens em peso de corante extraído, assim como, a quantidade do principal pigmento extraído (cianidina), que em média varia de 60% a 75% valor superior aos valores encontrados como as antocianinas da uva e na beterraba segundo a AOAC, (1990). Observa-se que o metanol é o solvente de maior poder de extração dos corantes. A exceção do ESC, a imersão e a lixiviação mostraram-se eficientes na extração, arrastando, contudo muito óleo e substâncias de pouco interesse.

#### **4.5 Conclusões**

Este trabalho mostrou que a lixiviação é o melhor método para extração das antocianinas, utilizando como solvente o metanol, devido à afinidade das ligações. Já o método de menor extração foi o supercrítico utilizando como solvente o CO<sub>2</sub>. A quantidade de cianidina presente no corante (70% em média) com valores acima dos encontrados na uva. A estabilidade apresentada durante os ensaios em meios ácidos mostra ser este um corante com grande potencial para aplicação na indústria.

#### **Agradecimentos**

Agradeço pela colaboração nesta pesquisa a faculdade de engenharia química, DESQ, da Universidade Estadual de Campinas, São Paulo, Brasil e CAPES pelo apoio financeiro.

---

#### 4.6 Referências Bibliográficas

A.O.A.C. (Association of Official Analytical Chemists). Official methods of analysis; edited by Sidney Williams. 15 ed. V.2. Washington, EUA 1990.

A.O.A.C. (Association of Official Analytical Chemists). Official methods of analysis; edited by Sidney Williams. Washington, EUA 1995.

Aoki, H., Kuze, N., Kato, Y. Food & Ingredients journal of Japan. v.208 (199) p. 400-406, 2002.

Bernardino, A. M. R., Souza N. A., Araipe D. S., Pereira A. S., Azevedo R. V. D. Antocianinas - papel indicador de pH e estudo da estabilidade da solução de repolho roxo. In: 23ª R. A. Sociedade Brasileira de Química (aceito), 2000. Poços de Caldas. Resumo da SBQ. São Paulo: SBQ, 1999.

Brack Egg, A. Diccionario Enciclopédico de las Plantas Utiles del Peru. Centro Bartolomé de las Casas. Cuzco Peru. 550 pp 1999.

Cavalcanti Mata, M. E. R., Aragão, R. F., Santana, E. F. e Silva, F. A. S. Estudo da morfologia geométrica em grãos. Revista Nordestina de Armazenamento. NTA/CCT/UFPB, Campinas Grande, nº 1, 3-30, 1986.

Dao, L. T., Takeoka, G. R., Edwards, R. H., Berrios, J. Improved method for the stabilization of anthocyanidins. J. Agricultural Food Chemistry. v. 46(9), p. 3564-3569, 1998.

Francis, F. J. Food colorants: anthocyanins. Cit. Rev. Food Science and Nutr. V. 28(4), p. 273-314, 1989.

---

Francis, F. J. A new group of food colorants. *Trends in Food Science & Technology*, Cambridge, v.3, p. 27-30, 1992.

Heinonen, I. M., Meyer, A. S., Frankel, E. N. Antioxidant activity of berry phenolics on human low-density lipoprotein and liposome oxidation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. v. 46, p. 4107-4112, 1998.

Lock, Sing, U. *Colorantes Naturales*. Primeira Edição. Pontifícia Universidade Católica de Peru, Fondo Editorial, 1997.

Mazza, G. e Brouillard, R. Color stability and structural transformations of cyanidin 3,5-diglucoside and four 3-deoxyanthocyanins in aqueous solutions, *Journal Agric. Chem.*, v.35, p.422-426, 1987.

Strack, D., Wray, V. Anthocyanins, in Harborne, J. b., *Plant phenolics*. Academic Press, London, UK, series *Methods in Plant Biochemistry*, v. 1, p. 325-355, 1993.

---

## **Apêndice**

---

## A.1 Solubilidade de óleo e corante calculada pela Equacao de Chrastil

A solubilidade, propriedade fisica, es definida como a quantidade de um soluto capaz de dissolver num determinado solvente a certas condições de temperatura e pressão. Esta propriedade esta em função da densidade do solvente já que esta é função directa da pressão e temperatura. Em geral para condições supercriticas a solubilidade aumenta com o aumento da densidade do solvente e com a temperatura.

Uma das formas de ajustar os dados experimentais da solubilidade é usar correlações empíricas. Dentro desta categoria encontra-se a Equação de Chrastil, (1982). Neste caso, como a fase leve do equilíbrio para os sistemas em estudo é pouco concentrada em soluto, pode-se considerar que as propriedades desta fase leve sejam iguais às do CO<sub>2</sub>. No caso, a propriedade de interesse é a densidade:

$$\rho_{\text{fase leve}}(T, P) \equiv \rho_{\text{CO}_2}(T, P)$$

Os valores de densidade do CO<sub>2</sub> nas diferentes condições de temperatura e pressão foram calculadas através de um programa computacional baseado em (Silva, 1999) que utiliza a equação de Huang, *et al.* (1985). Esta equação reproduz valores experimentais da IUPAC (Angus, *et al.* 1976). Cabe mencionar que a solubilidade foi calculada para o Milho Roxo e a Flor do Mariogold, porem os valores de extração do Milho Roxo, neste processo utilizando ESC e CO<sub>2</sub> como solvente Supercritico não mostrou ser o solvente mais seletivo, descartando o interes em medir a solubilidade, já na extração da Flor do Marigold foram satisfatórios.

$$S = \rho^k \exp\left(\frac{a}{T} + b\right) \quad (\text{A.1})$$

onde;

$k$ ,  $a$  e  $b$  são parâmetros determinados por ajuste da equação aos dados experimentais de solubilidade.

---

Outra maneira conveniente de se expressar a solubilidade é através da solubilidade em fração mássica  $\bar{Y}$  (kg soluto / kg solvente) =  $S(\text{kg soluto}/\text{m}^3) / \rho(\text{kg solvente}/\text{m}^3)$ .

$$\bar{Y} = \rho^{k-1} \exp\left(\frac{a}{T} + b\right) \quad (\text{A.2})$$

Primeiramente faz se o ajuste para cada isoterma.

$$S = \rho^k \exp(A) \quad (\text{A.3})$$

ou  $\ln(S) = k \cdot \ln(\rho) + A \quad (\text{A.4})$

ou  $\ln(\bar{Y}) = (k - 1) \cdot \ln(\rho) + A \quad (\text{A.5})$

Onde:

$A=(a/T+b)$  é um parâmetro dependente apenas da temperatura para cada sistema.

Fazendo-se os gráficos  $\ln(S)$  versus  $\ln(\rho)$  para determinar  $a$ ,  $b$  e determinar os parâmetros  $k$  e

$A=f(T)$ .

### A.1.2 Ajuste dos dados de Solubilidade à Equação de Chrastil

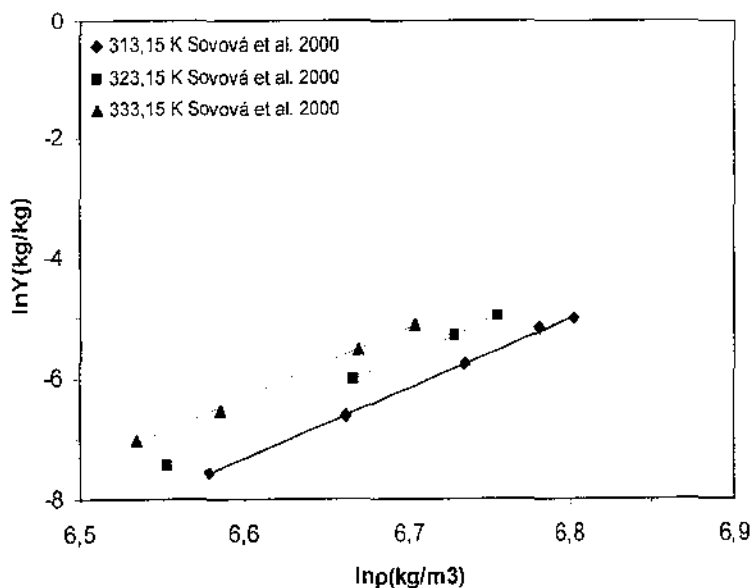
Foram construídos gráficos dos valores de solubilidade  $\bar{Y}$  (kg soluto/ kg CO<sub>2</sub>) em função da densidade  $\rho$ , em escala logarítmica A Tabela A.1 relaciona todos os ajustes obtidos para todos os sistemas na forma:

$$\ln(\bar{Y}) = (k - 1) \cdot \ln(\rho) + A \quad (\text{A.6})$$

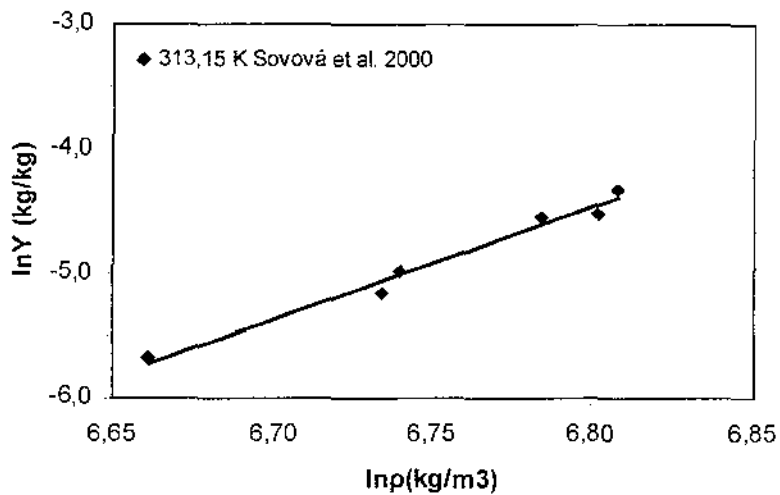
**Tabela A.1** Ajuste dos dados à equação de Chrastil

Sistema	T(K)	$\ln(\bar{Y}) = (k-1) \ln(\rho) + A$
CO <sub>2</sub> -óleo da semente de groselha	313,15	$\ln \bar{Y} = 11,4175 \ln \rho - 82,66$
	323,15	$\ln \bar{Y} = 12,0169 \ln \rho - 86,16$
	333,15	$\ln \bar{Y} = 11,4400 \ln \rho - 81,83$
CO <sub>2</sub> -óleo da semente de uva	313,15	$\ln \bar{Y} = 9,2683 \ln \rho - 67,42$
CO <sub>2</sub> -óleo de marigold	313,15	$\ln \bar{Y} = 10,1383 \ln \rho - 85,42$

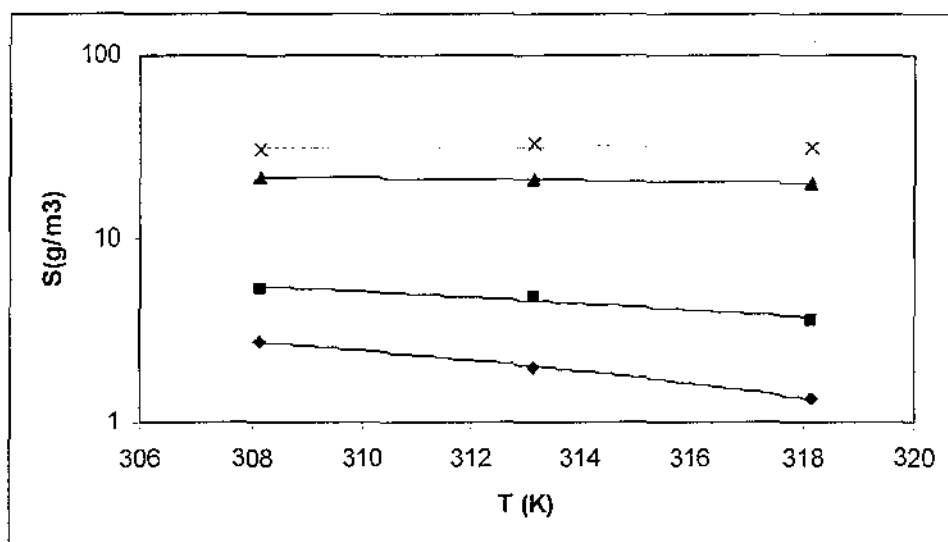
Nos sistemas estudados, o maior ou menor valor de A para cada temperatura e para cada sistema indica o grau relativo de sua solubilidade.



**Figura A.1** Ajuste do modelo aos dados experimentais da solubilidade do óleo das sementes de groselha em dióxido de carbono supercrítico.



**Figura A.2** Ajuste do modelo aos dados experimentais da solubilidade do óleo das sementes de uva em dióxido de carbono supercrítico



**Figure A.3** Solubilidade da luetina em função da temperatura a diferentes pressões; ◇ 10Mpa; ■ 15Mpa; ▲ 25Mpa e x 30Mpa



A inclinação da reta ( $k - 1$ ) para cada sistema foi ligeiramente diferente para cada temperatura, mas não foi verificada uma tendência de crescimento ou decréscimo do parâmetro  $k$  com a temperatura, e sim uma variação aleatória de valores. Os valores de  $k$  variaram ao redor de 10,6.

De acordo aos resultados obtidos, pode-se concluir que há a possibilidade de se correlacionar os parâmetros  $a$  e  $b$  da equação com grupos da molécula, mantendo o parâmetro  $k$  constante, devido a que as inclinações das curvas são praticamente similares. Sugere-se medir e construir uma base de dados suficientes (propriedades físicas) para montar um sistema capaz de prever e modelar o comportamento dos grupos moleculares de outras fontes naturais (corantes, óleos, etc). A continuação se mostra as Tabelas A.2. até a A.7 os dados de experimentais de solubilidade dos óleos extraídos com CO<sub>2</sub> supercrítico obtido por diferentes pesquisadores e de diferentes fontes naturais, com diferentes condições de pressão e temperatura.

**Tabela A.2** Solubilidade do Óleo da semente de Groselha, (Sovová, *et al.* 2000)

P(MPa)	T(K)	$\rho$ (kg/m <sup>3</sup> )	Y(g/kg)	LN Y(kg/kg)	LN $\rho$ (kg/m <sup>3</sup> )
12	313,15	718,90	0,519	-7,564	6,578
15	313,15	781,20	1,33	-6,623	6,661
20	313,15	840,60	3,02	-5,802	6,734
25	313,15	880,20	5,46	-5,210	6,780
28	313,15	899,30	6,49	-5,037	6,802
15	323,15	701,00	0,594	-7,429	6,553
20	323,15	785,10	2,38	-6,041	6,666
25	323,15	835,00	4,86	-5,327	6,727
28	323,15	857,80	6,74	-5,000	6,754
18	333,15	688,30	0,87	-7,047	6,534
20	333,15	724,50	1,46	-6,529	6,585
25	333,15	787,20	3,92	-5,542	6,668
28	333,15	814,70	5,9	-5,133	6,703

**Tabela A.3** Solubilidade do Óleo da semente de Uva, (Sovová, *et al.* 2000)

P(MPa)	T(K)	$\rho$ (kg/m <sup>3</sup> )	Y(g/kg)	LN Y(kg/kg)	LN $\rho$ (kg/m <sup>3</sup> )
15,0	313,15	781,2	3,4	-5,684	6,661
20,0	313,15	840,6	5,7	-5,167	6,734
20,5	313,15	845,2	6,9	-4,976	6,740
25,5	313,15	883,6	10,6	-4,547	6,784
28,0	313,15	899,3	11,0	-4,510	6,802
29,0	313,15	905,1	13,3	-4,320	6,808
29,0	313,15	905,1	13,2	-4,328	6,808
20,0	313,15	840,6	3,9	-5,547	6,734

**Tabela A.4** Solubilidade do Óleo da semente de Canola, (Temelli, 1992)

P(MPa)	T(K)	$\rho$ (kg/m <sup>3</sup> )	Y(g/kg)	LN Y(kg/kg)	LN $\rho$ (kg/m <sup>3</sup> )
34,23	313,15	930,98	7,272	-4,9237	6,8362
48,08	313,15	985,20	14,545	-4,2305	6,8928
62,00	313,15	1025,39	17,000	-4,0745	6,9328
34,23	328,15	876,25	9,090	-4,7006	6,7757
48,08	328,15	937,41	16,500	-4,1044	6,8431
62,50	328,15	986,84	27,000	-3,6119	6,8945
34,23	343,15	819,71	10,000	-4,6052	6,7090
48,08	343,15	896,28	22,500	-3,7942	6,7983
62,00	343,15	948,40	43,300	-3,1396	6,8548

**Tabela A.5** Solubilidade do Óleo da semente de Palma cru, (Stoldt, *et al.* 1998)

P(MPa)	T(K)	$\rho$ (kg/m <sup>3</sup> )	Y(g/kg)	LN Y(kg/kg)	LN $\rho$ (kg/m <sup>3</sup> )
20,00	343,15	658,6	2,8	-5,8781	6,4901
30,00	343,15	788,4	10,9	-4,5190	6,6700
35,00	343,15	826,2	18,4	-3,9954	6,7168
20,20	348,15	631,6	2,1	-6,1658	6,4483
30,80	348,15	774,8	11,7	-4,4482	6,6526
40,80	348,15	845,0	17,7	-4,0342	6,7393
51,20	348,15	895,7	30,3	-3,4966	6,7976
20,81	323,15	794,3	13,9	-4,2759	6,6775
20,82	333,15	736,5	7,6	-4,8796	6,6019
20,80	353,15	613,2	2,5	-5,9915	6,4187

**Tabela A.6** Solubilidade do Óleo da semente de Soja, (Stahl, *et al.* 1980)

P(MPa)	T(K)	$\rho$ (kg/m <sup>3</sup> )	Y(kg/kg)	LN Y(kg/kg)	LN $\rho$ (kg/m <sup>3</sup> )
10	313,15	629,28	0,0020	-6,2146	6,4446
15	313,15	781,64	0,0035	-5,6550	6,6614
20	313,15	840,79	0,0055	-5,2030	6,7343
25	313,15	880,16	0,0085	-4,7677	6,7801
30	313,15	910,32	0,0140	-4,2687	6,8138
35	313,15	935,04	0,0190	-3,9633	6,8406

**Tabela A.7** Solubilidade do Óleo da semente de Urucum, (Degnan, *et al.* 1991)

P(MPa)	T(K)	$\rho$ (kg/m <sup>3</sup> )	Y(g/L)	X(mol)
20,42	313,15	844,64	0,2534	1,619E-05
26,21	313,15	888,10	1,1545	7,017E-05
30,63	313,15	913,70	1,3706	8,096E-05
47,65	313,15	983,60	1,6721	9,176E-05
20,42	323,15	844,64	0,4223	2,699E-05
26,21	323,15	888,10	1,5908	9,176E-05
30,63	323,15	913,70	1,7360	1,025E-04
47,65	323,15	983,60	2,0656	1,133E-04
20,42	328,15	844,64	0,5068	3,239E-05
26,21	328,15	888,10	1,7762	1,079E-04
30,63	328,15	913,70	2,1015	1,241E-04
47,65	328,15	983,60	2,4590	1,349E-04

**A.2 Estimativa das propriedades do CO<sub>2</sub> (Densidade do CO<sub>2</sub> puro)**

O conhecimento das propriedades físicas e termodinâmicas do CO<sub>2</sub> (densidade, entalpia, entre outras), nas condições de operação (pressão e temperatura) e importante para o desenvolvimento deste processo, além da escassa informação disponível na literatura faz-se necessário estimar estas propriedades. As propriedades do CO<sub>2</sub> puro foram estimadas a partir das equações propostas por Huang, *et al.* (1985) modelados em programa desenvolvido para este fim (MCO2). Foi estimada a densidade conhecendo as propriedades críticas do CO<sub>2</sub> (T<sub>c</sub>=304,19K, P<sub>c</sub>=7,36MPa e  $\rho_c= 10,634\text{kgmol/m}^3$ ).

Cabe destacar que este programa foi baseado na modelagem desenvolvida por Silva, (1999) e com auxílio de um programa computacional foram calculadas a densidade do CO<sub>2</sub> nas condições de operação. Conhecendo a pressão e a temperatura reduzida o programa MCO2 calcula as possíveis raízes por interação e fazendo uso de uma falsa suposição. A equação A.7 permite determinar o cálculo da densidade do CO<sub>2</sub> puro, para as condições (250 a 400K e pressão até 30MPa).

$$Z = \frac{P}{\rho RT} = 1 + b_2 \rho_r + \dots + b_n \rho_r^{n+1} \exp(-C_{mi} \rho_r^2) + \dots \quad (A.7)$$

$$+ C_{mi} (\Delta \rho / \rho_r) \exp(-c_{mi+1} (\Delta \rho)^2 - C_{mi+1} (\Delta T)^2)$$

As propriedades são expressadas em condições reduzidas combinadas com as condições críticas do CO<sub>2</sub> (T= T/Tc, assim como a pressão, e a densidade vezes um Δp=1-1/ρ<sub>r</sub>). Os valores das constantes são mostrados na tabela A.2.

**Tabela A.8** Constantes C<sub>i</sub> para estimação da densidade do CO<sub>2</sub>

i	C <sub>i</sub>	i	C <sub>i</sub>
1	0,36839	9	0,21056
2	0,10993	10	0,218332
3	-3,05217	11	-0,60045
4	2,29386	12	0,022671
5	-1,25011	13	0,049896
6	0,24753	14	0,028801
7	-0,12051	15	-2,98120
8	0,69308	16	5,90180

### A.2.1 Programa

A continuação mostra-se o programa desenvolvido (MCO2) para calcular a densidade do CO<sub>2</sub> puro, também pode ser utilizado para estimar outras propriedades termodinâmicas (entalpia, entropia, entre outras).

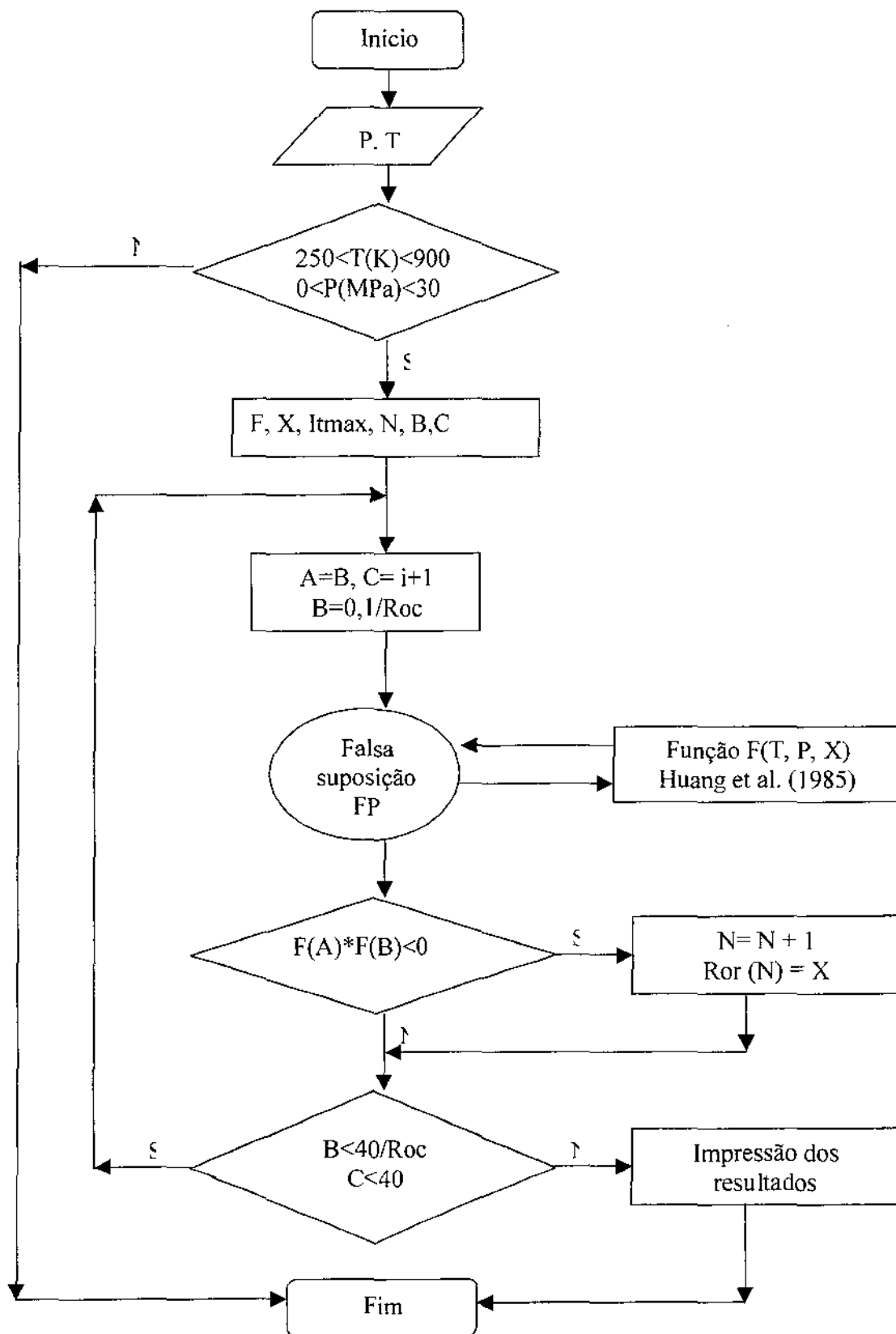


Figura A.4 Fluxograma do MCO2 para estimativa da densidade do CO<sub>2</sub>