

## Extração do óleo de manjeriço usando fluido supercrítico: análise experimental e matemática

### Basil oil extraction using supercritical fluid: experimental and mathematical analysis

Nídia Alves de Barros<sup>I</sup> André von Randow de Assis<sup>II</sup> Marisa Fernandes Mendes<sup>III</sup>

#### RESUMO

O óleo essencial de manjeriço (*Ocimum basilicum* L.) é valorizado no mercado internacional e amplamente usado nas indústrias de condimentos, cosméticos e medicinais. Entre todos os processos que podem ser aplicados na obtenção do óleo, a extração usando fluido supercrítico (EFS) pode ser um método seletivo e eficiente, dependendo das condições operacionais, como temperatura e pressão, que precisam ser otimizadas. O objetivo deste estudo foi comparar a eficiência da extração supercrítica, utilizando planejamento experimental, na extração do óleo de manjeriço com os métodos convencionais (hidrodestilação e soxhlet). Para a realização da parte experimental, foi utilizado dióxido de carbono como solvente para a EFS e hexano, para aplicação no soxhlet. Foi realizado um delineamento central composto rotacional (DCCR), aplicando três pressões (100, 200 e 300 bar) e três temperaturas (30, 40 e 50°C). Através da hidrodestilação, obteve-se o menor rendimento (0,26%), usando o Soxhlet, o rendimento foi de 2,39% sendo superior, comparado à EFS, que foi de 0,43%. O DCCR mostrou que, para otimizar o processo, é necessário aumentar a pressão e a temperatura para o alcance de maiores rendimentos. Foi possível constatar que o modelo matemático representou bem o processo de extração, propiciando o "scale-up" deste.

**Palavras-chave:** óleo essencial, extração supercrítica, planejamento experimental.

#### ABSTRACT

The essential basil (*Ocimum basilicum*) oil has been valued in the international market and widely used in industries of condiments, medicines and cosmetics. Among all the processes that can be applied to extract the oil, supercritical fluid extraction (SFE) can be an efficient and selective one, depending on the operational conditions like temperature and pressure. The aim of study was to

compare the supercritical extraction method, using an experimental planning, with conventional extractions methods as hydrodistillation and soxhlet. It was used carbon dioxide as solvent in the SFE, and hexane for the soxhlet extraction. A central composite rotational design (CCRD) was applied varying three pressures (100, 200 and 300 bar) and three temperatures (30, 40 and 50 °C). The yield using soxhlet was the highest (2.39%), followed by SFE (0.43%) and hydrodistillation with 0.26%. The CCRD showed that to optimize the process, it is necessary to raise the temperature and pressure in order to achieve higher yields. It could be concluded that the mathematical modeling well represented the extraction process, making the scale-up a possible alternative.

**Key words:** essential oil, supercritical extraction, experimental planning.

#### INTRODUÇÃO

Entre as ervas aromáticas, o manjeriço (*Ocimum basilicum* L.) possui importância econômica no Brasil, devido ao seu consumo *in natura* e em processamento industrial. O óleo essencial é valorizado no mercado internacional e amplamente usado nas indústrias de condimentos, cosméticos e medicinais (CARVALHO FILHO et al., 2006).

Essa importância deve-se à presença de substâncias específicas tais como estragol, lineol, linalol, eugenol, metil cinamato, limoneno, geraniol, calareno e chavicol (SIFOLA & BARBIERI, 2006). Entretanto, estas moléculas são extremamente

<sup>I</sup>Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), Seropédica, RJ, Brasil.

<sup>II</sup>Departamento de Tecnologia de Alimentos (DTA), Instituto de Tecnologia (IT), UFRRJ, Seropédica, RJ, Brasil.

<sup>III</sup>Departamento de Engenharia Química (DEQ), IT, UFRRJ, BR 465, km 7, 23890-000, Seropédica, RJ, Brasil. E-mail: nidiabara@bol.com.br. Autor para correspondência.

sensíveis ao calor, podendo ocorrer perdas de alguns compostos voláteis, dependendo do método utilizado no processo de extração, resultando em baixo rendimento devido à degradação de compostos insaturados ou ésteres provenientes de efeitos térmicos ou hidrolíticos (LUCCHESI et al., 2004).

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

A otimização das condições operacionais, como temperatura e pressão, envolve alta taxa de transferência de massa, que somado ao aumento da densidade do CO<sub>2</sub>, faz da EFS uma boa alternativa na extração, de modo que ela é altamente seletiva na obtenção de componentes de alto valor agregado (SILVA et al., 2004).

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

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

Os procedimentos de extração supercrítica em escala piloto são utilizados basicamente no desenvolvimento de processo, visando ao *scale-up* para processos industriais e também na produção de extratos de elevado valor agregado e que são produzidos em menores volumes. Dentre as aplicações mais utilizadas, destacam-se as extrações de substâncias aromáticas e fragrâncias de alto valor agregado. Tendo em vista a finalidade da realização do processo, o objetivo deste estudo foi comparar a eficiência da EFS na extração de óleo de manjeriço com os métodos convencionais (hidrodestilação

e soxhlet), aplicando um delineamento composto central rotacional (DCCR).

## MATERIAL E MÉTODOS

### Material

A matéria-prima utilizada foi o manjeriço (*Ocimum basilicum* L.), adquirida no CEASA-RJ, no mês de agosto de 2012, vindo da região serrana de Teresópolis-RJ. O dióxido de carbono (White Martins S.A, Rio de Janeiro) tinha 99,995% de pureza mínima e o hexano foi oriundo da Vetec Química Fina (Rio de Janeiro-Brasil).

### Procedimento experimental

#### Preparo da matéria-prima

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

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

#### Extração do óleo usando metodologia convencional

##### Processo de extração utilizando Soxhlet

Utilizando o Soxhlet, com objetivo de determinar o percentual de óleo inicial existente na matéria-prima, 5g de folhas de manjeriço foram colocados em um cartucho de celulose e alimentados em um extrator. Em um balão de 250 mL, adicionaram-se 200 mL de hexano, que foi aquecido por uma manta (Fisatom, modelo 702), permanecendo sob refluxo contínuo. Nesta fase, ocorreu a evaporação do solvente, condensando-se sobre o material sólido, e em seguida a este processo, os solutos foram concentrados no balão. Após a destilação, os produtos foram direcionados para um evaporador rotativo (Fisatom, modelo 804), sendo necessária a utilização de uma bomba de vácuo (Fisatom, modelo 424237) para finalizar o processo de eliminação do solvente. O tempo de extração foi de 4 horas.

O cálculo do rendimento foi feito utilizando a equação 1:

$$\text{Óleo extraído (g)} = \frac{\text{Óleo extraído} \times 100}{\text{Massa alimentada}} = \frac{\text{Óleo}}{100} \quad (1)$$

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

#### Processo de extração por hidrodestilação

Na extração por hidrodestilação, usaram-se 300mL de água destilada e 30g do manjeriço foram alimentados a um balão de destilação de fundo redondo de 500ml, através do aparelho Clevenger. A mistura a ser destilada foi aquecida em uma manta (Classe 300-1000mL - modelo 102 e 102 E) durante 4 horas de extração. Após este período foram adicionados 10 mL de hexano para a formação de duas fases distintas: uma contendo água e impurezas e a outra hexano e componentes orgânicos, o extrato foi colocado em um funil de separação de 100mL. Acrescentou-se sulfato de sódio ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) na amostra recolhida, garantindo assim a retirada da água e outras impurezas. Realizada a filtração para eliminação da água, solvente e soluto foram separados através de rotaevaporador (Fisatom, modelo 804), para a eliminação do hexano, obtendo-se o extrato livre do solvente. O cálculo do rendimento foi feito utilizando a equação 1.

#### Extração do óleo usando FSC

##### Extração do óleo usando metodologia não convencional

Para a realização deste trabalho, foi usada uma unidade de extração com fluido supercrítico, em que foram estudados os rendimentos globais e a cinética de extração. A unidade está montada no Laboratório de Termodinâmica Aplicada e Biocombustíveis, no Departamento de Engenharia Química (DEQ/UFRRJ), composto por um extrator de aço inoxidável 316S de 42 mL de volume com telas de 260 mesh no topo e no fundo para evitar a passagem de qualquer material, evitando o entupimento da linha. O extrator é acoplado a um banho termostático (marca Haake, modelo K15, Brasil) para o monitoramento e controle da temperatura da extração. Uma bomba de alta pressão (Palm Tecnologia em Alta pressão, modelo G100, Brasil), específica para bombeamento de  $\text{CO}_2$ , é responsável pela alimentação do solvente. Um manômetro é responsável pela medida da pressão durante todo o experimento.

As extrações foram realizadas com, aproximadamente, 4,5 g de matéria-prima. As amostras e os tubos coletores foram pesados em balança digital analítica (marca: Gehaka, modelo: AG 200,  $e = \pm 0,0001\text{g}$ ). O tempo estático de extração teve

uma duração de 20 minutos. O extrato de manjeriço era coletado nos frascos, pesado em intervalos de tempo de 10 minutos para fazer o cálculo da massa do extrato obtido. O tempo de extração foi de quatro horas, a vazão de dióxido de carbono foi mantida em torno de  $16,4\text{mL min}^{-1}$  para as condições empregadas e os intervalos de temperatura ficaram na faixa de 30 a 50 °C e pressões entre 100 e 300 bar. A escolha das condições empregadas foi com base em dados contidos na literatura.

O rendimento foi calculado como a razão entre o óleo extraído e a massa alimentada, utilizando a Equação 2:

$$e (\%) = \frac{\text{Massa de óleo extraída}}{\text{Massa alimentada} - \text{massa de óleo inicial}} \times 100 \quad (2)$$

Em que:

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

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

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

#### Planejamento experimental

O estudo da extração do óleo essencial de manjeriço foi realizado utilizando um DCCR 2<sup>2</sup> com duas variáveis, três pontos centrais, mais quatro pontos axiais, totalizando onze ensaios, ao nível de significância de 95%. As variáveis selecionadas foram temperatura e pressão, representadas por  $X_1$  e  $X_2$ , variáveis codificadas adimensionais. A tabela 1 correlaciona os valores codificados e reais de cada variável. Três repetições

Tabela 1 - Níveis codificados e reais das variáveis para os ensaios.

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

no ponto central da concepção foram realizadas para permitir a estimativa do erro puro (Ensaio 9, 10 e 11).

Com o objetivo de investigar o efeito das duas variáveis sobre o rendimento da massa extraída do extrato de manjerição, foi usado o cálculo do ANOVA, em nível de 5% de significância.

Modelagem matemática do processo de extração usando FSC

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

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

Com o valor de  $e_{lim}$ , conhecido a partir da extração convencional através do método Soxhlet, obteve-se o percentual de óleo existente na amostra analisada de acordo a Equação (3)

$$e = elim \left( \frac{t}{b + t} \right) \quad (3)$$

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

O desvio relativo médio (DRM %) foi calculado através da Equação 3, sendo DRM o desvio relativo médio e  $N_{exp}$  é o número de ponto experimentais utilizados.

$$DRM \% = \frac{100}{N_{exp}} \sum \left( \frac{(e_{experimental}) - (e_{calculado})}{(e_{experimental})} \right) \quad (3)$$

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A tabela 2 apresenta os resultados de rendimento obtidos na extração com fluido supercrítico.

Tabela 2 - Rendimentos obtidos da extração do óleo do manjerição, utilizando fluido supercrítico, em diferentes condições de temperatura e pressão.

Experimento	T (°C)	P (bar)	e (%)
1	33	129	0,34
2	47	129	0,38
3	33	271	0,43
4	47	271	0,32
5	30	200	0,41
6	50	200	0,43
7	40	100	0,38
8	40	300	0,37
9	40	200	0,43
10	40	200	0,43
11	40	200	0,38
Desvio padrão	-	-	0,038

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

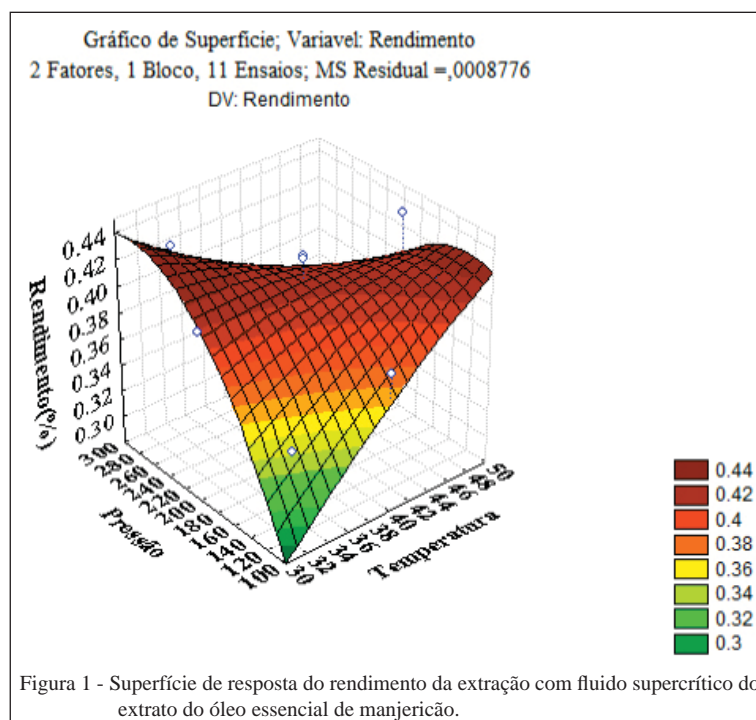
Levando em consideração apenas as condições empregadas, CONDORI (2005), em seu estudo, também obteve o rendimento máximo do óleo essencial de manjerição (*Ocinum Selloi*) a 200 bar e 40 °C, mesma condição operacional observada neste trabalho.

Com base nos resultados do DCCR 2<sup>2</sup>, dados obtidos com o coeficiente de regressão e desvio padrão, referente à variável de resposta para o rendimento de óleo, verificou-se que estatisticamente, apenas a média obtida e a interação entre as duas variáveis ( $X_1$  L e  $X_2$  L) apresentaram valores consideráveis ao nível de significância de 95% ( $P < 0,05$ ).

A figura 1 determina as regiões de temperatura e pressão em que ocorre a máxima extração do óleo essencial de manjerição. Verificaram-se, através da análise, duas regiões de provável otimização. A primeira encontra-se na faixa de temperatura de 30 a 33 °C e pressão de 271 a 300 bar. Isso implica considerar que, sob condições de baixas temperaturas e elevadas pressões consegue-se um bom resultado na extração do óleo essencial de manjerição; além disso, baixas temperaturas preservam a presença dos compostos aromáticos nos extratos.

A segunda região está na faixa de 45 a 50°C e 100 a 129 bar. Para estas condições térmicas, a densidade do solvente aumenta à medida que a temperatura aumenta, resultando em um aumento no poder de solvatação do CO<sub>2</sub> e, conseqüentemente, no maior rendimento global (STAHL et al., 1988).

Verificou-se, nesta análise, que, para tornar ótimo o processo de extração e, conseqüentemente, aumentar o rendimento, é necessário combinar baixas temperaturas com elevadas pressões ou elevadas



temperaturas com baixas pressões. MENAKERA et al. (2004) mencionaram em seu estudo com manjeriço que as melhores condições de temperatura de extração com CO<sub>2</sub> em estado supercrítico varia de 40 a 50°C a 100 bar, como corroboram os resultados encontrados.

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

Na extração com CO<sub>2</sub>-SC, o controle das condições operacionais pode proporcionar um menor rendimento, porém uma maior seletividade em

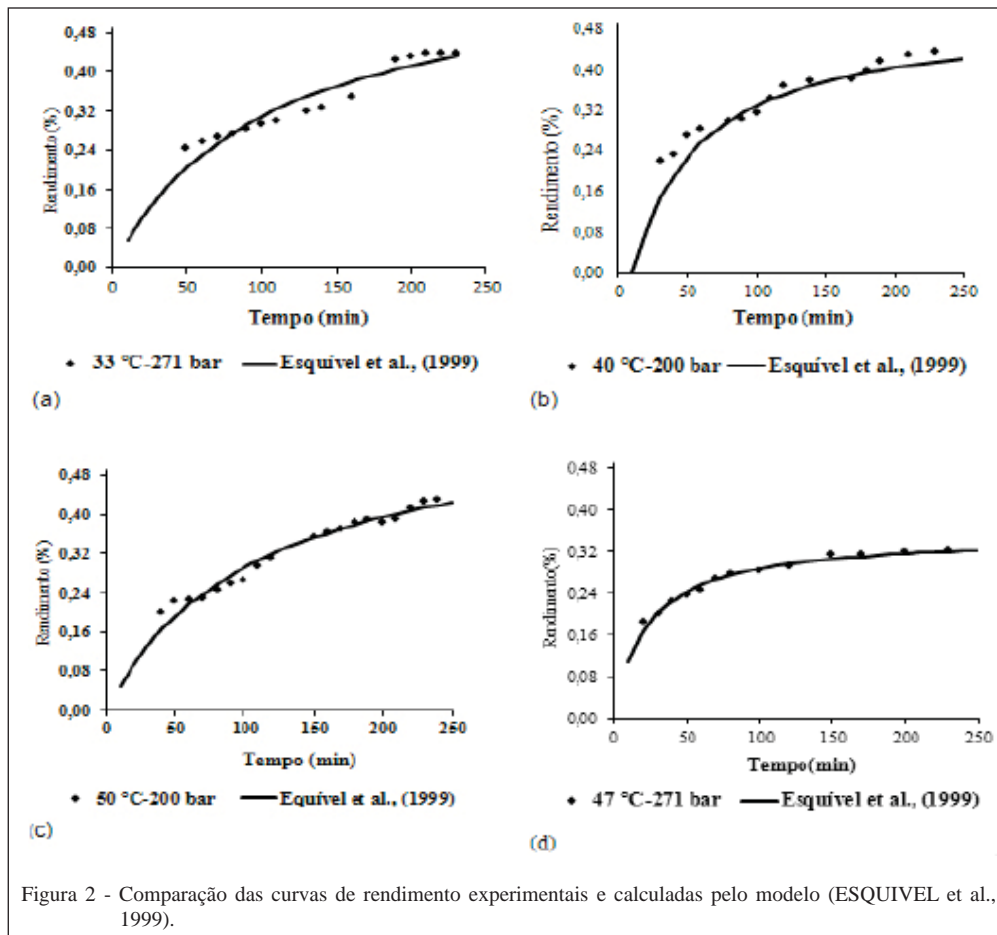
relação aos compostos extraídos. Este comportamento também foi observado por CONDORI (2005), na extração do óleo de *Artemisia annua*, através dos mesmos métodos de extração. Obteve-se um menor rendimento na hidrodestilação (0,49%), 5,27% com CO<sub>2</sub>-SC e 7,28% utilizando Soxhlet.

Na tabela 3 estão os valores dos parâmetros do modelo que foram ajustados às curvas globais de extração, assim como o desvio relativo médio para todos os experimentos. Observa-se que o modelo representou bem os dados experimentais de extração, devido aos baixos valores dos desvios relativos. A 271 bar, o valor do elim diminuiu com o aumento da temperatura, devido ao próprio comportamento experimental do rendimento. Já a 200 bar, o valor do parâmetro aumentou com a elevação da temperatura, fortalecendo o comportamento do aumento da pressão de vapor do soluto a 50 °C.

As curvas de extração da figura 2 apresentam as comparações dos dados experimentais

Tabela 3 - Parâmetros do modelo proposto por ESQUIVEL et al. (1999) e percentuais dos desvios médios obtidos com a modelagem.

Condições de processo	$e_{lim}$	b	DRM (%)
33 °C e 271 bar	0,6233	102,93	0,063
47 °C e 271 bar	0,3507	21,43	0,021
40 °C e 200 bar	0,5075	49,07	0,043
50 °C e 200 bar	0,6078	108,29	0,044



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

## CONCLUSÃO

A utilização do DCCR no processo de extração do óleo essencial de manjeriço utilizando fluido supercrítico apresentou eficiência evidenciando

que é possível otimizar o processo de extração. O maior rendimento foi obtido através da extração por Soxhlet (2,39%) seguido do SC-CO<sub>2</sub> (0,43%). As diferenças no controle das condições operacionais contribuíram para este rendimento. A modelagem matemática mostrou que o modelo aplicado neste estudo representou bem os dados experimentais, podendo ser aplicado para um futuro “scale-up” da planta de extração.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem todo o suporte financeiro fornecido pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ) e Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

## REFERÊNCIAS

BIMAKR, M. et al. Supercritical carbon dioxide (Sc-Co<sub>2</sub>) extraction of bioactive flavonoid compounds from spearmint (*Mentha Spicata* L.) leaves. *European Journal of Scientific Research*, v.33, n.4, p.679-690, 2009. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960308510000325>>. Acesso em: 05 nov. 2011.

- CARVALHO FILHO, J.L.S. et al. Influence of the harvesting time, temperature and drying period on basil (*Ocimum basilicum* L.) essential oil. **Revista Brasileira de Farmacognosia Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v.16, p.24-30, 2006. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rbfar/v16n1/a06v16n1.pdf>>. Acesso em: 15 mar. 2011.
- CARVALHO JUNIOR, R.N. et al. Supercritical fluid extraction from Rosemary (*Rosmarinus officinalis*): kinetic data, extract's global yield, composition, and antioxidant activity. **Journal of Supercritical Fluids**, v.35, p.197-204, 2005. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0896844605000288>>. Acesso em: 15 mar. 2011.
- CONDORI, Q. Determination of process parameters at different stages of supercritical extraction of natural products: *Artemisia annua*, *Cordia verbenacea*, *Ocimum selloi* and *Foeniculum vulgare*. **Journal of Supercritical Fluids**, v.36, p.40-48, 2005. Disponível em: <<http://www.bibliotecadigital.unicamp.br/document/?code=vtls000358914>>. Acesso em: 02 jul. 2012.
- ESQUÍVEL, M.M. et al. Mathematical models for supercritical extraction of olive husk oil. **Journal of Supercritical Fluids**, v.16, p.43, 1999. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0896844699000145>>. Acesso em: 15 mar. 2011.
- LEMOS, F.M. da R. **Elaboração e caracterização de produto análogo a hambúrguer de cogumelo *Agaricus brasiliensis***. 2009, p.147. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) Curso de Pós-graduação em Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR.
- LUCCHESI, M.E. et al. Solvent-free microwave extraction of essential oil from aromatic herbs: comparison with conventional hydro-distillation. **Journal of Chromatography A**, v.1043, p.323-327, 2004. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0021967304008672>>. Acesso em: 28 out. 2012.
- MENAKERA, A. et al. Identification and characterization of supercritical fluid extracts from herbs. **Comptes Rendus Chimie**, v.7, p.629-633, 2004.
- SIFOLA, M.I.; BARBIERI, G.G. Yield and essential oil content of three cultivars of basil grown under different levels of nitrogen in the field. **Scientia Horticulturae**, v.108, p.408-413, 2006. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304423806000781>>. Acesso em: 09 jul. 2012.
- SILVA, C.F. **Modelos matemáticos para o processo de transporte de massa na extração de produtos naturais de matrizes sólidas utilizando CO<sub>2</sub> supercrítico**: estudo experimental e teórico. 2006, 103p. Dissertação (Mestrado dos Alimentos) Curso de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ.
- SILVA, M.G.V. et al. Composition of essential oils from three *Ocimum* species obtained by steam and microwave distillation and supercritical CO<sub>2</sub> extraction. **ARKIVOC**, v.6, p.66-71, 2004. Disponível em: <<http://www.arkat-usa.org/get-file/19788/&lt;a&gt>>. Acesso em: 15 fev. 2012.
- STAHL, E. et al. **Dense gases for extraction and refining**. Berlin: Springer-Verlag, 1988, p.237.