

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
DEPARTAMENTO ACADÊMICO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

MICHELLE FERNANDA FAITA RODRIGUES

AVALIAÇÃO DE TECNOLOGIAS AMBIENTALMENTE
SUSTENTÁVEIS PARA EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS

TESE

PATO BRANCO

2018

MICHELLE FERNANDA FAITA RODRIGUES

**AVALIAÇÃO DE TECNOLOGIAS AMBIENTALMENTE
SUSTENTÁVEIS PARA EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Pato Branco, como requisito parcial à obtenção do título de Doutora em Agronomia - Área de Concentração: Produção Vegetal.

Orientador: Prof. Dr. José Abramo Marchese

Coorientadores: Prof^a. Dr^a. Mary Ann Foglio

Prof^a. Dr^a. Maria Angela de Almeida Meireles Petenate

PATO BRANCO

2018

R696a

Rodrigues, Michele Fernanda Faita.

Avaliação de tecnologias ambientalmente sustentáveis para extração de compostos bioativos / Michele Fernanda Faita Rodrigues. -- 2018.
115 f. : il. ; 30 cm.

Orientador: Prof. Dr. José Abramo Marchese

Coorientadora: Profa. Dra. Mary Ann Foglio

Coorientadora: Profa. Dra. Maria Angela de Almeida Meireles Petenate

Tese (Doutorado) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Programa de Pós-Graduação em Agronomia. Pato Branco, PR, 2018.

Bibliografia: f. 73 - 98.

1. Dióxido de carbono. 2. Maceração. 3. Destilação. 4. Compostos bioativos das plantas. I. Marchese, José Abramo, orient. II. Foglio, Mary Ann, coorient. III. Petenate, Maria Angela de Almeida Meireles, coorient. IV. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Programa de Pós-Graduação em Agronomia. V. Título.

CDD (22. ed.) 630

Ficha Catalográfica elaborada por
Suélem Belmudes Cardoso CRB9/1630
Biblioteca da UTFPR Campus Pato Branco



Ministério da Educação
Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Câmpus Pato Branco
Diretoria de Pesquisa e Pós-Graduação
Programa de Pós-Graduação em Agronomia



TERMO DE APROVAÇÃO

Título da Tese n° 36

AVALIAÇÃO DE TECNOLOGIAS AMBIENTALMENTE SUSTENTÁVEIS PARA EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS

por

MICHELLE FERNANDA FAITA RODRIGUES

Tese apresentada às 8 horas 30 min. do dia 15 de Março de 2018 como requisito parcial para obtenção do título de DOUTORA EM AGRONOMIA, Linha de Pesquisa – Sistemas de Produção Vegetal, Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Área de Concentração: Produção vegetal) da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Pato Branco. A candidata foi arguida pela Banca Examinadora composta pelos membros abaixo designados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho APROVADO.

Banca examinadora:

Prof. Dr. José Donizetti de Lima
UTFPR

Prof. Dra. Sirlei Dias Teixeira
UTFPR

Dra. Maria das Dores Dutra Behrens
Fiocruz

Prof. Dra. Marcia Ortiz Mayo Marques
IAC

Prof. Dr. José Abramo Marchese
Orientador

Prof. Dr. Moeses Danner
Coordenador do PPGA

“O Termo de Aprovação, devidamente assinado, encontra-se arquivado na Coordenação do Programa”

Dedico esta tese as pessoas boas e solidárias, pois o mundo precisa de gente que se preocupa com o próximo!

Dedico

AGRADECIMENTOS

Agradeço em primeiro lugar a Deus que sempre esteve comigo e iluminou o caminho durante a jornada de trabalho.

À minha família que é minha base e sempre me deu o suporte necessário para atingir meus objetivos.

Ao meu marido e à filha amados, que sempre me apoiaram, tiveram paciência e compreenderam os momentos em que precisei estar ausente.

Ao orientador Dr. José Abramo Marchese pela orientação e oportunidade em crescimento pessoal e profissional.

Às coorientadoras Dr^a. Mary Ann Foglio e Dr^a. Maria Angela de Almeida Meireles Petenate pela orientação, contribuição e aprendizado ao longo da realização deste trabalho.

Às pesquisadoras da Faculdade de Engenharia de Alimentos - Unicamp, Dr^a. Renata Vardanega e Dr^a. Gislaíne C. Faria, e M^a. Ilza Maria de Oliveira Sousa CPQBA/FCF - Unicamp pelo excelente auxílio na condução do trabalho.

Aos meus colegas de doutorado, alunos de iniciação científica e aos amigos encontrados ao longo do caminho, pela parceria e suporte.

Aos professores do programa de Pós-Graduação em Agronomia da UTFPR pelos conhecimentos passados, fundamentais para a execução do trabalho.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES pela bolsa estudantil de auxílio financeiro, essencial para a execução do trabalho.

À UNICAMP que através da FEA, CPQBA e FCF possibilitaram acesso as tecnologias necessárias para a execução do trabalho.

Às Professoras Dr^a. Anelise Tessari Perboni e Dr^a. Sirlei Dias Teixeira pelas participações e contribuições na Banca do Exame de Qualificação.

Aos professores Dr. José Donizetti de Lima e Dr^a. Sirlei Dias Teixeira pela participação na banca de avaliação de tese, e pela contribuição de ambos no desenvolvimento do trabalho.

Às convidadas externas Dr^a. Maria das Dores Dutra Behrens e Prof^a. Dr^a. Marcia Ortiz pela participação na banca de defesa de tese.

E agradeço a todos que, de maneira direta ou indireta, contribuíram e fizeram parte desta fase de grande crescimento pessoal e profissional.

“O sucesso nasce do querer, da determinação e persistência em se chegar a um objetivo. Mesmo não atingindo o alvo, quem busca e vence obstáculos, no mínimo fará coisas admiráveis.”

José de Alencar

RESUMO

RODRIGUES, Michelle F.F. AVALIAÇÃO DE TECNOLOGIAS AMBIENTALMENTE SUSTENTÁVEIS PARA EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS. 115 f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Área de Concentração: Produção vegetal), Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Pato Branco, 2018.

Extratos, óleos essenciais e compostos químicos isolados de origem vegetal têm sido cada vez mais utilizados, não só como matéria-prima para indústrias de diversos ramos, mas também como alternativa no tratamento de problemas da saúde pela população em geral. Considerando a expressiva importância de produção destas substâncias com qualidade elevada e preço acessível, o presente trabalho teve como objetivo a análise técnica e econômica na obtenção de compostos bioativos a partir das espécies vegetais *Artemisia annua* e *Varronia curassavica*. Visando selecionar e testar três tecnologias de extração ambientalmente sustentáveis, dióxido de carbono supercrítico, maceração a frio com o solvente etanol e destilação com arraste a vapor, um protocolo de alto rendimento e baixo custo para obtenção de compostos bioativos de plantas foi proposto. Para a extração com dióxido de carbono supercrítico foi realizada a investigação da influência da temperatura, pressão e volume de co-solvente (etanol) no rendimento de extração e pureza dos extratos. Três experimentos com delineamento inteiramente casualizado em arranjo fatorial foram realizados. Para o experimento com *A. annua* foram testadas 3 temperaturas (40/50/60 °C), 3 pressões (200/250/300 bar) e 3 níveis de co-solvente (0/15/25%); e para *V. curassavica* 2 temperaturas (40/60 °C), 5 pressões (100/150/200/250/300 bar) e extração fracionada. As extrações com destilação por arraste a vapor foram conduzidas à pressão ambiente por 3 - 4 h. E a maceração a frio com etanol foi realizada em série, a pressão ambiente por 6 h, condições estas as ótimas referenciadas. Ao fim dos experimentos os rendimentos e pureza dos extratos e óleo essencial foram comparados e utilizados para a implementação de indústrias de produção de biocompostos utilizando as tecnologias testadas. Por meio de pesquisa de custos envolvidos na implementação do projeto, uso de planilhas no Microsoft Office Excel, do Software SuperPro Designer® e do Aplicativo Web \$AVEPI, foi possível estimar os Custos de Produção e Manutenção, Capital Fixo Direto, e, na sequência simular computacionalmente os cenários econômicos, gerando os indicadores de viabilidade e riscos de implantação das indústrias de extração de artemisinina à partir de *A. annua*, e óleo essencial à partir de *V. curassavica*. Observou-se que a extração de artemisinina com dióxido de carbono supercrítico obteve menores rendimentos de extrato que a extração com etanol, porém com maior pureza do composto alvo e custos menores de produção. Na produção de óleo essencial de *V. curassavica* a extração com dióxido de carbono supercrítico alcançou os mesmos rendimentos e pureza obtidos por destilação com arraste a vapor. No cenário estudado os custos de operação e manutenção da produção de extratos com etanol, dióxido de carbono supercrítico, para *A. annua*, e dióxido de carbono supercrítico para *V. curassavica*, revelaram ser maiores que o preço de revenda dos extratos. Para a planta *A. annua* tais resultados foram atribuídos aos altos custos da matéria-prima, e para *V. curassavica* aos baixos rendimentos de extrato. O projeto de investimento utilizando destilação com arraste a vapor para obtenção de óleo essencial de *V. curassavica* mostrou ser promissor devido à alta rentabilidade e baixo risco associado nos cenários previstos.

Palavras-chave: *A. annua*. *V. curassavica*. Dióxido de carbono supercrítico. Maceração a frio com Etanol. Destilação com arraste a vapor. Avaliação econômica.

ABSTRACT

RODRIGUES, Michelle F.F. EVALUATION OF ENVIRONMENTALLY SUSTAINABLE TECHNOLOGIES FOR BIOACTIVE COMPOUNDS EXTRACTION. 115 p. Thesis (Doctor in Agronomy) – Graduate Program in Agronomy (Concentration Area: Plant production) Federal Technological University of Paraná. Pato Branco, 2018.

Extracts, essential oils and isolated chemical compounds of vegetable origin have been increasingly used, not only as raw material for industries of different branches, but also as an alternative in the treatment of health problems by the population in general. Considering the expressive importance of producing these substances with high quality and affordable price, the present work had the objective of the technical and economic analysis in obtaining bioactive compounds from the plant species *Artemisia annua* and *Varronia curassavica*. Aiming to select and test three environmentally sustainable extraction technologies, supercritical carbon dioxide, cold maceration with the ethanol and steam distillation, a protocol of high yield and low cost to obtain bioactive compounds of plants was proposed. For the supercritical carbon dioxide extraction, the influence of temperature, pressure and volume of cosolvent (ethanol) on the extraction yield and purity of the extracts was investigated. Three experiments with a completely randomized design in factorial arrangement were performed. For the *A. annua*, three temperatures (40/50/60 °C), 3 pressures (200/250/300 bar) and 3 levels of cosolvents (0/15/25%) were tested; and for *V. curassavica* 2 temperatures (40/60 °C), 5 pressures (100/150/200/250/300 bar) and fractional extraction. The extractions with steam distillation were conducted at ambient pressure for 3 - 4 h, and cold maceration with ethanol was carried out in series, at ambient pressure for 6 h, conditions being the best referenced. At the end of the experiments the yields and purity of the extracts and essential oil were compared and used for the implementation of industries of biocomposites production using the technologies tested. Through the research of costs involved in the project implementation and the use of spreadsheets in Microsoft Office Excel, it was calculated the Costs of Production and Maintenance and Direct Fixed Capital; on the sequence, using the Software SuperPro Designer® and the Web Application \$AVEPI, the computational simulations were conducted generating the economic indicators on the feasibility and risks of implantation of the industries of extraction of artemisinin from *A. annua*, and essential oil from *V. curassavica*. It was observed that the extraction of artemisinin with supercritical carbon dioxide obtained lower yields of extract than the extraction with ethanol, but with higher purity of the target compound and lower costs of production. In the production of essential oil of *V. curassavica* the extraction with supercritical carbon dioxide reached the same yields and purity obtained by steam distillation. In the scenario studied the costs of operation and maintenance of the production of extracts with ethanol, supercritical carbon dioxide for *A. annua*, and supercritical carbon dioxide for *V. curassavica*, were shown to be greater than the revenue price of the extracts. For the *A. annua* plant, these results were attributed to the high costs of the raw material, and to *V. curassavica* the low yields of the extract. The investment project using steam distillation for the obtaining of *V. curassavica* essential oil showed to be promising due to the high profitability and low risk associated in the expected scenarios.

Keywords: *A. annua*. *V. curassavica*. Supercritical carbon dioxide. Ethanol extraction. Steam distillation. Economic assessment.

LISTA DE TABELAS

<i>Tabela 1 - Condições operacionais para as extrações dos diferentes sistemas usando dióxido de carbono pressurizado. UTFPR Câmpus Pato Branco, 2017.</i>	32
<i>Tabela 2 - Parâmetros principais adotados para simulação do processo de extração de artemisinina com dióxido de carbono supercrítico e convencional com etanol. UTFPR Câmpus Pato Branco, 2017.</i>	36
<i>Tabela 3 - Base de custo para os equipamentos que compõem a planta de extração com fluido supercrítico. UTFPR Câmpus Pato Branco, 2017.</i>	39
<i>Tabela 4- Principais dados de entrada para a análise econômica. UTFPR Câmpus Pato Branco, 2017.</i>	40
<i>Tabela 5 - Principais parâmetros adotados para simulação do processo de extração de óleo essencial de <i>V. curassavica</i> com dióxido de carbono supercrítico e convencional por destilação com arraste a vapor. UTFPR Câmpus Pato Branco, 2017.</i>	42
<i>Tabela 6 - Principais dados de entrada para a análise econômica da produção agrícola de erva baleeira por hectare. UTFPR Câmpus Pato Branco, 2017.</i>	44
<i>Tabela 7 - Principais dados de entrada para a análise econômica de extração por dióxido de carbono supercrítico e destilação por arraste a vapor. UTFPR Câmpus Pato Branco, 2017.</i>	45
<i>Tabela 8 – Caracterização do Material Vegetal. UTFPR Câmpus Pato Branco, 2017.</i>	46
<i>Tabela 9 - Composição química do óleo essencial de <i>A. annua</i> extraído por destilação com arraste a vapor. CPQBA/UNICAMP Campinas, 2017.</i>	47
<i>Tabela 10 – Avaliação do rendimento global de extração, concentração de artemisinina no extrato e conteúdo de artemisinina na folha de <i>A. annua</i>, obtidos em diferentes condições de extração com dióxido de carbono supercrítico e com o solvente etanol. LASEFI/FEA/UNICAMP Campinas, 2016.</i>	50
<i>Tabela 11 - Composição química do óleo essencial de <i>V. curassavica</i> – Lote 1 obtido por destilação com arraste. CPQBA/UNICAMP Campinas, 2017.</i>	52
<i>Tabela 12 – Índices de projeto do processo de extração de artemisinina com dióxido de carbono supercrítico e convencional com Etanol. UTFPR Câmpus Pato Branco, 2017.</i>	61
<i>Tabela 13 - Indicadores de retorno da Metodologia Multi-índice Ampliada (MMIA). UTFPR Câmpus Pato Branco, 2017.</i>	65
<i>Tabela 14 - Indicadores de elasticidade da MMIA. UTFPR Câmpus Pato Branco, 2017.</i>	66
<i>Tabela 15 - Estatísticas descritivas obtidas com a SMC. UTFPR Câmpus Pato Branco, 2017.</i>	69
<i>Tabela 16 - Valores de máximo e mínimo do Valor Presente Líquido a 90, 95 e 99% de probabilidade. UTFPR Câmpus Pato Branco, 2017.</i>	69

LISTA DE FIGURAS

<i>Figura 1 - A. annua cultivada na área experimental da UTFPR – Pato Branco. UTFPR Campus Pato Branco, 2016.</i>	6
<i>Figura 2 – Representação das moléculas de Artemisinina e alguns de seus derivados semissintéticos antimaláricos. Rodrigues, UTFPR Câmpus Pato Branco, 2015.</i>	8
<i>Figura 3 - Estimativa de demanda de Terapia Combinada de Artemisinina por região de 2015 a 2018. UNITAID, 2016.</i>	9
<i>Figura 4 - Perspectiva de produção e preço da artemisinina no período de 2014 a 2016. A2S2, 2017.</i>	10
<i>Figura 5 - Número de casos de Malária evitados por meio de Redes impregnadas com inseticidas, Tratados com TCAs, Spray interno residual.</i>	11
<i>Figura 6 - Planta de V. curassavica cultivada a área experimental da UTFPR – Pato Branco (2016). UTFPR Câmpus Pato Branco, 2016.</i>	15
<i>Figura 7 - Representação das estruturas moleculares dos sesquiterpenos (a) β-cariofileno e (b) α-humuleno. UTFPR Câmpus Pato Branco, 2016.</i>	15
<i>Figura 8 - Diagrama do processo de extração com fluido supercrítico; o sistema contém controladores de temperatura e pressão não mostrados. MEIRELES, 2013.</i>	21
<i>Figura 9 - Sistema de quatro módulos para síntese e purificação contínua de artemisinina (em vermelho). TFA: Ácido trifluoracético, EtOH: Etanol. Gilmore et al. (2014).</i>	25
<i>Figura 10 - Aparelho Clevenger. UTFPR Câmpus Pato Branco, 2015.</i>	31
<i>Figura 11 – Coluna de extração usada no MV-10 ASFE de 8 ml. LASEFI/FEA/UNICAMP Campinas, 2016.</i>	32
<i>Figura 12 - Componentes do equipamento MV-10 extrator com fluido supercrítico. Adaptado de Waters, 2012.</i>	33
<i>Figura 13 – Diagrama de fluxo para o processo de obtenção de extratos de A. annua e V. curassavica com dióxido de carbono supercrítico. UTFPR Câmpus Pato Branco, 2017.</i>	36
<i>Figura 14 – Diagrama de fluxo para o processo de extração de artemisinina com etanol. UTFPR Câmpus Pato Branco, 2017.</i>	37
<i>Figura 15 – Diagrama de fluxo para o processo de extração de óleo essencial com destilação por arraste a vapor. UTFPR Câmpus Pato Branco, 2017.</i>	44
<i>Figura 16 - Rendimento global dos extratos de A. annua obtidos por extração com dióxido de carbono supercrítico em função de combinações de temperatura e pressão e proporção de cossolvente etanol.</i>	48
<i>Figura 17 - Conteúdo de artemisinina obtido por extração com dióxido de carbono supercrítico, em função de combinações de temperatura e pressão e proporção de cossolvente etanol. LASEFI/FEA/ UNICAMP Campinas, 2016.</i>	49
<i>Figura 18 – Isotermas de rendimento global de extração obtidas com dióxido de carbono supercrítico a partir de V. curassavica para diferentes condições de temperatura e pressão. LASEFI/FEA/UNICAMP Campinas, 2016.</i>	52
<i>Figura 19 – Teor de α-humuleno nos extratos V. curassavica para diferentes condições de temperatura e pressão com extração com dióxido de carbono supercrítico. LASEFI/FEA/ UNICAMP Campinas, 2016.</i>	53
<i>Figura 20 – Rendimento de óleo volátil e concentração de α-humuleno para extração com destilação com arraste a vapor, dióxido de carbono supercrítico em um estágio e dióxido de carbono supercrítico sequencial nas pressões de 80, 200 e 300 bar. UTFPR Câmpus Pato Branco, 2017.</i>	55
<i>Figura 21 – Extratos de V. curassavica obtidos por extração fracionada com dióxido de carbono supercrítico nas pressões de 80, 200 e 300 bar. LASEFI/FEA/UNICAMP Campinas, 2017.</i>	56

Figura 22 – Influência do aumento de escala do sistema no custo de produção e produtividade de artemisinina para extração com dióxido de carbono supercrítico. COM_1 e Prod_1: Custo de produção e produtividade de artemisinina na condição 1 (50°C/200 bar); COM_2 e Prod_2: Custo de produção e produtividade de artemisinina na condição 2 (60°C/250bar). UTFPR Câmpus Pato Branco, 2017.	57
Figura 23 – Influência do aumento de escala do sistema no capital fixo direto para extração com dióxido de carbono supercrítico. UTFPR Câmpus Pato Branco, 2017.	58
Figura 24 – Influência da capacidade do sistema na composição do custo de produção de artemisinina para extração com dióxido de carbono supercrítico a 50 °C/200 bar. UTFPR Câmpus Pato Branco, 2017.	58
Figura 25 – Influência da capacidade do sistema na composição do custo de produção de artemisinina para extração com dióxido de carbono supercrítico a 60 °C/250 bar. UTFPR Câmpus Pato Branco, 2017.	59
Figura 26 – Custo de operação e manutenção e produtividade de artemisinina anual para plantas de extração com as tecnologias de extração dióxido de carbono supercrítico (condições de operação 60 °C/250 bar e 500 L de capacidade) e convencional com Etanol. UTFPR Câmpus Pato Branco, 2017.	60
Figura 27 – Influência da capacidade do sistema na composição do custo de produção de artemisinina para extração convencional com Etanol. UTFPR Câmpus Pato Branco, 2017.	60
Figura 28 – Fluxo de caixa ao longo do horizonte de análise com FC_0 : investimento no tempo zero, R: Receita negativa ao longo de 120 meses, com juros de 7% ao ano. UTFPR Câmpus Pato Branco, 2017.	63
Figura 29 - Composição do custo de produção de extrato de <i>V. curassavica</i> para extração com CO_2Sc . UTFPR Câmpus Pato Branco, 2017.	64
Figura 30 - Valores-Limites (VLs). UTFPR Câmpus Pato Branco, 2017.	67
Figura 31 - Efeito da variação do preço de venda sobre o Valor Líquido Presente.	68
Figura 32 - Composição do custo de produção de óleo essencial de <i>V. curassavica</i> utilizando com arraste a vapor. UTFPR Câmpus Pato Branco, 2017.	70

LISTA DE SIGLAS E ACRÔNIMOS

ANVISA	Agencia Nacional de Vigilância Sanitária
ANOVA	Análise de Variância
ART	Concentração de artemisinina no extrato
AS	Análise de sensibilidade
ASMQ	Artesunato de sódio + Mefloquina
ASMQ FD	Dose fixa Artesunato + Mefloquina
AY	Concentração de artemisinina na planta
α -HUM	Concentração de α -humuleno óleo essencial
CF	Custo Fixo
CFD	Capital Fixo Direto
CFP	Custos Fixos de Produção
CO ₂ Sc	Extração com dióxido de carbono supercrítico
COM	<i>Cost of Operation and maintenance</i>
COM	Custo de Produção e Manutenção
CPQBA	Centro Pluridisciplinar de Pesquisas Químicas, Biológicas e Agrícolas
CVP	Custos Variáveis de Produção
CVT	Custo Variável Total
CV _{uj}	Custo Variável Unitário
DDT	Diclorofeniltricloroetano
DEA	Departamento de Engenharia de Alimentos
DG	Despesas em Geral
DNDi	<i>Drugs for Neglected Diseases initiative</i>
DQHS	Diidroartemisinina
EFS	Extração com Fluido Supercrítico
ETOH	Etanol
FACT	<i>Fixed-dose Artesunate Combination Therapy</i>
FC ₀	Investimento Inicial
FC _j	Fluxo de Caixa para período j
FEA	Faculdade de Engenharia de Alimentos
GCR	Grau de Comprometimento da Receita
GFATM	Fundo Global para Luta contra AIDS, Tuberculose e Malária
IFA	Ingrediente Farmacêutico Ativo
IBC	Índice Benefício Custo
IBL	Índice Benefício Líquido
IR	Índice de Retenção
LASEFI	Laboratório de Separações Físicas
LEs	Limites de Elasticidade
MMI	Metodologia Multi-Índice de análise de investimentos
MMIA	Metodologia Multi-índice Ampliada
MSF	<i>Medicins San Frontiers</i>
NPV	<i>Net Present Value</i>
OMS	Organização Mundial da Saúde
OPAs	Organização Pan-Americana da Saúde

PDP	Parcerias para o Desenvolvimento Produtivo
PI	Projeto de Investimento
PV _{u_j}	Preço de Venda Unitário
Q _j	Quantidade Vendida
RENAME	Relação Nacional de Medicamentos Essenciais
ROIA	Retorno Adicional sobre o Investimento
ROIA/TMA	Índice de Retorno Adicional sobre o Investimento sobre a TMA
RT	Receita Total
SAB	Sistemas aquosos bifásicos
\$AVEPI	Sistema de Análise de Viabilidade Econômica de Projetos de Investimento
SMC	Simulação de Monte Carlo
SUS	Sistema Único de Saúde
TCA	Terapia Combinada de Artemisinina
TDR	<i>Research and Training in Tropical Diseases</i>
TIR	Taxa Interna de Retorno
TMA	Taxa Mínima de Atratividade
UNICAMP	Universidade Estadual de Campinas
Unicef	Fundo das Nações Unidas para a Infância
UTFPR	Universidade Tecnológica Federal do Paraná
VL _s	Valores-Limite
VP	Valor Presente
VP (CF)	Valor Presente - Custo Fixo
VP (CVT)	Valor Presente - Custo Variável Total
VP (RT)	Valor Presente - Receita Total
VP (VR)	Valor Presente - Valor Residual
VPL	Valor Líquido Presente
VPLA	Valor Presente Líquido Anualizado
VR	Valor Residual
X ₀	Rendimento Global de extração
X _{ART}	Rendimento de artemisinina na folha de <i>A. annua</i>

LISTA DE ABREVIATURAS

Jacq.	Botânico Jacquin
L.	Botânico Linnaeus

Sumário

1 INTRODUÇÃO	1
2 REFERENCIAL TEÓRICO.....	4
2.1 MERCADO DE BIOMOLÉCULAS.....	4
2.2 ESPÉCIES VEGETAIS UTILIZADAS COMO MATÉRIA-PRIMA	6
2.2.1 <i>Artemisia annua</i> L.	6
2.2.2 <i>Varronia curassavica</i> Jacq.....	13
2.3 MÉTODOS AMBIENTALMENTE SUSTENTÁVEIS DE OBTENÇÃO DE SUBSTÂNCIAS DE INTERESSE FARMACÊUTICO.....	17
2.3.1 Destilação com arraste a vapor.....	18
2.3.2 Extração com Solventes Orgânicos Convencionais	19
2.3.3 Extração com Dióxido de Carbono Supercrítico (CO ₂ Sc)	20
2.4 PURIFICAÇÃO DE COMPOSTOS DE ORIGEM NATURAL - ARTEMISININA	23
2.5 SEMISSÍNTESE DE ARTEMISININA	25
2.6 AVALIAÇÃO ECONÔMICA	26
2.6.1 Método clássico de análise de investimentos.....	26
2.6.2 Metodologia Multi-Índice de análise de investimentos (MMI)	27
2.6.3 Metodologia Multi-Índice Ampliada (MMIA).....	27
2.6.3.1 Abordagem Determinística	27
2.6.3.2 Abordagem Estocástica - Simulação de Monte Carlo (SMC).....	28
2.6.3 Ferramentas computacionais para estudos econômicos.....	28
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	29
3.1 MATERIAL VEGETAL: CULTIVO E CARACTERIZAÇÃO.....	29
3.2 EXTRAÇÃO CONVENCIONAL COM MACERAÇÃO A FRIO COM ETANOL – <i>A. annua</i>	30
3.3 EXTRAÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL COM HIDRODESTILAÇÃO – <i>A. annua</i> e <i>V. curassavica</i>	30
3.4 EXTRAÇÃO COM DIÓXIDO DE CARBONO SUPERCRÍTICO.....	31
3.4.1 Planejamento Experimental e Análise Estatística.....	33
3.5 COMPOSIÇÃO QUÍMICA DOS EXTRATOS.....	34
3.5.1 Extratos de <i>A. annua</i>	34
3.5.2 Óleo essencial e extratos de <i>V. curassavica</i>	34

3.6 AVALIAÇÃO ECONÔMICA	35
3.6.1 Espécie <i>A. annua</i>	35
3.6.1.1 Parâmetros para Avaliação Econômica	37
3.6.2 Espécie <i>V. curassavica</i>	41
3.6.2.1 Parâmetros para Avaliação Econômica	42
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	46
4.1 CARACTERIZAÇÃO FÍSICA DO MATERIAL VEGETAL	46
4.2 EXTRAÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL E ARTEMISININA DE <i>A. annua</i>	46
4.3 EXTRAÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL DE <i>V. curassavica</i>	51
4.3.1 <i>V. curassavica</i> – Lote 1	51
4.3.2 <i>V. curassavica</i> – Lote 2.....	53
4.4 ANÁLISE ECONÔMICA	56
4.4.1 Produção de artemisinina a partir de <i>A. annua</i>	56
4.4.1.1 Extração com CO ₂ Sc	56
4.4.1.2 Extração convencional – Maceração a frio com etanol	59
4.4.1.3 Estudo de sensibilidade para produção de artemisinina a partir de <i>A. annua</i>	61
4.4.2 Produção de extrato e óleo essencial a partir da espécie <i>V. curassavica</i>	63
4.4.2.1 Extração com CO ₂ Sc	63
4.4.2.2 Extração com destilação por arraste a vapor	64
4.4.2.2.1 Análise determinística	64
4.4.2.2.2 Análise Estocástica via Simulação de Monte Carlo (SMC).....	68
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS	71
REFERÊNCIAS.....	73
APÊNDICES.....	100

1 INTRODUÇÃO

As plantas medicinais e aromáticas estão presentes como matéria-prima em diversos ramos das indústrias farmacêutica, alimentícia, cosmética, agroquímica, entre outras. A utilização dessas plantas, no tratamento para cura e/ou prevenção de doenças, é uma das mais antigas práticas medicinais de populações de diferentes culturas (VEIGA Jr et al., 2005). Segundo a ANVISA, plantas medicinais são definidas como aquelas capazes de aliviar ou curar enfermidades e têm tradição de uso como remédio em uma população ou comunidade, e fitoterápicos são obtidos empregando-se, como princípio-ativo, exclusivamente derivados de drogas vegetais (ANVISA, 2016).

Em 1979, a Organização Mundial da Saúde (OMS) e o Fundo das Nações Unidas para a Infância (Unicef) relataram a necessidade da tomada de algumas medidas para proteger e promover a saúde dos povos do mundo: “formulação de políticas e regulamentações nacionais referentes à utilização de remédios tradicionais de eficácia comprovada e exploração das possibilidades de se incorporar os detentores de conhecimento tradicional as atividades de atenção primária em saúde, fornecendo-lhes treinamento correspondente” (OMS, 1979). Entretanto, no Brasil, somente em 2006 ocorreu a aprovação da Proposta de Política Nacional de Plantas Medicinais e Medicamentos Fitoterápicos, por meio do Decreto nº 5.813, de 22 de junho de 2006, a qual visou a implementação de ações capazes de promover a melhoria das condições de assistência à saúde da população, trazendo a seguinte diretriz: “deverá ser continuado e expandido o apoio a pesquisas que visem o aproveitamento do potencial terapêutico da flora e fauna nacionais, enfatizando a certificação de suas propriedades medicamentosas” (Portal Brasil, 2012).

Segundo a OMS, 80% da população mundial utilizam práticas tradicionais nos seus cuidados básicos de saúde e 85% destes utilizam plantas ou preparações destas (Brasil, 2016). De 1940 até 2012 estimava-se que 74,8% dos medicamentos mundiais eram sintéticos e 48,6% eram efetivamente produtos naturais ou diretamente derivados (NEWMAN & CRAGG, 2012).

Um exemplo de medicamento fitoterápico é o Acheflan[®], produto já comercializado, cujo princípio ativo é extraído da planta *Varronia curassavica* Jacq. (sinonímia: *Cordia verbenacea* DC.). O Acheflan[®] é utilizado como anti-inflamatório de uso tópico e foi o primeiro medicamento com pesquisa e desenvolvimento realizados inteiramente no Brasil. De acordo com o diretor de marketing dos Laboratórios Aché, a patente internacional do medicamento já foi obtida e, atualmente, a empresa já está com estudos em fase avançada para o desenvolvimento de sua versão oral. Este fator aumenta ainda mais a importância da planta frente à indústria farmacêutica, gerando forte demanda para estudos de otimização na obtenção de metabólitos de interesse da planta, como o óleo essencial padronizado (Aché, 2011).

Outro medicamento de grande importância e de fonte de obtenção natural é o ASMQ (artesanato de sódio + mefloquina). A combinação desses dois princípios ativos é definida como Terapia Combinada de Artemisinina (TCA) e tem sido utilizada para o tratamento contra a malária não complicada causada por *Plasmodium falciparum* com eficácia em 95% dos casos. O artesunato é um Ingrediente Farmacêutico Ativo (IFA) derivado da semi-síntese de artemisinina e seus análogos, isolados das folhas da planta *Artemisia annua* L.. A espécie é utilizada há séculos na medicina tradicional chinesa para o tratamento de febre e malária (MARCHESE & REHDER, 2001; ENSERINK, 2005; MARCHESE & FIGUEIRA 2005; MARCHESE et al., 2010; OMS, 2016), e, em estudos recentes tem mostrado sucesso no tratamento do câncer (IVANESCU & CORCIOVA, 2014; TRAN et al., 2014; MONDAL & CHATTERJI, 2015).

Apesar da relevância positiva na pesquisa, industrialização e utilização desses medicamentos, o mercado tem sido atendido, na maioria das vezes, por matéria-prima sem padronização, de qualidade duvidosa e proveniente de extrativismo predatório (NEVES, 2001). Com isso, à medida que aumenta a demanda por plantas medicinais, para qualquer que seja sua utilização, cresce o risco de extinção ou de diminuição de sua variabilidade genética (HOAREAU & da SILVA, 1999). Um dos principais obstáculos para o processamento nas indústrias de fitomedicamentos e de IFA é a minimização de influências negativas e a

otimização da produção desses compostos a fim de agregar ainda mais valor para o mercado (ZARONI et al., 2004).

O estímulo à pesquisa e inovação no setor se torna válido frente à importância do mercado destes medicamentos no Brasil e no mundo. Devem ser priorizados estudos que possam fornecer base à produção comercial e industrial com qualidade, segurança e eficácia frente ao potencial econômico das plantas medicinais e seus derivados.

Nesse contexto, o presente trabalho foi desenvolvido a fim de testar diferentes processos industriais de obtenção do óleo essencial da planta *V. curassavica* e o composto químico artemisinina a partir de *A. annua*, determinando o rendimento de extração e pureza dos extratos para as duas espécies vegetais com as tecnologias de extração ambientalmente sustentáveis. O método de extração com dióxido de carbono supercrítico foi utilizado para investigação da influência da temperatura, pressão e volume de solvente durante as extrações e comparar com as tecnologias convencionalmente empregadas, destilação com arraste a vapor para obtenção de óleo essencial e extração com maceração a frio com etanol para artemisinina. Além disso, busca-se realizar estudo técnico-econômico, fazendo uso das metodologias de estudo econômico com o auxílio do software SuperPro Designer® e o aplicativo web \$AVEPI (Sistema de Análise de Viabilidade Econômica de Projetos de Investimento) na instalação de planta de extração dos constituintes químicos das espécies *A. annua* e *V. curassavica*.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 MERCADO DE BIOMOLÉCULAS

O aumento da utilização de matérias-primas naturais deve-se à valorização destes produtos pelos consumidores e seus efeitos satisfatórios no tratamento de doenças. Em 2016 foi registrado nos Estados Unidos um incremento de 9% no mercado de produtos naturais (Global Cosmetic, 2017) indicando um crescimento robusto nesta área. O mercado mundial de fitoterápicos também cresce em taxas altas, próximas a 20% ao ano, resultado da busca da população por tratamentos mais naturais e sem tantos efeitos adversos dos medicamentos sintéticos (NEVES, 2001).

Além da iniciativa em buscar uma vida mais natural, o governo nacional também oferece desde 2006, outra forma de tratamento aos cidadãos com o uso de medicamentos naturais. Desde 2012 estão disponíveis 12 medicamentos fitoterápicos, os quais são oferecidos pela rede pública em 14 estados (Portal Brasil, 2012), com tendência de que cada vez mais estes produtos sejam empregados na assistência à saúde da população brasileira. Além disso, a cadeia produtiva de plantas medicinais é altamente agregadora de valor. Exemplo disso é o valor de venda do quilograma de guaco (*Mikania laevigata* Schultz), que de acordo com Matsushita et al (2015), é de R\$ 20,00 com uma produção de 3.300 kg.ha⁻¹, totalizando uma receita por hectare de R\$ 66.000,00. Já a soja, na mesma época, gerou R\$ 3.450,00 de faturamento por hectare (AEN – PR, 2015).

Muitas empresas privadas brasileiras já desenvolveram ou estão desenvolvendo medicamentos e terapias inovadoras à base de biomoléculas obtidas a partir de plantas medicinais, já que o mercado farmacêutico nacional é um dos mais promissores e atraentes para investimentos (DE CASTRO & ALBIERO, 2016), encontrando-se entre os dez maiores mercados farmacêuticos do mundo. Outra razão para incentivar a indústria de fitoterápicos no Brasil é a riqueza de biodiversidade, com milhares de espécies de plantas conhecidas e ainda milhares mais para se identificar.

Apesar da expectativa de crescimento positiva, a indústria fitofarmacêutica no Brasil enfrenta algumas dificuldades. O desenvolvimento de novos produtos e padronização da matéria-prima é bastante oneroso (JUNIOR et al., 2013), além de na maioria das vezes ser atendido por matéria-prima de qualidade duvidosa e proveniente de extrativismo predatório (NEVES, 2001). Além do elevado investimento para descoberta de novos fármacos e os marcos regulatórios rígidos das agências reguladoras, os quais fazem com que o processo de exploração de novas biomoléculas seja um investimento de risco elevado que exige expressivo aporte de capital (PINTO & BARREIRO, 2010).

Dessa forma, se tornam necessárias a elaboração de estratégias capazes de viabilizar a produção de fármacos no Brasil compatíveis com as demandas de saúde da população e com a realidade de mercado do setor, que envolverão o estabelecimento de parcerias entre o governo, setor industrial e instituições de pesquisa (PINTO & BARREIRO, 2010; NEWMAN & CRAGG 2012).

É importante ressaltar que a qualidade das plantas medicinais e aromáticas é obtida durante todo o processo produtivo, desde a identificação botânica, escolha do material vegetal, época e local de plantio, tratamentos culturais, determinação da época e melhor horário de colheita e, cuidados na colheita e pós-colheita de modo a garantir o máximo de qualidade da matéria-prima, (MARCHESE & FIGUEIRA, 2005; TANKO et al., 2005; TEIXEIRA et al., 2016) até seu uso final na indústria, a qual deve garantir máximo aproveitamento do material vegetal de alta qualidade recebido.

Diante do exposto, é de extrema importância realizar estudos de otimização industrial de rendimento dos biocompostos obtidos a partir de matrizes vegetais padronizadas, para que os investimentos realizados em boas práticas de cultivo, manejo e técnicas pós-colheita não sejam desperdiçados, evitando gastos e perdas desnecessárias. E, além disso, são necessários trabalhos que realizem estudos econômicos desses investimentos.

2.2 ESPÉCIES VEGETAIS UTILIZADAS COMO MATÉRIA-PRIMA

2.2.1 *Artemisia annua* L.

A. annua, mostrada na Figura 1, é uma planta herbácea, aromática, nativa da Ásia e aclimatada no Brasil. O hábito de crescimento da espécie é determinado, com altura variando de 2,0 a 3,05 m (FERREIRA & JANICK 2005; MARCHESE, 2006; BRISIBE *et al.* 2009; BOLINA *et al.* 2014). Suas folhas são simples e alternadas, e suas flores são pequenas (entre 2,0 e 3,0 mm), amarelo-esverdeadas e cercadas por diversas brácteas imbricadas reunidas em capítulos (WETZSTEIN *et al.*, 2014; TOWLER & WEATHERS, 2015).



Figura 1 - *A. annua* cultivada na área experimental da UTFPR – Pato Branco. UTFPR *Campus* Pato Branco, 2016.

A. annua é fonte de inúmeros compostos bioativos incluindo flavonoides, cumarinas, esteroides, fenóis, purinas, lipídios, compostos alifáticos, além de terpenos (BRISIBE *et al.*, 2009; ELLMAN 2010; LIU *et al.* 2013; SADIQ *et al.*, 2014). Esta planta vem sendo utilizada há anos pelos chineses no tratamento de várias doenças e, atualmente, ao menos 40 compostos voláteis e vários não voláteis já foram extraídos e identificados (AFTAB *et al.*, 2014). O óleo

essencial da *A. annua* possui compostos voláteis com valor na indústria cosmética. Na área da medicina vêm sendo testados para o controle de algumas estirpes de *Candida* spp. (SANTOMAURO et al., 2016), no combate à *Leishmaniose visceral* (ISLAMUDDIN, et al., 2014), obesidade (HWANG et al., 2016); e tem demonstrado potencial uso como agroquímico com comprovada ação alelopática (MAGIERO et al., 2009; MORVILLO et al., 2011) e inseticida (BAGCHI et al., 2003).

As folhas da *A. annua* são fonte de artemisinina. Em 1971, químicos chineses isolaram esta substância, descrevendo-a como lactona sesquiterpênica com um grupamento endoperóxido-1,2,4-trioxano que tem o diferencial de não possuir nitrogênio na estrutura como os outros antimaláricos. O composto demonstrou sucesso no tratamento em milhares de pacientes na China, incluindo aqueles acometidos com ambas as cepas do *P. falciparum*, a resistente e a sensível à cloroquina (ACTON et al., 1985). Desde sua obtenção, vários derivados da artemisinina foram sintetizados, obtendo-se substâncias mais ou menos ativas do que a mesma. Entre os derivados mais comuns estão a diidroartemisinina (DQHS), arteméter, artemisiteno e artesunato de sódio, cujas estruturas químicas são exibidas na Figura 2, todas contendo o grupamento peróxido. Estes compostos foram denominados de endoperóxidos de primeira geração e são empregados na quimioterapia da malária na Tailândia, Vietnã, África, Brasil e China, países nos quais a resistência ao parasita é comum (MARCHESE, 2006; OMS, 2016).

A malária é uma doença infecciosa provocada por protozoários parasitas do gênero *Plasmodium*, principalmente *P. falciparum* e *P. vivax*. Geralmente é transmitida para os seres humanos por meio da picada de mosquitos do gênero *Anopheles*. Até 1960, o combate à malária era baseado no extermínio do mosquito vetor com diclorofeniltricloroetano (DDT) e no tratamento da doença com drogas a base de quinina e seu derivado, cloroquina. Contudo, com a ocorrência de efeitos negativos do DDT sobre animais, a presença persistente do pesticida nas cadeias alimentares e o desenvolvimento de resistência do *P. falciparum* às drogas comumente utilizadas, houve a necessidade da introdução de novas estratégias para o controle da doença (AFTAB et al., 2014). De acordo com o Relatório Mundial de Malária de 2016 (OMS, 2016), em 2015 foram relatados 212 milhões de novos casos de malária e

429.000 mortes no mundo. A região mais afetada pela doença é a África Sub-Saariana, a qual foi cenário de 90% dos casos de malária de 2015 e detentora de 92% das mortes ocorridas pela doença. Dentre o total do número de mortos, aproximadamente 70% são crianças menores de 5 anos e vulneráveis a doença.

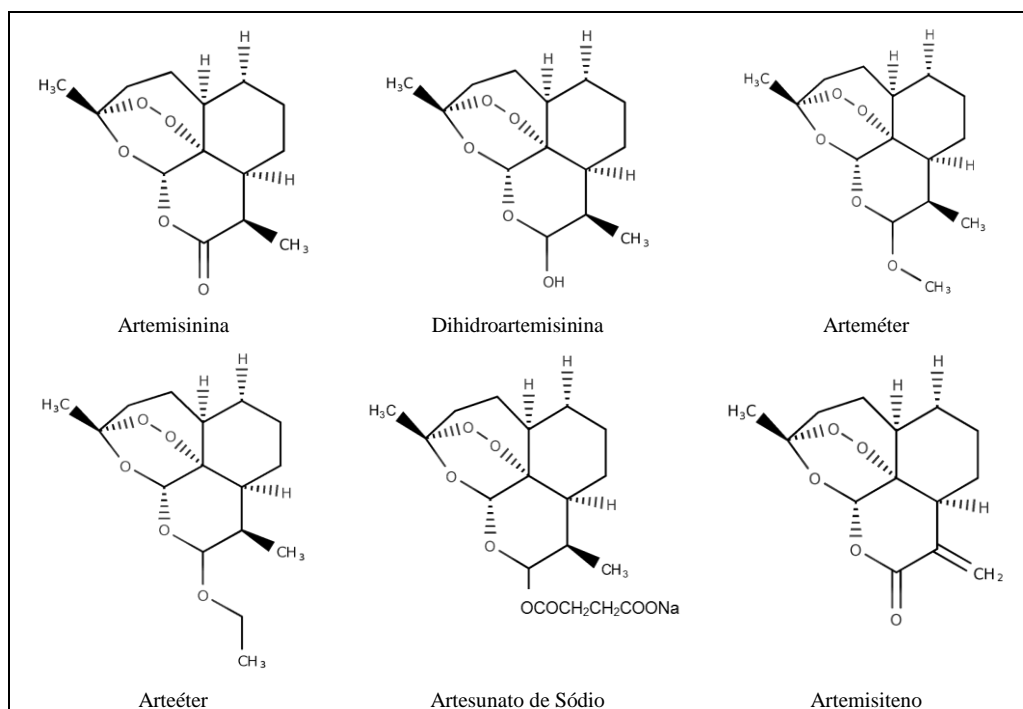


Figura 2 – Representação das moléculas de Artemisinina e alguns de seus derivados semissintéticos antimaláricos. Rodrigues, UTFPR Câmpus Pato Branco, 2015.

Em 2002, o tratamento de combinação de dose fixa Artesunato + Mefloquina (ASMQ FD) foi desenvolvido no Projeto *Fixed-dose Artesunate Combinatio Therapy* coordenado pela *Research and Training in Tropical Diseases*, sob a proteção da *Medicins San Frontiers* e *Drugs for Neglected Diseases initiative* (DNDi, 2015). Desde que a ASMQ FD foi indicada em 2002 pela OMS como tratamento de primeira linha para malária, a demanda pela biomolécula artemisinina tem crescido (OMS, 2002; UNITAID, 2016), é o que pode ser observado na Figura 3, a qual destaca que em 2015 a demanda de TCA era de 1,36 milhão de doses e salta para uma estimativa de 1,46 milhão em 2018.

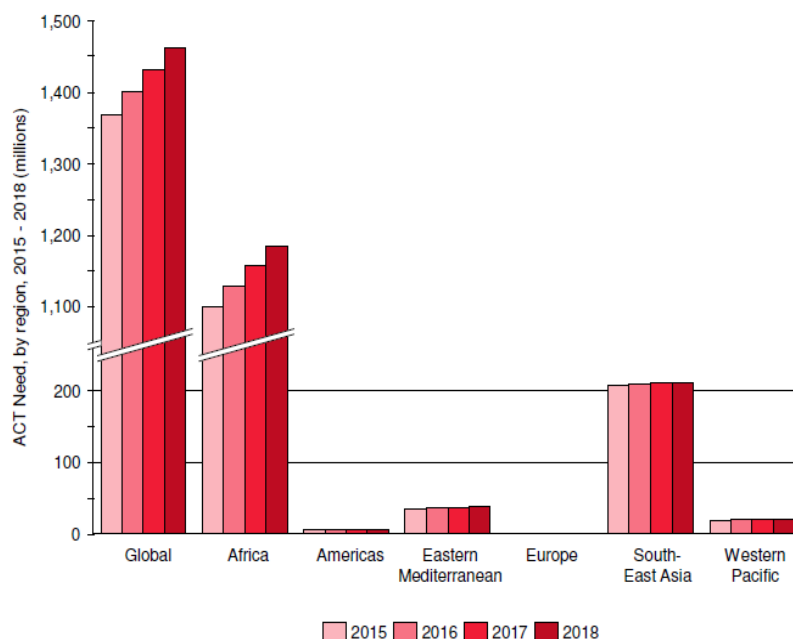


Figura 3 - Estimativa de demanda de Terapia Combinada de Artemisinina por região de 2015 a 2018. UNITAID, 2016.

Além de atividade antimalárica, a artemisinina tem provado ser efetiva no tratamento de vários parasitas protozoários do sangue; células cancerígenas, incluindo câncer de mama, leucemia humana, de cólon, de pulmão, e cânceres resistentes a outras drogas (EFFERTH, 2005; CHATURVEDI et al., 2010; LAI et al., 2013; IVANESCU & CORCIOVA, 2014; TRAN et al., 2014; MONDAL & CHATTERJI, 2015), aumentando a demanda pela molécula. No entanto, um mercado próspero *transformou-se* em um mercado com demanda, mas com incertezas de entrega e com elevada flutuação no preço do produto devido à combinação de poucos produtores de *A. annua* e fabricante de artemisinina, longos prazos de entrega e flutuações no preço da matéria-prima (SHRETTA & YADAV, 2012).

O mercado mundial de artemisinina teve seu ápice no ano de 2013 (A2S2, 2014), com picos de produção de mais de 16 toneladas na Índia, principal produtor mundial. Em 2014 houve o ingresso de artemisinina semissintética no mercado, produzida pela Sanofi (OMS, 2013), a qual objetivava exclusivamente regular o preço de mercado, evitando oscilações causadas pela retenção da produção por produtores, especialmente chineses, os quais levaram os valores do quilograma da molécula a patamares de US\$ 1.000,00.

Apesar das perspectivas de produção da molécula semi-sintética, a empresa Sanofi, única responsável em produzir a molécula no mundo, apresentou dificuldade e resistência perante o mercado mundial. Segundo Peplow (2016), ao ser implantado comercialmente, o produto não sofreu o impacto esperado. A produção em 2015 não atingiu sua meta para a produção da Terapia Combinada de Artemisinina (TCA) e, portanto está se desfazendo do protocolo de produção e de sua indústria localizada em Garessio, na Itália. O principal obstáculo encontrado pela Sanofi foi a oferta da artemisinina agrícola e o seu valor de mercado: enquanto o quilo da artemisinina produzida naturalmente custava aproximadamente US\$ 250 kg⁻¹ em 2015 (Figura 4) com queda gradativa, a indústria consegue oferecer a molécula semissintética por US\$ 350-400 kg⁻¹. Com os preços em baixa, e a safra abundante, a empresa não observa necessidade de fomento da tecnologia para o mundo.

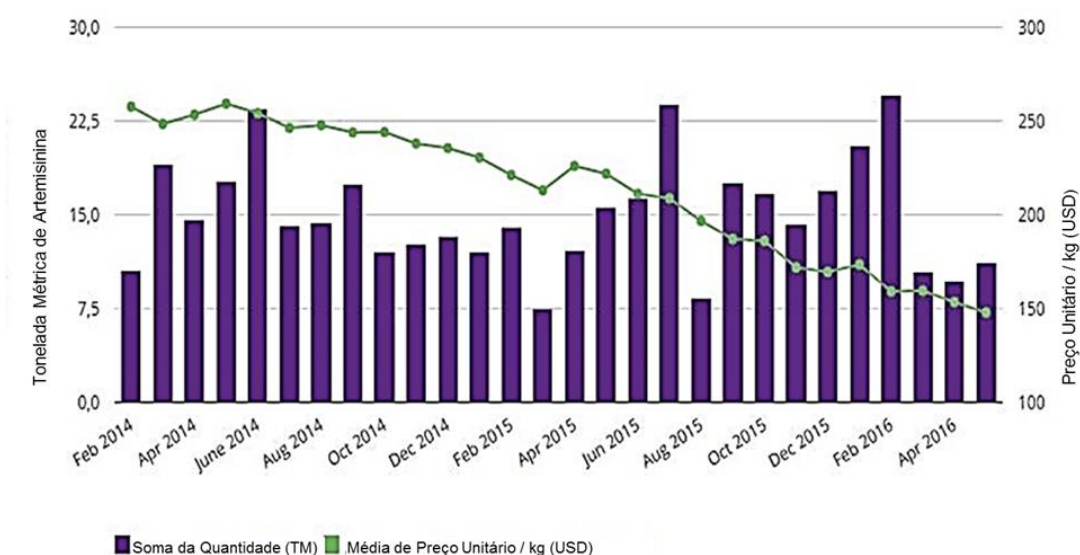


Figura 4 - Perspectiva de produção e preço da artemisinina no período de 2014 a 2016. A2S2, 2017.

Mesmo a TCA sendo mais efetiva contra a malária causada pelo *P. falciparum*, ela possui um custo 10 a 20 vezes maior que a terapia com cloroquina. O apoio financeiro aos países atingidos pela enfermidade pelo Fundo Global para Luta contra AIDS, Tuberculose e Malária (GFATM) também aumentou rápida e consideravelmente a demanda por TCA (ENSERINK, 2005; DIOP, 2017). E temendo a resistência do agente causal à cloroquina e sulfadoxina-pirimetamina, já em 2004, oito dos nove países amazônicos, exceto Brasil,

havia modificado suas políticas farmacêuticas para tratar a malária não complicada causada por *P. falciparum* com TCA (OMS, 2005). Atualmente a contenção da doença tem como prioridade o controle do vetor, por meio da utilização de redes mosquiteiras impregnada com inseticida piretroide para a prevenção da transmissão do *P. falciparum* pelo mosquito (OMS, 2017a). Os relatórios mostram alta eficiência desta ação, conforme pode ser observado na Figura 5, corroborando para redução de casos da doença.

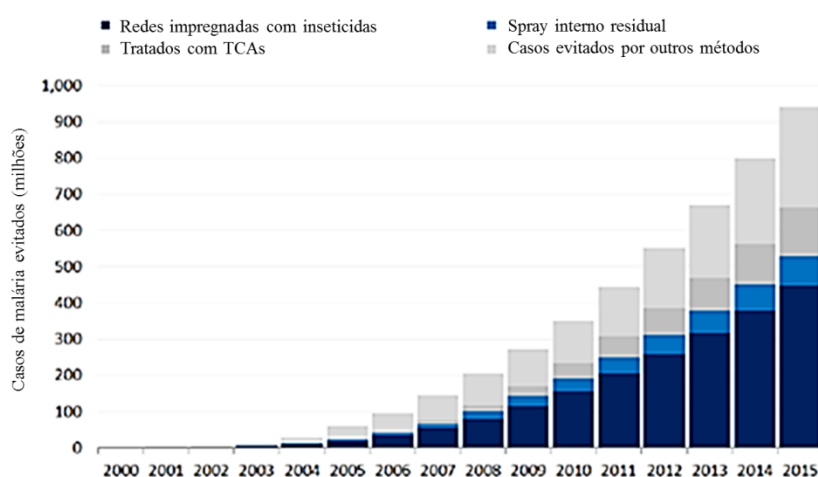


Figura 5 - Número de casos de Malária evitados por meio de Redes impregnadas com inseticidas, Tratados com TCAs, Spray interno residual. OMS, 2017a.

A TCA também continua apresentando papel fundamental na luta contra a malária, mesmo com preocupações com aparecimento de resistência ao TCA em algumas regiões. A OMS afirma que as TCAs são o melhor tratamento para a malária não complicada, e a rotina de monitoramento deve continuar a fim de garantir que os TCAs recomendados sejam eficazes para que a resistência à artemisinina possa ser detectada cedo e medidas possam ser tomadas na região de resistência (OMS, 2017b). Os benefícios da TCA são a sua alta eficácia, a ação rápida e, apesar de existir chances, a probabilidade reduzida de desenvolvimento de resistência. Para fazer melhor uso destes benefícios é imprescindível resolver problemas de acesso e custo à TCA e consequentemente a redução do fornecimento de lotes fraudados do medicamento enviados as regiões afetadas pela doença.

No Brasil, a Fundação Oswaldo Cruz por meio de umas de suas unidades, o Instituto de Tecnologia em Fármacos – Farmanguinhos – produz o antimalárico ASMQ (Artesunato de sódio + Mefloquina) desde 2008 (DNDi, 2015), pré-qualificado em 2012 pela OMS. A Organização Pan-Americana da Saúde (OPAs) em parceria com o Núcleo de Assistência Farmacêutica no Brasil são apoiadores no combate à malária nos países latino-americanos (FIOCRUZ, 2011). Além disso, o Brasil atende países vizinhos que demandam o medicamento para o tratamento adulto e infantil (DNDi, 2015).

A Fiocruz atende a programas específicos do Ministério da Saúde que tratam de problemas endêmicos, e entre os principais produtos fornecidos ao governo está o ASMQ. A artemisinina encontra-se na Relação Nacional de Medicamentos Essenciais (RENAME) nas formas de Artemer 80 mg.mL⁻¹ solução injetável, Artesunato 60 mg.mL⁻¹ pó liofilizado, Artemer/Lumefantrina 20/120 mg comprimido, Artesunato/Mefloquina 100/220 mg e 25/55 mg comprimido. A RENAME possibilita a orientação da prescrição e do abastecimento da rede do Sistema Único de Saúde (SUS), portanto, medicamentos padronizados, seguros e eficazes nela listados atendem enfermidades prioritárias em saúde pública e são componentes estratégicos da Assistência Farmacêutica no país, além de terem prioridade em serem fabricados, para redução de custos de produção com importações e direcionamento de investimentos para outras áreas da saúde (FRAGOSO, 2014; Fiocruz, 2015).

O ASMQ está incluso desde 2008 na lista de produtos estratégicos, no âmbito do SUS, com a finalidade de colaborar com o desenvolvimento do Complexo Industrial da Saúde, e a Portaria Nº 2.531, de 12 de Novembro de 2014 redefine as diretrizes e os critérios para a definição da lista de produtos estratégicos para o SUS e o estabelecimento das Parcerias para o Desenvolvimento Produtivo (PDP) e disciplinam os respectivos processos de submissão, instrução, decisão, *transferência* e absorção de tecnologia, aquisição de produtos estratégicos para o SUS no âmbito das PDP e o respectivo monitoramento e avaliação. Farmanguinhos, nesse aspecto, representa um importante papel no fortalecimento das indústrias farmacêuticas nacionais e na regulação de preços do mercado farmacêutico brasileiro. E apesar de da alta demanda sendo prioritária a produção nacional, o artesunato utilizado na fabricação do

ASMQ é oriundo 100% de importação (BEHRENS, M.D.D.¹), devido ao alto custo de produção nacional.

A planta medicinal *A. annua*, única fonte viável de obtenção de artemisinina e seus precursores, vem sendo alvo de diversos estudos para o aumento do rendimento dos bioativos de interesse na planta, assim como o aumento de massa seca de folhas. O genótipo de alto rendimento da planta utilizado como material vegetal no presente trabalho, B24 selecionado da variedade 2/39x5x3M oriunda do Centro Pluridisciplinar de Pesquisas Químicas, Biológicas e Agrícolas CPQBA – Campinas, é resultado do trabalho do grupo de pesquisa *Bioprospeção de Moléculas e Fisiologia da Indução de Resistência em Plantas*, do trabalho de Bolina *et al.* (2014), onde os autores selecionaram o genótipo como promissor em termos de rendimento de artemisinina. Vários outros trabalhos do grupo têm gerado informações relacionadas à caracterização do metabolismo fotossintético e as respostas da espécie a fatores ambientais e nutricionais (MARCHESE, 2006; PALADINI, 2012); a determinação da época de cultivo ideal para a espécie em Pato Branco-PR, visando a obtenção de maior rendimento de artemisinina (MARCHESE, 2006); a verificação da influência de moléculas eliciadoras na indução de resistência à doenças e pragas e crescimento das plantas (MARCHESE 2006; MAGIERO, 2009; PALADINI, 2012); a densidade de plantio adequada para o maior rendimento de óleo essencial e teor de artemisinina (CAPELIN, 2012).

2.2.2 *Varronia curassavica* Jacq.

A planta medicinal *Varronia curassavica* Jacq., pertencente à família Boraginacea é nativa do Brasil (JOLY, 1987). É um arbusto perene ocorrendo em quase todo o país, principalmente no litoral e nas áreas de floresta tropical atlântica (SILVA Jr *et al.*, 1995; LADEIRA, 2002), cerrado e caatinga (MENDES *et al.*, 2015), muito comum em estados do

¹ BEHRENS, M.D.D. (Fundação Oswaldo Cruz, Departamento de Produtos Naturais de Farmanguinhos/FIOCRUZ) Comunicação pessoal, 2017.

Sul, como Santa Catarina (SILVA Jr et al., 1995). Popularmente, a espécie é conhecida como erva-baleeira podendo ser encontrada com as seguintes sinonímias botânicas: *Cordia verbenacea*, *Cordia curassavica*, *Cordia salicina*, *Cordia cylindristachia*, *Lithocardium fresenii*, *Lithocardium salicinum* e *Lithocardium verbaceum* (CARVALHO Jr et al., 2004).

As plantas de *V. curassavica* são arbustivas, conforme ilustra a Figura 6, muito ramificadas e atingem cerca de 1,5 a 2 metros de altura (MARQUES & OLIVEIRA, 2005), apresentando folhas aromáticas simples, alternas, lanceoladas, com base acuminada, ápice agudo e margens dentadas (LORENZI & MATOS, 2008). A propagação de *V. curassavica* ocorre por sementes (VAZ et al., 2006; ARAUJO, 2007), mas pode ser realizada vegetativamente por diversas técnicas como a estaquia (LADEIRA, 2002; MONTANARI Jr, 2000).

O óleo essencial da *V. curassavica* inibe o crescimento de bactérias gram-positivas (CARVALHO Jr. et al., 2004), sendo formado principalmente de mono e sesquiterpenos, com os componentes α -pineno, β -cariofileno e aloaromadendreno, seguidos por α -humuleno, β -gurjuneno e epoxicariofileno encontrados em maior porcentagem (CARVALHO Jr. et al., 2004). Contudo, a principal aplicação do óleo essencial da erva baleeira é na fabricação de um anti-inflamatório fitoterápico de uso tópico, registrado como Acheflan[®], dos laboratórios Aché. Os terpenos α -humuleno e β -cariofileno (Figura 7 a e b) proporcionam à planta atividade anti-inflamatória e analgésica comprovadas (MEDEIROS et al., 2007; PASSOS et al., 2007; RYAN, 2010), sendo eles os princípios ativos do fitoterápico.



Figura 6 - Planta de *V. curassavica* cultivada a área experimental da UTFPR – Pato Branco (2016). UTFPR Câmpus Pato Branco, 2016.

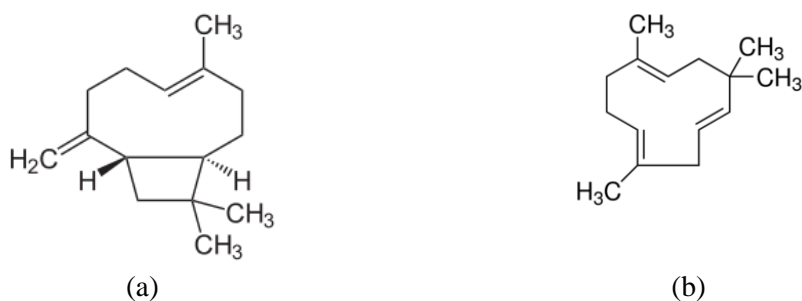


Figura 7 - Representação das estruturas moleculares dos sesquiterpenos (a) β -cariofileno e (b) α -humuleno. UTFPR Câmpus Pato Branco, 2016.

O Acheflan[®], medicamento fitoterápico, cuja composição apresenta 5,0 mg de óleo essencial de *V. curassavica* por grama de creme. O óleo essencial é padronizado em 2,3 - 2,9% de α -humuleno. O Acheflan[®] foi lançado em 2005 em forma de creme (Notícias, 2005) e em 2006 na versão aerossol (Notícias.MED.BR, 2007) e desde então é utilizado como anti-inflamatório de uso tópico. Testes clínicos junto a centenas de pacientes mostraram que o creme da erva baleeira é tão eficaz para casos de dores musculares quanto o principal anti-

inflamatório do mercado apresentando menos efeitos colaterais, como a vermelhidão na pele (SUGIMOTO, 2005; Anti-Inflamatórios, 2017).

A principal importância do fitomedicamento no mercado brasileiro, associada à obtenção de sua patente internacional, resultou na perspectiva de ampliação a área de cultivo de *V. curassavica* nos próximos anos. No Brasil, o produto é líder de prescrição médica para tendinites crônicas e dores musculares, com mais de 25% de participação de mercado (ACHEFLAN, 2015) e em 2016 saltou para 27,6% de vendas de um pouco mais de 1 milhão de unidades, resultando em R\$ 30,3 milhões de faturamento (FAPESP, 2017). Em segundo no mercado, com 14,78%, está o Flexive, produzido pela Merck, um fitoterápico feito com confrei (*Symphytum officinale*). A exportação do Acheflan para Japão, Chile, México, Costa Rica, Equador e Peru representa 10% do faturamento do produto. O desenvolvimento do fitomedicamento contou com a parceria de pesquisadores da Universidade Estadual de Campinas e da Universidade Federal de Santa Catarina

Internacionalmente está ganhando espaço e sendo comercializado no México, segundo maior mercado Farmacêutico da América Latina, por meio de parceria entre Aché e Silanes (Notícias, 2015). A Aché também exporta o medicamento para os Estados Unidos, maior mercado consumidor de medicamentos do mundo, a empresa norte-americana *RFI Ingredients*, sediada em Blauvelt (NY), licenciou o medicamento e o distribuiu no país (Notícias, 2015). Além da Aché, a empresa americana PhytoRich (EMERSON ECOLOGICS, 2015) está produzindo o produto Cordia Extreme™ com as mesmas indicações do Acheflan®.

Atualmente, o valor de venda do litro do óleo essencial de *V. curassavica*, no varejo, varia de 3,5 a 8 mil reais (HERBIA, 2017; LAZSLO, 2017; Harmonia Natural, 2017). O crescimento da demanda comercial pelo óleo é real, considerando sua ampla e efetiva aplicação medicinal. Todos os esforços em viabilizar sua produção são válidos e de grande interesse comercial.

2.3 MÉTODOS AMBIENTALMENTE SUSTENTÁVEIS DE OBTENÇÃO DE SUBSTÂNCIAS DE INTERESSE FARMACÊUTICO

A obtenção de moléculas a partir de plantas medicinais emprega diversos processos (LAPKIN et al., 2006; AFTAB et al., 2014), como por exemplo, a destilação por arraste a vapor, hidrodestilação, maceração a frio e a quente com solventes orgânicos, extração com fluido supercrítico, entre outros. Alguns desses processos clássicos estão sendo estudados há muitos anos e atingiram elevado grau de maturidade tecnológica, enquanto outros são técnicas ainda recentes, cujas possibilidades e aplicações ainda estão sendo aprimoradas (AFTAB et al., 2014).

Segundo Al-Jabari (2002), a determinação do método mais adequado de obtenção de biocompostos deve levar em consideração o rendimento, a rapidez e seletividade para os compostos alvo, para cada matéria-prima utilizada e produto final desejado. A capacidade e rapidez em produzir a maior quantidade de extrato, têm fortes implicações econômicas e determinam a viabilidade industrial da maioria dos processos (QUISPE-CONDORI, 2005a).

E tratando-se de tecnologias de extração ambientalmente sustentáveis, de acordo com Chemat et al. (2012): *“Extração verde está baseada na descoberta ou planejamento de processos de extração que reduzirão consumo de energia, permitirão o uso de solventes alternativos e produtos naturais renováveis, e assegurarão um produto/extrato de alta segurança e qualidade”*. Portanto uma tecnologia de extração ambientalmente adequada pode se tratar de processos mais recentes, como a extração com dióxido de carbono supercrítico; utilização de solventes de fonte renovável como o etanol; e a utilização de uma técnica antiga, como a destilação por arraste a vapor utilizando matéria-prima vegetal de qualidade para otimizar o uso da energia gasta no processo além da reutilização da água de resfriamento.

A seguir são descritos alguns dos principais processos utilizados para a extração de óleos essenciais e preparação de extratos a partir de tecidos vegetais. Os selecionados como

tecnologias “verdes” foram: a destilação por arraste a vapor, maceração a frio com etanol e extração com dióxido de carbono supercrítico.

2.3.1 Destilação com arraste a vapor

A destilação com arraste a vapor é um processo tradicionalmente utilizado para obtenção de óleo essencial a partir de material vegetal (REVERCHON & SENATORE, 1992; MASANGO, 2005), o qual consiste na percolação de uma corrente de vapor de água de forma contínua pelo leito da matéria-prima vegetal, arrastando os componentes voláteis que são condensados e decantados na sequência de operações (SERAFINI, 2001; OLIVEIRA & JOSE, 2007).

Industrialmente a destilação com arraste a vapor é bastante utilizada por ser um método simples e econômico quando aplicado em grande escala, este resulta em uma boa recuperação do óleo essencial (MASANGO, 2005). As limitações da técnica são os altos gastos energéticos, para espécies vegetais com baixo rendimento de óleo essencial, e impacto ambiental em sistemas de arrefecimento do condensador sem reaproveitamento da água corrente. Estas limitações podem ser amenizadas com otimização do uso de energia no processo e o reaproveitamento da água de resfriamento.

Para as espécies vegetais em estudo, *A. annua* e *V. curassavica*, a destilação com arraste a vapor é utilizada como técnica de extração do óleo essencial, sendo inclusive efetiva na extração dos terpenos de interesse na *V. curassavica*, com rendimentos de óleo essencial que variam de 0,23 a 0,55% (QUISPE-CONDORI, 2005; CARVALHO Jr. et al., 2004; GILBERT & FAVORETO, 2013). Já para a matriz vegetal *A. annua* o óleo essencial é extraído com efetividade, com rendimentos de 0,24 a 0,94% (TELLEZ et al., 1999; JUTEAU et al., 2002; QUISPE-CONDORI, 2005; BOLINA et al., 2013), porém, as altas temperaturas utilizadas na técnica causam a degradação da molécula de artemisinina (CHRISTEN & VEUTHEY, 2001), não sendo viável sua aplicação para a extração da mesma.

2.3.2 Extração com Solventes Orgânicos Convencionais

Comercialmente a extração de constituintes químicos de matrizes vegetais é geralmente realizada utilizando grandes volumes de solventes orgânicos nocivos à saúde humana e ao meio ambiente. Os solventes orgânicos disponíveis mais amplamente utilizados nos procedimentos de extração são hexano, éter de petróleo, clorofórmio, acetonitrila, acetona e etanol (STARMANS et al., 1996; TOKUOKA et al., 2010; AFTAB et al., 2014). Quando se trata de custos de produção este método de extração é mais vantajoso quando comparado às outras tecnologias, porém longos tempos de extração são necessários, demanda de otimização para a recuperação dos compostos de interesse, e faz uso solventes tóxicos que requerem um passo de evaporação/condensação para recuperação (GIL-CHÁVEZ et al., 2012).

O solvente hexano é amplamente utilizado para extração de compostos naturais na indústria, pois é barato, possui estreita faixa de ebulição e é imiscível com a água, o que evita misturas azeotrópicas (MORETTO & FETT, 1998) difíceis de separar. No entanto, sua inflamabilidade e potencial poluidor, justificam o estudo de solventes que substituam o seu uso.

A artemisinina também vem convencionalmente sendo isolada a partir da *A. annua* por maceração a frio com os solventes hexano e éter de petróleo, a eficiência de extração desta técnica atinge 60%, e envolve grandes volumes de solventes com altos riscos a saúde humana e ao meio ambiente (ELSOHLY et al., 1990; CHRISTEN & VEUTHEY, 2001; LAPKIN et al., 2006; AFTAB et al., 2014).

O etanol pode ser uma alternativa ao processo de extração (FOGLIO et al., 2002). E estudos têm demonstrado que ele apresenta um poder extrativo, em geral, semelhante aos demais solventes usados (hexano, diclorometano, metanol etc), porém com menor toxicidade, oferecendo menores riscos operacionais por apresentar maiores temperaturas de inflamação e menor toxicidade (MERCK, 2006a; 2006b). Em trabalho realizado por Rodrigues et al. (2006), o processo de maceração a frio com etanol 96° GL revelou alta eficiência de extração, sendo esta superior à obtida com hexano. Além disso, os autores propuseram um protocolo

otimizado para a extração e purificação da artemisinina, chegando a uma redução de 65% do consumo do solvente para extração e uma economia de 2,7 vezes no processo de purificação.

O processo de extração com etanol 96 °GL consiste no uso de dois tanques extratores em série, sendo que no primeiro tanque é alimentado com a droga vegetal seca e moída mais etanol 96 °GL mantendo-se agitação mecânica contínua por 1,5 h a temperatura ambiente. O extrato resultante do tanque um é filtrado e transferido para o tanque dois, sendo utilizado como líquido extrator para uma nova porção de material vegetal cru; enquanto o tanque um é alimentado novamente com mais uma carga de etanol 96 °GL, e o processo (dois tanques) mantido em agitação por mais 1,5 h. A operação é conduzida três vezes, totalizando três extratos os quais são reunidos para posterior evaporação e purificação.

Além da alta eficiência na obtenção de extratos vegetais, o etanol é potencialmente atraente devido a sua ampla produção a partir de matérias-primas renováveis e locais, com preços de compra mais baixos. Isto é especialmente importante para os processos que são predominantemente focados no uso de materiais de origem local para melhorar a sustentabilidade global do processo. Lapkin et al. (2006) compararam o processo de obtenção de artemisinina, por maceração a frio, com hexano e com etanol e obteve eficiência de extração de 73%, menor toxicidade e custos.

No caso da *V. curassavica*, os solventes usados para obtenção de extratos (QUISPE-CONDORI et al., 2008) são etanol, acetona e diclorometano, e como mencionado anteriormente, o óleo volátil pode ser obtido por destilação com arraste a vapor.

2.3.3 Extração com Dióxido de Carbono Supercrítico (CO₂Sc)

A Extração com Fluido Supercrítico (EFS) é uma tecnologia limpa e ambientalmente adequada. Suas vantagens são a alta seletividade na extração e pureza dos extratos, reduzindo consideravelmente as etapas de purificação com solventes orgânicos. Os extratos são considerados de alta qualidade sem os resíduos remanescentes de processos com grandes

volumes de solventes e com tempo de extração moderados (PEREIRA & MEIRELES, 2010; FORNARI et al., 2012; AFTAB et al., 2014).

O processo que utiliza o dióxido de carbono consiste na operação unitária de contato, no qual o CO₂ é elevado acima da temperatura e pressão críticas ($T_c = 31,06 \text{ °C}$ e $P_c = 73,4 \text{ bar}$), região na qual o CO₂ é considerado um fluido supercrítico (solvente) (QUIPE-CONDORI, 2005). Um fluido supercrítico apresenta força solvente significativa quando são comprimidos a densidades da fase líquida (MCHUGH & KRUKONIS, 2013). Uma das principais vantagens dessa tecnologia é que a densidade do fluido supercrítico (solvatação) pode variar com mudanças da temperatura e pressão de operação, possibilitando a alteração das condições operacionais para facilitar a extração de compostos com características específicas (MEIRELLES, 2013). Tal característica também possibilita a otimização das condições ideais para o processo (QUIPE-CONDORI, 2005).

A EFS consiste basicamente em duas etapas principais, conforme ilustra a Figura 8. Na primeira ocorre a extração das substâncias solúveis do substrato sólido pelo solvente dióxido de carbono supercrítico e na segunda etapa é realizada a separação dos compostos do solvente supercrítico depois da expansão (PEREIRA & MEIRELES, 2010; MEIRELLES, 2013).

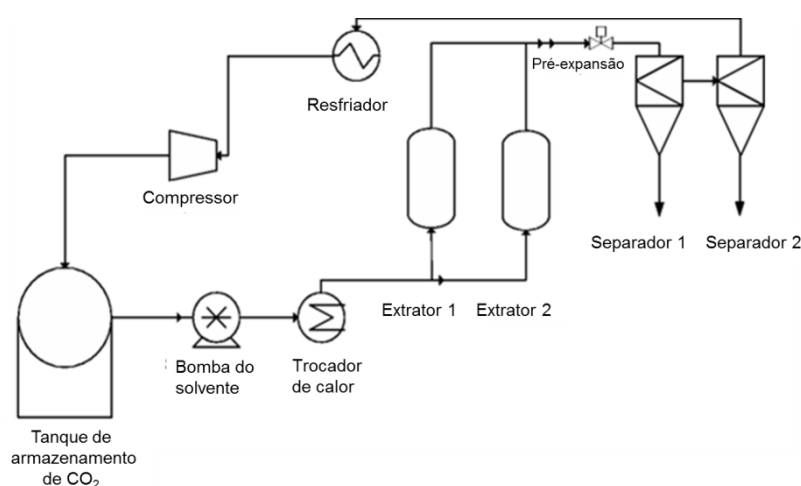


Figura 8 - Diagrama do processo de extração com fluido supercrítico; o sistema contém controladores de temperatura e pressão não mostrados. MEIRELES, 2013.

De acordo com Martinez et al. (2007) e Pereira & Meireles et al. (2010), estudos sobre EFS revelaram investimentos relativamente elevados, o que mantiveram a tecnologia longe de ser considerada uma alternativa. Mas apesar da EFS estar associada a elevados investimentos, outros estudos recentes têm demonstrado que a tecnologia é uma opção economicamente viável para extração de produtos a partir de matérias-primas vegetais em escala industrial com alto valor agregado, desde que em condições otimizadas de operação (PRADO et al., 2012; LEITÃO et al., 2013; MARTINEZ-CORREA et al., 2016). Santos (2011), afirma que a EFS tem sido uma boa escolha para quem trabalha em condições de temperaturas brandas, o que resulta na redução da degradação do produto obtido. O dióxido de carbono é inerte, não inflamável, não explosivo e possui baixo custo de aquisição.

As substâncias de interesse neste estudo foram anteriormente isoladas com fluido supercrítico e avanços já foram obtidos: Christen et al. (2001) testou novas tendências na extração, identificação e quantificação de artemisinina e seus derivados, a extração com dióxido de carbono supercrítico (CO₂Sc) com o cossolvente etanol ofereceu rendimentos de 0,50% em base seca (b.s.) e segundo Tzeng (2007), a adição de 16,25% de etanol como cossolvente (pressão 240 bar e temperatura 40 °C) resultou no maior rendimento de artemisinina com recuperação de 96%. Posteriormente, Quispe-Condori et al. (2005) extraíram a artemisinina a partir da *A. annua* com CO₂Sc e determinaram as isotermas de rendimento global de artemisinina nas temperaturas e 30 °C e 50 °C e pressão na faixa de 75 – 400 bar, também cinética de extração. Os rendimentos globais máximos foram obtidos a 30 °C e 150 bar (0,62% b.s.) e 50 °C e 300 bar (0,70% b.s.).

Para a *V. curassavica* (QUISPE-CONDORI, 2005), o máximo de rendimento de extrato obtido (3,6% b.s.), em etapa única de extração, foi na temperatura de 60 °C e pressão de 300 bar. Já na extração em três etapas o rendimento global foi de 3,1%, sendo a maior parte do extrato (48,4%) obtida a 200 e 300 bar. Michielin et al. (2009) encontrou rendimentos de extrato de 5,0% (b.s.) para pressão de 300 bar e temperatura de 50 °C.

2.4 PURIFICAÇÃO DE COMPOSTOS DE ORIGEM NATURAL - ARTEMISININA

O processo de purificação de determinadas substâncias envolve uma série de etapas sucessivas que além de causar perda o composto alvo até sua purificação total, pode tornar o processo de obtenção inviável financeiramente. Para que o custo do produto não atinja valores altos, estas etapas devem ser convenientemente planejadas, visando a obtenção do máximo de rendimento e pureza, além de custos compatíveis com os de mercado. Para a extração e cristalização de artemisinina de alta pureza, obtida da planta *A. annua* com o solvente etanol (RODRIGUES et al., 2005), o processo de purificação otimizado conta com sucessivas etapas de filtração com carvão ativo, uso de coluna cromatográfica entre outras etapas. Para extratos preparados a partir de dióxido de carbono supercrítico, Meireles & Rosa (2010) descrevem a sequência de etapas necessárias para a obtenção de extratos com alto teor de artemisinina, no qual após a extração com CO₂Sc obtém-se CO₂ e droga vegetal dissolvida; uma segunda etapa de purificação que consiste em um contato entre CO₂ e extrato vegetal dissolvido com uma fase fixa polar em uma coluna fracionadora ; e uma terceira etapa de eluição que consiste em um contato entre mistura de CO₂ e co-solvente com fase fixa polar na coluna fracionadora.

Quando se trata de processos de síntese de moléculas naturais, a quantidade do composto alvo, geralmente é muito baixa dificultando o processo de extração. Além disso, o extrato é formado frequentemente por centenas de compostos que dificultam a separação química entre os constituintes bioativos e os demais componentes. E a associação de compostos com propriedades químicas e físicas semelhantes as do composto alvo influenciam significativamente o desempenho dos processos de separação (TZENG et al., 2007; QU et al., 2009; MALWADE et al., 2013).

Cada método de purificação tem suas peculiaridades operacionais. Quanto maior a complexidade de composição do extrato mais etapas de purificação são necessárias, e a cada etapa acrescida ocorre a perda de parte do produto desejado e o aumento do custo de produção. Tais processos envolvem ciclos de cristalização, adsorção com carbono ativado, extração líquido-líquido com solventes e coluna cromatográfica com sílica gel ou outro

material adsorvente etc (ELSOHLY et al., 1990; HAYNES & VONWILLER, 1994; CHRISTEN & VEUTHEY, 2001; LAPKIN et al., 2006; CUTLER & LAPKIN, 2007; KUHN & WANG, 2007; BRIARS & PANIWNKYK, 2014).

A cristalização é um método mais efetivo e barato para purificação de produtos sólidos naturais com alta qualidade. Todavia, o seu desempenho é fortemente dependente da presença e tipo de impurezas no extrato a ser purificado, lubrificação dos compostos alvo e *transformação* da fase cristal (QU et al., 2009; RODRIGUES et al., 2006). A utilização da concentração exata de carvão ativado é fundamental para o sucesso da cristalização, pois carvão ativado em excesso pode remover tanto parte da artemisinina extraída bem como impurezas (BRIARS et al., 2014)

A partição de Sistemas Aquosos Bifásicos (SAB) vem sendo empregada com sucesso na purificação de proteínas e de outros materiais de origem biológica (ZUÑIGA et al., 2003). É uma técnica com execução simples, não exige equipamento especial e além ser de simples operação, é ampliável e os solventes são selecionados de acordo com a mistura a ser purificada. Suas limitações são o poder de separação limitada e formação frequente de emulsões problemáticas com dificuldade em automação (MALWADE et al., 2013).

A separação por cromatografia é uma técnica de separação de biocompostos bastante eficiente para uma ampla gama de biomoléculas (MALWADE et al., 2013). As separações cromatográficas consistem na partição do soluto entre uma fase móvel e outra estacionária. Comumente, a fase estacionária é sólida, sendo formada por matriz de partículas empacotadas em coluna de forma tubular. A fase móvel que contém a mistura de componentes a serem separados passa através da coluna. A alimentação é introduzida na coluna como um pulso e os componentes individuais são separados devido à sua distribuição diferencial entre as fases (ZUÑIGA et al., 2003). Como desvantagem, a utilização da cromatografia no procedimento de separação de moléculas consome grandes volumes de solvente o que pode elevar os custos para o particionamento, e cromatografia em coluna de gel de sílica é dispendiosa e trabalhosa, devido à exigência para uma elevada proporção de soluto: gel de sílica de 01:44 (KUHN & WANG, 2007; LIU et al., 2011; MALWADE et al., 2013; TZENG et al., 2007).

2.5 SEMISSÍNTESE DE ARTEMISININA

A artemisinina tem ação antimalárica potente comprovada. Contudo, devido a sua baixa solubilidade em água e em óleo, vários análogos modificados foram sintetizados (VIEGAS Jr et al., 2006). Atualmente ela é utilizada como IFA na fabricação da TCA em várias formas semissintéticas: Artemer 80 mg.mL⁻¹ solução injetável, Artesunato 60mg.mL⁻¹ pó liofilizado, Artemer/Lumefantrina 20/120 mg comprimido, Artesunato/Mefloquina 100/220 mg e 25/55 mg comprimido (FRAGOSO, 2014). Gilmore et al (2014), reporta o processo contínuo de semissíntese de artemisinina, ilustrado na Figura 9, o qual garante aumento de qualidade e segurança do produto e menor impacto ambiental. O artesunato de sódio é solúvel em água e é rapidamente hidrolisado após a ingestão.

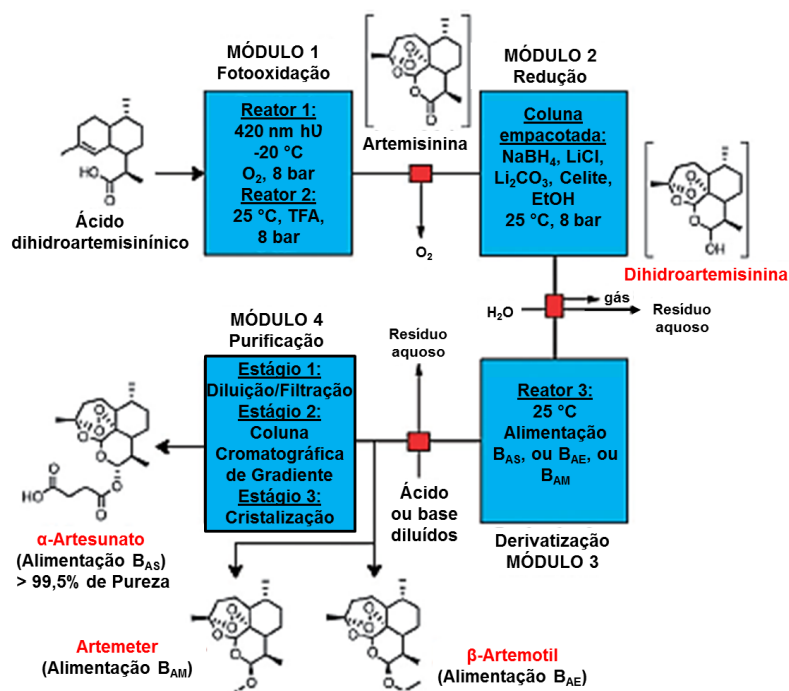


Figura 9 - Sistema de quatro módulos para síntese e purificação contínuas de artemisinina (em vermelho). TFA: Ácido trifluoracético, EtOH: Etanol. Gilmore et al. (2014).

2.6 AVALIAÇÃO ECONÔMICA

A avaliação econômica é um tema de grande importância na área de Engenharia Econômica, e trata-se da análise de viabilidade econômica de um projeto de investimento (PI). Ela realiza a análise das informações referentes ao projeto em questão e define se o mesmo é rentável a curto ou longo prazo. Este PI pode estar relacionado a qualquer ramo de atividade, desde indústrias de transformação de matéria-prima até comércio em geral, e pode estar situado na área de empresas públicas quanto privadas, pois o objetivo principal do projeto é geração de receita e lucro (SCHMIDELL et al., 2001).

Para a execução das avaliações econômicas existem metodologias de análise de rentabilidade e de riscos associados ao PI, como a metodologia clássica de análise de investimentos e Metodologia Multi-Índice Ampliada. Além de ferramentas como o aplicativo web Sistema de Análise de Viabilidade Econômica de Projetos de Investimento (\$AVEPI) e o software SuperPro Designer® 8.5, os quais auxiliam e agilizam a condução do estudo econômico.

2.6.1 Método clássico de análise de investimentos

Este método avalia o risco envolvido na execução do PI pela Taxa Mínima de Atratividade (TMA) e a análise da viabilidade econômica do investimento geralmente é centrada em três indicadores: Valor Presente Líquido (VPL), cujo critério de aceite do projeto basta que o VPL supere zero ($VPL > 0$); Taxa Interna de Retorno (TIR), sendo que sempre que a condição TIR resultar maior que a TMA ($TIR > TMA$) o projeto mostra-se viável e é recomendado; e o *Pay-back*, como medida do tempo necessário para recuperar o capital investido (HARZER, 2015).

2.6.2 Metodologia Multi-Índice de análise de investimentos (MMI)

A MMI (SOUZA e CLEMENTE, 2009) consiste em avaliar os graus de retorno e risco do PI conjuntamente, analisando dois grupos de indicadores e proporcionando maior clareza em aceitar ou rejeitar a execução do PI. Os indicadores de retorno utilizados são VPL, VPLa, IBC e ROIA. Os de risco são TMA/TIR, *Payback/N*, Grau de Comprometimento da Receita (GCR), Risco de Gestão e Risco de Negócio. Os indicadores oscilam de 0 (ausência de risco) a 1 (risco máximo) em uma escala numérica (DAROS et al., 2017).

2.6.3 Metodologia Multi-Índice Ampliada (MMIA)

A MMIA é uma ampliação da MMI de análise de investimentos (SOUZA e CLEMENTE, 2009), e teve a incorporação de Limites de Elasticidade (LEs) e Valores-Limite (VLs) para melhorar a percepção dos riscos por meio da Análise de Sensibilidade (AS) (DAROS et al., 2017). Ela é a ampliação dos indicadores de viabilidade econômica do PI da MMI por Lima et al. (2015) e Lima et al. (2017a). A MMIA pode ser empregada em estudos econômicos de PI utilizando a abordagem determinística ou estocástica com Simulação de Monte Carlo.

2.6.3.1 Abordagem Determinística

A abordagem determinística da MMIA inclui uma Análise de Sensibilidade (AS) além dos indicadores de retorno e de riscos da MMI (SOUZA e CLEMENTE, 2009). Esta AS é realizada por meio de Limites de Elasticidade (LEs) e Valores-Limite (VLs).

2.6.3.2 Abordagem Estocástica - Simulação de Monte Carlo (SMC)

A SMC constrói centenas ou milhares de cenários possíveis e suas respectivas distribuições probabilísticas para simular os riscos envolvidos em um PI em ambientes incertos (DAROS et al., 2017). De acordo com Lima et al. (2017a) a SMC *“pode ser amplamente utilizada na avaliação de projetos, na qual os riscos envolvidos podem ser expressos de forma simples e de fácil leitura, e as simulações auxiliam a decisão. Assim, os indicadores deixam de ser determinísticos e passam a ser estocásticos (ou probabilísticos)”*.

2.6.3 Ferramentas computacionais para estudos econômicos

O Sistema de Análise de Viabilidade Econômica de Projetos de Investimento (\$AVEPI) é uma ferramenta computacional, e de acordo com Lima et al. (2017), o \$AVEPI consiste em um sistema que reúne elementos de Matemática Financeira e Sistemas de Amortização, e é utilizado com ferramenta para estudos de viabilidade econômica de PIs. Ele também oferece três ferramentas úteis para analisar e compreender os riscos no projeto: análise de sensibilidade, análise de cenários e Simulação de Monte Carlo.

O SuperPro Designer® é um software utilizado há mais de 20 anos por profissionais das mais variadas áreas industriais e acadêmica, na simulação de processos para solucionar problemas na avaliação de economia e rentabilidade do processo, avaliação de impacto ambiental, emissão de relatórios entre outros (SuperPro Designer®, 2018). Ele possui um banco de dados com informações atualizadas de inúmeros insumos e equipamentos utilizados em processos industriais, além de ter a flexibilidade de possibilitar alterações no processo e realizar simulações utilizando dados reais empíricos.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 MATERIAL VEGETAL: CULTIVO E CARACTERIZAÇÃO

Para obtenção de material vegetal de alta qualidade, utilizou-se na presente pesquisa um genótipo de *A. annua* (Genótipo B24 - variedade 2/39x5x3M) com alto rendimento de artemisinina (BOLINA et al., 2014), juntamente com informações de tratos culturais (PALADINI, 2012; CAPELIN, 2012) e práticas pós-colheita (MARCHESE & FIGUEIRA, 2005). As plantas de *A. annua* foram cultivadas na Área Experimental da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, campus de Pato Branco (26°07'S e 52°41' W - 760 m altitude). Clima Cfa subtropical (KÖPPEN, 1948) e solo pertencente à unidade de mapeamento Latossolo Vermelho Distroférico Úmbrico, textura argilosa, álico, fase floresta subtropical perenifólia, relevo ondulado (BHERING et al., 2009).

O primeiro lote de *V. curassavica* foi doado pela empresa Treetech Óleos Essenciais de Pato Branco - PR, já o segundo foi cultivado também na área experimental da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, campus de Pato Branco. A exsicata da planta está depositada no herbário da Unicamp, sob número UEC 112744.

O material vegetal foi colhido e seco em secador com circulação forçada de ar (Macanuda Hauber, modelo MS-G, Joinville, Brasil) a 40 °C. Após secas as folhas foram moídas em moinho de facas (Marconi, modelo MA340, Piracicaba, Brasil) usando uma abertura de lâmina de 1.5 mm. O material moído foi classificado de acordo com o tamanho da partícula utilizando um sistema vibratório (Bertel, modelo 1868, Caieiras, Brasil) com peneiras de malha 8-100 mesh (WS Tyler, Wheeling, USA). Partículas de 48 – 80 mesh foram usadas. A umidade do material vegetal foi determinada por perda de massa em câmara de secagem com circulação de ar forçada (Farmacopédia, 1988).

3.2 EXTRAÇÃO CONVENCIONAL COM MACERAÇÃO A FRIO COM ETANOL – *A.*

annua

Os extratos etanólicos foram preparados de acordo com a metodologia de Rodrigues et al. (2005), em que são utilizados dois tranques extratores em série, o primeiro tanque é alimentado com a planta seca e moída juntamente com a primeira porção de etanol 96°GL e mantido sob agitação mecânica contínua por 1,5 h a temperatura ambiente. O extrato resultante do tanque 1 é filtrado e *transferido* para o tanque 2, sendo utilizado como líquido extrator para uma nova porção da droga vegetal; enquanto o tanque 1 é alimentado novamente com mais uma carga de etanol 96°, e o processo mantido em agitação por mais 1,5 h. A operação é conduzida três vezes, totalizando três extratos que são reunidos para posterior evaporação do solvente e quantificação de artemisinina. A obtenção dos extratos foi realizada em triplicata.

3.3 EXTRAÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL COM HIDRODESTILAÇÃO – *A. annua* e *V.*

curassavica

Para a extração dos óleos essenciais, de ambas as plantas em escala de bancada, foi utilizado o sistema apresentado na Figura 10: que consta de (A) manta de aquecimento (WEA, modelo 100002); (B) balão de fundo redondo de 1000 mL com boca esmerilhada; (C) coluna ascendente com junta esmerilhada; (D) condensador; (E) tubo graduado a qual apresente torneira na extremidade inferior; (F) Tubo de retorno.

No balão B foi adicionado o material vegetal previamente seco e moído e 500 mL de água destilada. O balão B foi acoplado a C e levado a ebulição com o auxílio de uma manta de aquecimento A, posteriormente o vapor sofreu o processo de condensação durante 3 h para *A. annua* e 4 h para *V. curassavica*. Ao fim do período de refluxo o óleo, juntamente com hidrolato, ficou retido no tubo graduado e foram coletados em tubos de ensaio, centrifugados a 1000 rpm por 10 min para separação da mistura, seguido da retirada do óleo essencial com o

auxílio de uma pipeta de Pasteur para posterior pesagem e cálculo de rendimento. A obtenção de óleo essencial de cada droga vegetal foi realizada em triplicata para redução de erros experimentais. Os resultados das extrações com hidrodestilação, das duas drogas vegetais, foram comparados à destilação com arraste a vapor e utilizados para os estudos técnico-econômicos.

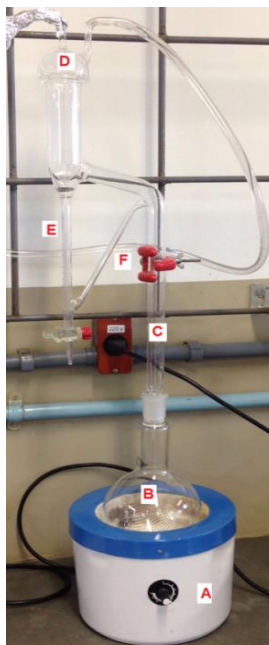


Figura 10 - Aparelho Clevenger. UTFPR Câmpus Pato Branco, 2015.

3.4 EXTRAÇÃO COM DIÓXIDO DE CARBONO SUPERCRÍTICO

As extrações com dióxido de carbono supercrítico foram realizadas no Laboratório de Separações Físicas LASEFI/DEA/FEA - UNICAMP. A unidade comercial em escala de laboratório de CO₂Sc (MV-10 ASFE System, Waters, Milford, USA) foi utilizada para obter os extratos de *A. annua* e *V. curassavica*. Na Tabela 1 estão descritas as condições operacionais utilizadas nas extrações realizadas nas duas espécies vegetais.

O equipamento MV-10 ASFE é um extrator com células múltiplas de extração que opera em modo semiautomático, com CO₂ com ou sem cossolvente. A unidade é equipada

com vasos de extração de 5 cm³ ou 25 cm³. Neste trabalho, o vaso de extração de 25 cm³ foi utilizado, preenchido com aproximadamente 10 g da droga vegetal.

Tabela 1 - Condições operacionais para as extrações dos diferentes sistemas usando dióxido de carbono pressurizado. UTFPR Câmpus Pato Branco, 2017.

Sistema	Massa Alimentação (g)	Temperatura (°C)	Etapas	Pressão (bar)	Vazão Total (g.min ⁻¹)	Vazão CO ₂ (%)	Vazão Etanol (%)
<i>A. annua</i>	10	40/50/60	1	200/250/300	2	100/85/75	0/15/25
<i>V. curassavica</i> (lote 1)	10	40/60	1	100/150/200/250/300	2	100	0
<i>V. curassavica</i> (lote 2)	10	60	1	300	2	100	0
<i>V. curassavica</i> (lote 2)	10	60	3	80 – 200 – 300	2	100	0

O leito de material vegetal foi preparado por empacotamento manual das partículas sólidas dentro da coluna de extração de 8 mL mostrado na Figura 11.



Figura 11 – Coluna de extração usada no MV-10 ASFE de 8 ml. LASEFI/FEA/UNICAMP Campinas, 2016.

Uma lâmina de lã de vidro foi colocada em ambos os lados da coluna de extração para evitar o arraste de partículas pelo solvente. A coluna de extração foi acoplada no forno do equipamento (Figura 12).

Um período estático de 15 min foi usado para permitir o contato entre as partículas e o fluido supercrítico. A taxa do fluxo de massa de CO₂ (Gama Gases Especiais, 99%, Campinas, Brazil) foi variável de acordo com o nível de cossolvente. O extrato foi coletado em frascos de vidro refrigerados para reduzir a quantidade de compostos voláteis no fluxo de saída de gás. O CO₂ foi circulado na coluna de extração até que não existisse nenhum extrato perceptível deixando o sistema (aproximadamente 25 min). A linha do tubo após a coluna de extração foi lavada com etanol para recuperar o extrato depositado nele. O solvente foi

separado do extrato usando o sistema de rotovap. A massa total do extrato foi determinada pela soma do extrato obtido durante a extração e o obtido pelo processo de limpeza (QUISPE-CONDORI, 2005).

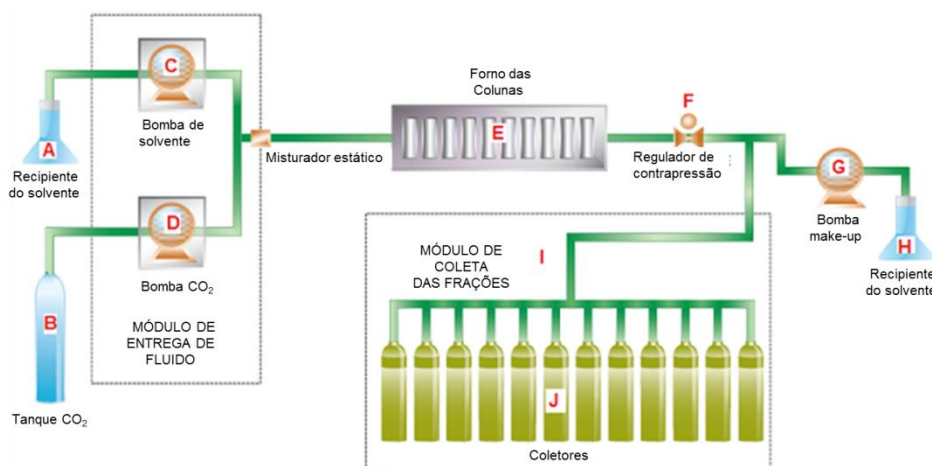


Figura 12 - Componentes do equipamento MV-10 extrator com fluido supercrítico. Adaptado de Waters, 2012.

Baseado em estudos anteriores (QUISPE-CONDORI et al., 2005), a taxa de fluxo de massa para *A. annua* foi estabelecida em $2,0 \text{ g}\cdot\text{min}^{-1}$, e a razão de solvente (S) e alimentação de material cru (F) foi mantida constante em $S/F = 5,0$. Para as extrações com *V. curassavica* a taxa de fluxo de massa também foi estabelecida em $2,0 \text{ g}\cdot\text{min}^{-1}$, e a razão $S/F = 12$.

3.4.1 Planejamento Experimental e Análise Estatística

Foram realizados três planejamentos para preparação dos extratos das duas drogas vegetais CO_2Sc , sendo que para a espécie *A. annua* foram testadas três temperaturas (40, 50 e 60 °C), três pressões (200, 250 e 300 bar) e três níveis de cossolvente (0, 15 e 25%), resultando em um trifatorial com 27 pontos diferentes sem repetição (Planejamento experimental - Apêndice A). Para a *V. curassavica* no primeiro planejamento foram testadas duas temperaturas (40 e 60 °C) e cinco pressões (100, 150, 200, 250, 300 bar) resultando em um bifatorial com 10 pontos diferentes com 2 repetições (Planejamento experimental -

Apêndice B). E no segundo planejamento para *V. curassavica* foram realizadas extrações sequenciais com três pressões diferentes (80, 200 e 300 bar) na temperatura de 60 °C com 2 repetições, e extração em uma etapa na pressão de 300 bar e temperatura de 60 °C com 2 repetições . O efeito dos parâmetros foi determinado pela análise de variância (ANOVA) utilizando Minitab 16® (Minitab Inc, State College, USA) com 95% de nível de confiança.

3.5 COMPOSIÇÃO QUÍMICA DOS EXTRATOS

3.5.1 Extratos de *A. annua*

Para a análise dos extratos de *A. annua* foi utilizado cromatógrafo líquido de alta eficiência (Waters, 515, Pittsburg, USA) com detector de índice de refração (IR-Waters, 2414, Pittsburg, USA). A separação dos compostos foi realizada em coluna ciano (Luna CN, 5 μ , 250 \times 4,6 mm, Phenomenex, USA), a 35 °C. As separações foram realizadas em modo isocrático, usando metanol: água (60:40 v/v) uma vazão de 1 mL.min⁻¹ com volume de injeção de 20 μ L; a temperatura de detector e coluna foi 35 °C. A determinação do conteúdo de artemisinina no material vegetal foi realizada pelo método de padrão externo. Soluções estoque de padrão externo (C₁₅H₂₂O₅ – CAS 63968-64-9, 98% Sigma-Aldrich, Missouri, USA) nas concentrações de 550, 750, 1000, 1250 e 1500 μ g.mL⁻¹ foram utilizadas (CELEGUINI et al., 2009).

3.5.2 Óleo essencial e extratos de *V. curassavica*

Os extratos obtidos com CO₂Sc, e óleo essencial com destilação por arraste a vapor de *V. curassavica* foram separados, quantificados (Método de normalização de área) e identificados em cromatógrafo gasoso (GC-EM – Shimadzu, GC 15, Kyoto, Japan), equipado com uma coluna capilar de sílica fundida DB-5 (J&W Scientific, 5% fenil 95% dimetilpolisiloxano, 30 m \times 0.25 mm i.d. \times 0.25 μ m, Folsom, USA), acoplado a um

espectrômetro de massas (CG-EM, Shimadzu, QP-5000), operando por impacto de elétrons (70eV).

As condições operacionais e procedimento analítico foram conduzidos conforme a seguinte descrição: Temperatura do injetor 220 °C, e detector: 230 °C; gás de arraste: hélio na vazão de 1 mL.min⁻¹; A diluição utilizada foi de 1 µL de amostra em 1 mL de acetato de etila. Volume de injeção: 1 µL. Programa de temperatura: 60 °C - 240 °C, 3 °C.min⁻¹.

A identificação das substâncias foi efetuada através da comparação dos seus espectros de massas com o banco de dados do sistema CG-EM (Nist. 62 lib.) e índice de retenção (ADAMS, 2007). Os índices de retenção de Kovats (IR) das substâncias foram obtidos a partir da mistura padrão de hidrocarbonetos (C₉-C₂₄), aplicando-se a equação de Van den Dool & Kratz, 1963.

3.6 AVALIAÇÃO ECONÔMICA

3.6.1 Espécie *A. annua*

A avaliação econômica da produção dos extratos de *A. annua* por CO₂Sc e pelo processo convencional de extração com maceração a frio com etanol foi realizada utilizando a ferramenta de custos do simuladora SuperPro Designer® versão 8.5 (Intelligen Inc., Scotch Plains, USA). Para obter rendimentos em escala industrial, foi assumido que durante um determinado tempo de processo, o comportamento de extração tem o mesmo desempenho que o obtido experimentalmente na unidade de escala de laboratorial quando a proporção de alimentação do solvente e os parâmetros operacionais (temperatura, pressão, densidade e porosidade) são mantidos constantes (VEGGI, CAVALCANTI, & MEIRELES, 2014). Informações de rendimentos de extração alcançados em condições fixas de operação, como temperatura, pressão, densidade aparente, porosidade diâmetro médio de partícula e relação de solvente e massa de planta de alimentação (S/F), foram utilizadas como informações de

entrada para o modelo. As condições operacionais assumidas na simulação são mostradas na Tabela 2.

Tabela 2 - Parâmetros principais adotados para simulação do processo de extração de artemisinina com dióxido de carbono supercrítico e convencional com etanol. UTFPR Câmpus Pato Branco, 2017.

	Fluido supercrítico		Convencional
Solvente	CO ₂ Sc		Etanol
Razão entre massa de solvente e planta (S/F)	5		7,5
Tempo de extração (min)	60		180
Densidade aparente do leito (ϵ)	0,3		-
	<i>Condição 1</i>	<i>Condição 2</i>	
Pressão de extração (bar)	250	200	1,0
Temperatura de extração (°C)	60	50	25
Rendimento de extração (%)	6,9	3,3	12,4
Conteúdo de artemisinina no extrato (%)	11,5	23,4	0,76
Pressão de recuperação de etanol (bar)	-	-	1,0
Temperatura de recuperação de etanol (°C)	-	-	50

Como, em geral, as matérias-primas utilizadas para a obtenção de compostos bioativos não são commodities e são cultivadas em pequenas quantidades, plantas de extração com CO₂Sc com grande capacidade não são obrigatórias e recomenda-se que comece com extrator de 10-100 L e, se necessário, aumentar a capacidade adicionando mais extractores, a Figura 13 ilustra a unidade de extração com CO₂Sc, composta por dois vasos de extração que operam em modo semi contínuo, bomba para líquido e dois trocadores de calor.

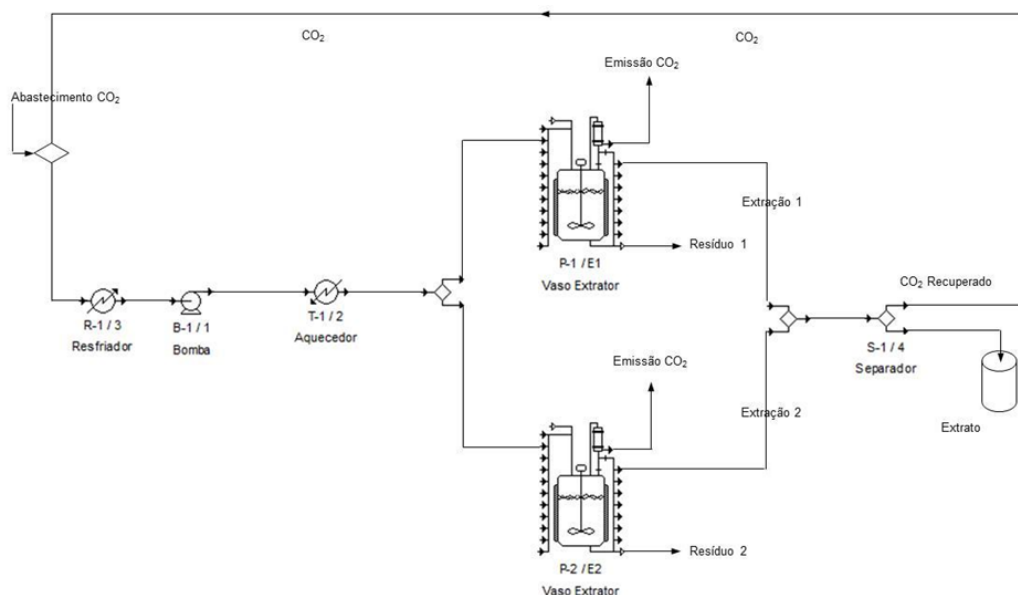


Figura 13 – Diagrama de fluxo para o processo de obtenção de extratos de *A. annua* e *V. curassavica* com dióxido de carbono supercrítico. UTFPR Câmpus Pato Branco, 2017.

O processo de extração convencional com etanol requer 2 dornas de extração de 480 L, conforme Figura 14, para processar a mesma quantidade de *A. annua* usada em dois vasos de extração de 100 L, duas bombas para líquido, filtro, evaporador, bomba de vácuo e condensador.

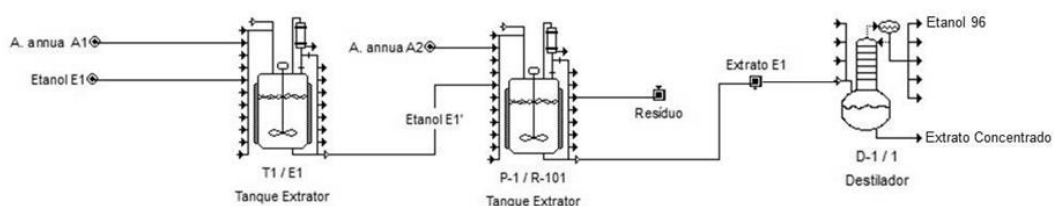


Figura 14 – Diagrama de fluxo para o processo de extração de artemisinina com etanol. UTFPR Câmpus Pato Branco, 2017.

3.6.1.1 Parâmetros para Avaliação Econômica

A análise econômica primeiramente avalia o capital de investimento total de cada processo de extração (CO₂Sc e extração convencional com etanol). O capital de investimento total refere-se aos custos fixos que são associados com o processo e inclui o capital fixo direto, capital de operação e custos para abertura da empresa. O capital fixo direto (CFD) representa o investimento fixo do projeto, como planta física e equipamentos e é calculado pela soma dos custos direto, indireto e diversos que são associados com o capital de investimento da planta. Os custos diretos incluem elementos que são diretamente relacionados ao investimento, tais como custos com equipamentos, tubulações do processo, instrumentação, edificações, instalações, etc (Tabela 3). Os custos para equipamentos de extração com fluido supercrítico (EFS) de diferentes tamanhos são estimados de acordo com o “Power Law” (Eq. 2), onde: C_E é o custo do equipamento com capacidade Q ; C_B é a conhecida base de custo para equipamento com capacidade C_B ; e M é a constante que depende do tipo do equipamento, pois o custo de um item específico do equipamento é em função do tamanho, materiais e construção, projetos de pressão e temperatura (ZABOT et al.,

2015). Valores de M foram obtidos na literatura (PERRY & GREEN, 1997; PETERS, TIMMERHAUS, & WEST, 2003; SMITH, 2005; TURTON, BAILIE, & WHITING, 2009). O CFD foi estimado no simulador SuperPro seguindo o padrão de se utilizar fatores de custo em relação ao valor de compra para estimar todos os outros fatores de custo. A Tabela 3 mostra a base de custo adquirido em 2016 (cotação local, incluindo taxas de importação para os itens não produzidos no Brasil), e os custos finais dos equipamentos de EFS de diferentes tamanhos estimados de acordo com o “*Power Law*” estão disponíveis no Apêndice C para 5 e 50 L, e Apêndice D para 100 e 500 L.

$$C_E = C_B \left(\frac{Q}{C_B} \right)^M \quad (1)$$

Os custos indiretos incluem custos que são diretamente relacionados ao investimento, tais como engenharia e construção. Custos adicionais como taxas do empreiteiro e de contingências estão inclusas nos custos diversos. O capital de giro foi calculado multiplicando a quantidade de dias cobertos pelo custo unitário correspondente por dia. O número de dias considerado para estimar o capital de giro foi 30 dias. Finalmente, os custos de inicialização incluem pré-lançamento, despesas únicas incorridas para preparar uma nova fábrica para operação e foi calculada pelo simulador com base na porcentagem especificada (5%) do CFD. Os custos de operação incluem custos relacionados à demanda de vários recursos (matéria-prima, consumíveis, mão-de-obra, instalações de aquecimento/refrigeração e energia elétrica), bem como custos operacionais adicionais (tratamento de resíduos, instalações, transporte, custos de venda, royalties, etc.). O custo com tratamento de resíduo foi negligenciado, pois os sólidos gerados no processo de extração podem ser utilizados como matéria-prima para obtenção de outros produtos (VARDANEGA, PRADO & MEIRELES, 2015; MARTINEZ-CORREA et al., 2016), para produção de energia através de conversão de biomassa (PRADO et al., 2014), como biossorvente para remover íons de metais pesados (ALBARELLI, RABELO, SANTOS, BEPPU, & MEIRELES, 2011), ou até mesmo como fonte nutricional para vários setores agrícolas (ODLARE et al., 2011). Os custos de supervisão e administrativos, bem como os benefícios trabalhistas, foram estimados pelo simulador, tomando o salário base como referência. Os custos da matéria-

prima incluem a aquisição, *transporte* e custos de preparação das folhas secas de *A. annua*. Os custos com serviços de utilidade pública são devidos ao consumo de energia envolvido nos trocadores de calor, destilador e na eletricidade consumida durante os processos. Os custos com aquisição de CO₂ incluem perdas do gás durante a etapa de descompressão do vaso de extração e o CO₂ que permanece dissolvido no extrato após a etapa de separação, que foi experimentalmente estimada em 2% em peso. O número de operadores necessários para operação da planta produtiva foi considerado de acordo com o tamanho da mesma. Alguns estudos relatam 1 a 3 operadores para capacidades de vasos de extração que variam de 5 L a 500 L (PRADO et al., 2014; VEGGI et al., 2014) (Tabela 4).

Tabela 3 - Base de custo para os equipamentos que compõem a planta de extração com fluido supercrítico. UTFPR Câmpus Pato Branco, 2017.

	M ^a	Unidade base de custo (R\$) ^{5L}
Vaso de extração enjaquetado	0,82	39.295,64
Aquecimento	0,59	6.519,36
Refrigeração	0,59	7.217,15
Bomba CO ₂	0,55	77.167,20
Vaso de separação	0,49	9.489,95
Medidor de vazão	0,60	24.921,15
Tanque de armazenamento de CO ₂	0,49	6.816,12
Válvula de retenção	0,60	5.624,80
Válvula micrométrica	0,60	3.444,40
Válvula de bloqueio	0,60	695,20
Válvula de segurança	0,60	979,60
Manômetro	-	1.295,60
Controlador de temperatura	0,60	979,60
Tubulação, conectores, cruzetas, misturadores e separadores	0,60	11.565,60
Material estrutural para suporte dos equipamentos	0,60	12.829,96

M Constante dependente do tipo do equipamento.

^{5L} Baseado em planta de extração com 2 vasos extratores de 5 L.

^a Baseado nas referências (Perry & Green, 1997; Peters et al., 2003; Smith, 2005)

A matéria-prima utilizada será proveniente de compra de fornecedor, e o custo de produção do quilograma da folha seca da espécie *A. annua* (Tabela 4) foi calculado baseando-se na referência Bragatto et al. (2003), tendo como base a planilha de custo para a cultura de capim limão (*Cymbopogon citratus*), com as devidas alterações de informações específicas para cultura de *A. annua*, e atualização de valores de material de consumo e mão de obralocal. O espaçamento entre plantas de plantio utilizado para cálculo foi de 1x1 m para uma área de 1 hectare, resultando em 10.000 plantas.ha⁻¹, a adubação utilizada conforme recomendação para

produtividade de 10.000 Kg.ha⁻¹ para cultura do milho (conforme Comissão Brasileira de Fertilidade do Solo), conforme Paladini (2012), na formulação 5-20-20 (140 Kg de N; 135 Kg.ha⁻¹ de P₂O₅, 120 Kg.ha⁻¹ de K₂O), sendo o nitrogênio distribuído em três doses, sendo uma na base e duas em cobertura. A produção de massa de folha seca assumida de 4000 kg.ha⁻¹ (LAPKIN et al., 2006, Capelin, 2012). A planilha de cálculo encontra-se disponível no Apêndice E.

Tabela 4- Principais dados de entrada para a análise econômica. UTFPR Câmpus Pato Branco, 2017.

<i>Equipamento Industrial EFS</i>	
2 vasos de extração de 5 L	R\$ 243.550,07
2 vasos de extração de 50 L	R\$ 1.270.695,33
2 vasos de extração de 100 L	R\$ 1.922.578,80
2 vasos de extração de 500 L	R\$ 5.473.586,49
<i>Equipamento Industrial Convencional</i>	
2 vasos de extração de 480 L ^c	R\$ 336.000,00
<i>Mão de obra (salário base)</i>	R\$ 18,96 h ⁻¹
2 vasos de extração de 5 L	1 operador
2 vasos de extração de 50 L	3 operadores
2 vasos de extração de 100 L	3 operadores
<i>Matéria-prima</i>	
<i>A. annua</i> ^a	R\$ 2,93 kg ⁻¹
Dióxido de Carbono ^b	R\$ 5,97 kg ⁻¹
Etanol ^c	R\$ 2,37 kg ⁻¹
Eletricidade ^c	R\$ 0,63 kWh
CaCl ₂ (fluido refrigerante) ^c	R\$ 0,79 ton métrica ⁻¹
Vapor (Alta pressão) ^c	R\$ 63,20 ton métrica ⁻¹
<i>Produto</i>	
Artemisinina ^d	R\$ 474,00 kg ⁻¹

^a Cálculo do valor do quilograma de folhas secas baseado em Bragatto et al, 2003 – Apêndice E.

^b Cotação direta (2016).

^c SuperPro Designer 8.5® banco de dados.

^d A2S2, 2016.

O custo de operação e manutenção (COM) dos extratos foi estimado baseado nos custos parciais, tais como custos variáveis de produção (CVP), custos fixos de produção (CFP) e despesas em geral (DG). CVP representam despesas de operação que variam com a taxa de produção, matéria-prima, suprimentos, serviços públicos, operadores e outros custos operacionais. CFP é independente das variações da taxa de produção e incluem impostos de terra, seguros e depreciação do equipamento, que são assumidos mesmo quando a planta não está em operação. DG representam as despesas que são necessárias para conduzir o negócio como custos com gerenciamento, vendas, finanças, pesquisa e desenvolvimento (TURTON,

BAILIE, WHITING, & SHAEIWITS, 2009). O tempo de operação anual foi considerado de 7920 h por ano, que corresponde a 330 dias por ano de 24 horas diárias de operação. Taxas de depreciação (10%) e manutenção de equipamento (6%) foram levadas em consideração (PETERS et al., 2003).

O preço de venda para os extratos produzidos foi calculado com base na concentração de artemisinina, os custos com purificação e semissíntese em artesunato de sódio, descritos nas seções 2.4 e 2.5, foram negligenciados nas estimativas econômicas do processo de produção por falta de dados experimentais e de informações descrevendo as etapas e despesas envolvidas. O preço de venda assumido para a artemisinina cristalizada foi US\$ 150,00 kg⁻¹ (A2S2, 2016).

3.6.2 Espécie *V. curassavica*

Para a realização da análise econômica da produção de óleo essencial de *V. curassavica* foi utilizada a Metodologia Multi-índice Ampliada (MMIA), com as abordagens determinística e estocástica. O aplicativo web \$AVEPI e programação de planilhas eletrônicas de cálculos no MS-Excel[®] foram utilizados como ferramentas computacionais na execução do estudo.

Uma agroindústria foi idealizada para avaliação econômica da produção de óleo essencial a partir da *V. curassavica*, ou seja, a matéria-prima utilizada será produzida no próprio empreendimento. Foram estabelecidos dois estudos de caso para atender a demanda de óleo essencial de aproximadamente 400 L por ano. Na primeira situação, a tecnologia de extração com CO₂Sc foi selecionada por ser mais ambientalmente correta, com equipamento constituído em dois vasos de extração de 100 L (aproximadamente 50 kg de matéria-prima cada vaso). E na segunda, extração com destilação com arraste a vapor em uma dorna de extração com capacidade de 100 kg de matéria-prima. As mesmas condições anteriormente utilizadas para ampliação de escala do processo de extração de artemisinina a partir de *A.*

annua também foram assumidas para a planta *V. curassavica*, ou seja, o comportamento de extração tem o mesmo desempenho que o obtido experimentalmente (VEGGI, CAVALCANTI, & MEIRELES, 2014). Informações de rendimentos de extração alcançados em condições fixas de operação, como temperatura, pressão, densidade aparente, porosidade, diâmetro médio de partícula e relação de solvente e massa de planta de alimentação (S/F), foram utilizadas como informações de entrada para o modelo. As condições operacionais assumidas na simulação são mostradas na Tabela 5.

Tabela 5 - Principais parâmetros adotados para simulação do processo de extração de óleo essencial de *V. curassavica* com dióxido de carbono supercrítico e convencional por destilação com arraste a vapor. UTFPR Câmpus Pato Branco, 2017.

	Fluido supercrítico	Destilação - arraste a vapor
Solvente	CO ₂ Sc	--
Razão entre massa de solvente e planta (S/F) ^a	12	--
Tempo de extração (min)	60	180
Densidade aparente do leito (ϵ) ^a	0,71	--
Pressão de extração (bar)	80	--
Temperatura de extração (°C)	60	100
Rendimento de extração (%)	1,03	0,91
Conteúdo de α -humuleno no extrato (%)	1,42	1,71

^a QUISPE-CONDORI (2005).

3.6.2.1 Parâmetros para Avaliação Econômica

Os custos com implantação e manutenção da cultura foram baseados nas informações obtidas durante o cultivo da espécie *V. curassavica* na Área Experimental da UTFPR em Pato Branco – PR. Como não há recomendação de adubação para a erva baleeira, seguiu-se a recomendação do Manual de Adubação e Calagem para os Estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina, para a cultura do chá, a qual foi a mesma utilizada por Montanari (2011) devido a similaridade entre as culturas em relação ao porte, densidade de plantio por hectare, manejo e interesse comercial. Dessa forma, o espaçamento das mudas determinado para o plantio foi de 0,8 m x 1,5 m (totalizando 9.200 plantas por hectare). Os custos com adubação foram determinados de acordo com a análise do solo local anterior à data de implantação da cultura. As demais despesas, como custo de utilização de equipamentos agrícolas, custo de

aquisição de mudas de erva baleeira, mão-de-obra, tratos culturais, insumos, etc, foram levantados por cotação direta em Junho de 2017.

O ano zero corresponde ao início das atividades com a locação da área de plantio (2 hectares com características similares as da área onde a cultura experimental foi instalada), aquisição de mudas, preparo do solo, adubação, correção do solo e plantio. A correção do solo consiste na realização de uma aração, com arado de discos, seguida de gradagem para promover a homogeneização da calagem e adubação. O capital de investimento é composto por todos os custos de instalação, desde a implantação da cultura, compra de equipamentos para extração do óleo essencial, construção de estrutura física para processamento e acondicionamento da matéria-prima após a coleta.

O controle de plantas daninhas utilizado é químico, 3 aplicações de herbicidas por ano após a poda das plantas, e capina. A adubação além de ser realizada no plantio, deve ser refeita após cada colheita, também totalizando 3 aplicações por ano. Após a colheita do material vegetal, o mesmo deve permanecer em local protegido para secagem, para posterior beneficiamento e processamento. A Tabela 6 mostra as despesas que compõem os custos de produção de erva baleeira elaboradas conforme Andrião et al., 2010 e Castro et al., 2005 (Planilha completa no Apêndice F).

O horizonte de análise adotado é de 120 meses (10 anos), tempo esse também mínimo de vida útil da plantação de erva baleeira (MORAES, L.K.A.²), sendo que o primeiro ano compreende as fases de implantação, com duração de 6 meses, e fase de produção inicial, a qual iniciou-se no 7º mês com a realização da primeira colheita. Para a indústria operar 12 meses no ano, as colheitas por poda drástica são realizadas diariamente por funcionários contratados sob regime mensalista, sendo necessário um período de 4 meses para a colheita e processamento do material vegetal colhido em 2 ha, tempo este também necessário para o rebrote da parte vegetativa das plantas. Assim são aproximadamente 7.360 kg.ha⁻¹ (média de 0,8 kg por planta) colhidos de 4 em 4 meses. A indústria conta com 2 hectares de erva

² MORAES, L.K.A. (Itaipu Binacional, Engenheira Agrônoma) Comunicação pessoal, 2017.

baleeira totalizando em torno de 14.720 kg de massa seca para serem processadas em 3 colheitas no ano, resultando em aproximadamente 147 L de óleo essencial por colheita.

Dessa forma, estabeleceu-se o número de 3 extrações diárias, para cada método de extração, totalizando um processamento médio diário de 300 kg de massa seca de folhas. A Tabela 7 contém informações sobre os investimentos a serem realizados para implementação da fábrica de extração com CO₂Sc e destilação com arraste a vapor, os cálculos detalhados estão dispostos no Apêndice G e H, respectivamente. As Figuras 13 e 15 ilustram a Unidade de extração com CO₂Sc e Unidade de extração com destilação com arraste a vapor .

Tabela 6 - Principais dados de entrada para a análise econômica da produção agrícola de erva baleeira por hectare. UTFPR Câmpus Pato Branco, 2017.

mão de obra	R\$ 1.974,52
Encargos	R\$ 1.382,15
Herbicidas	R\$ 16,27
Capina	R\$ 153,19
Arrendamento (12 parcelas)	R\$ 191,52
Ureia	R\$ 429,00
Fósforo	R\$ 132,15
Potássio	R\$ 124,47

Cálculo baseado em ANDRIÃO et al., 2010; CASTRO *et al.*, 2005.

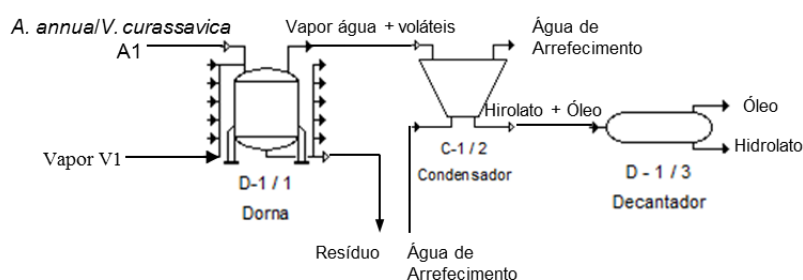


Figura 15 – Diagrama de fluxo para o processo de extração de óleo essencial com destilação por arraste a vapor. UTFPR Câmpus Pato Branco, 2017.

Após a construção das planilhas de rendimento e custos, elaboradas com base nas despesas referentes à produção agrícola da droga vegetal e dos dois métodos de obtenção dos compostos voláteis das folhas secas, foi utilizada MMIA e o aplicativo web \$AVEPI. Foram adotadas abordagens determinística e estocástica como ferramentas de análise quantitativa. Além disso, para a abordagem determinística, realizaram-se novos cálculos para se observar o

efeito da variação do preço de venda sobre o Valor Líquido Presente (VPL). Já a abordagem estocástica, ocorreu por meio da Simulação de Monte Carlo (SMC), sendo realizadas 10.000 simulações.

Tabela 7 - Principais dados de entrada para a análise econômica de extração por dióxido de carbono supercrítico e destilação por arraste a vapor. UTFPR Câmpus Pato Branco, 2017.

	Fluido supercrítico	Convencional – Destilação por arraste a vapor
<i>Equipamento Industrial EFS</i>		
2 vasos de extração de 100 L	R\$ 1.922.557,80	---
<i>Equipamento Industrial Arraste a vapor</i>		
1 vaso de extração de 100 kg ^b	---	R\$ 53.720,00
<i>Mão de obra (unidade)</i>	3	1
<i>Mão de obra (salário base)</i>	R\$ 18,96 h ⁻¹	R\$ 18,96 h ⁻¹
<i>Matéria-prima e insumos</i>		
<i>V. curassavica</i> ^a	R\$ 0,60 kg ⁻¹	R\$ 0,60 kg ⁻¹
Dióxido de Carbono ^b	R\$ 5,97 kg ⁻¹	---
Eletricidade ^c	R\$ 0,63 kWh	R\$ 0,63 kWh
Água (fluido refrigerante) ^c	R\$ 0,79 ton ⁻¹ métrica	R\$ 0,79 ton ⁻¹ métrica
CaCl ₂ (fluido refrigerante) ^c	R\$ 0,79 ton ⁻¹ métrica	---
Vapor (Alta pressão) ^c	R\$ 63,20 ton ⁻¹ métrica	---
<i>Produto</i>		
Óleo essencial	R\$ 2.500,00	R\$ 2.500,00

^a Estimativa do quilograma de folhas secas baseado em Andrião et al., 2010 e Castro et al., 2005.

^b Cotação direta (2017).

^c SuperPro Designer 8.5® banco de dados.

Os indicadores analisados durante o processo de tomada de decisão foram: Valor Presente (VP), Valor Presente Líquido (VPL), Valor Presente Líquido Anualizado (VPLA), Índice Benefício Custo (IBC), Retorno Adicional sobre o Investimento (ROIA) e Índice ROIA/TMA para avaliar a dimensão retorno (SOUZA & CLEMENTE, 2009; LIMA et al, 2017).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 CARACTERIZAÇÃO FÍSICA DO MATERIAL VEGETAL

Os valores de densidade real da partícula e porosidade do leite, para as duas matérias-primas são os seguintes: para *A. annua* são 950,9 kg.m⁻³ e 0,68 ε; e para *V. curassavica* 1360 kg.m⁻³ e 0,71 ε, respectivamente (QUISPE-CONDORI, 2005). Os resultados de teor de umidade e diâmetro de partícula, parâmetros estes utilizados em todos os ensaios de extração com CO₂Sc, estão mostrados na Tabela 8, tais valores ficaram próximos aos encontrados por Quispe-Condori (2005), mostrando fidelidade nos cuidados de preparação da matéria-prima para extração.

Tabela 8 – Caracterização do Material Vegetal. UTFPR Câmpus Pato Branco, 2017.

	Teor de Umidade (%)	Diâmetro Partículas (10 ⁻⁴ m)
<i>A. annua</i>	11± 0,5	5,02
<i>V. curassavica</i>	11± 0,7	4,25

4.2 EXTRAÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL E ARTEMISININA DE *A. annua*

O rendimento de óleo essencial obtido por destilação com arraste a vapor foi de 0,54 ± 0,05 g.100g⁻¹ planta, resultado este comparado à literatura, cuja faixa de variação é de 0,24 a 0,50 g.100g⁻¹ planta (TELLEZ et al., 1999; JUTEAU et al., 2002; QUISPE-CONDORI, 2005; BOLINA et al., 2013). De acordo com a análise por GC-MS, os constituintes majoritários do óleo essencial são cânfora (53,31%, m/m) e borneol (10,26%, m/m), conforme Tabela 9. Em termos de artemisinina, composto termolábil, não houve presença no cromatograma.

O processo convencional de extração utilizando etanol obteve rendimento global de extração (X₀) de 12 ± 1 g.100 g⁻¹ extrato, comparável a faixa de variação de 3,4 – 28,3 g.100 g⁻¹ extrato obtida com vários outros solventes, como hexano, éter de petróleo, ciclohexano,

etanol e triclorometano (HAO, HAN et al. 2002, RODRIGUES et al. 2006, MARTINEZ-CORREA et al. 2016). O processo de extração com CO₂Sc resultou em valores de X₀ da faixa de 3,81 – 9,55 g.100 g⁻¹ de matéria-prima, similarmente aqueles obtidos por Quispe-Condori (2005) e Martinez-Correa et al. (2016), que obtiveram rendimentos na faixa de 5,2 – 5,7 g.100 g⁻¹ de matéria-prima.

Tabela 9 - Composição química do óleo essencial de *A. annua* extraído por destilação com arraste a vapor. CPQBA/UNICAMP Campinas, 2017.

Pico	Composto	Proporção (%)	RT (min)	RI*	RI**
1	α-Pineno	0,804	5,312	951	932
2	Canfeno	2,832	5,680	962	946
3	β-Pineno	1,759	6,404	983	979
4	p-Cimeno	1,515	7,808	1024	1020
5	1,8-Cineol	1,017	8,002	1030	1026
6	Cânfora	52,900	12,275	1148	1141
7	Borneol	10,154	13,080	1169	1169
8	-	0,668	13,475	1179	
9	Tujol	2,176	14,879	1212	1181
10	-	0,522	15,203	1220	
11	β-Cariofileno	2,167	23,409	1417	1417
12	β-Cedreno	1,616	25,689	1474	1419
13	β-Copaeno	4,016	25,921	1480	1441
14	Sesquissabineno	5,495	25,029	1458	1457
15	-	0,579	26,099	1484	
16	-	0,605	29,546	1570	
17	-	1,134	29,697	1574	
18	Óxido de cariofileno	2,713	29,843	1578	1582
19	-	1,374	31,398	1617	
20	-	2,259	31,636	1624	
21	1- <i>epi</i> -Cubenol	1,305	31,787	1629	1627
22	-	0,690	32,646	1653	
23	-	0,694	33,673	1683	

RT: Tempo de retenção; RI: Índice de retenção; (-) Não identificado.

* Calculado

** Teórico (ADAMS, 2007)

O efeito da temperatura, pressão e proporção de cossolvente em X₀ foi avaliado pela análise de variância (ANOVA), (Análise completa disponível no Apêndice I). Apenas a proporção de cossolvente influenciou positivamente no X₀ (p-valor = 0,821) de *A. annua*, como mostrado na Figura 16. A adição de etanol ao CO₂Sc resultou em um aumento de polaridade do solvente, o qual conduziu a uma capacidade maior de dissolver mais compostos, presentes na matéria-prima, do que o CO₂Sc sozinho. Este comportamento foi também observado em outros estudos que compararam a extração usando CO₂Sc com e sem

adição de cossolvente (VEGGI, CAVALCANTI et al., 2014; VEGGI, PRADO et al. 2014). Os extratos obtidos a cada conjunto de temperatura, pressão e volume de cossolvente testados, apresentaram variabilidade na coloração da amostra, indicando diferenças na composição. No Apêndice J está disponível a Cromatografia de Camada Delgada mostrando o perfil cromatográfico dos extratos.

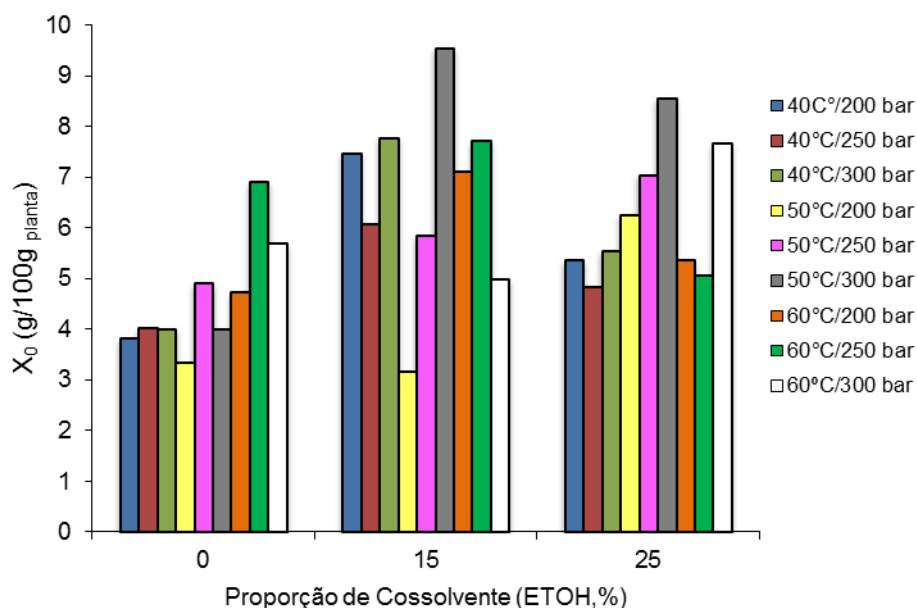


Figura 16 - Rendimento global dos extratos de *A. annua* obtidos por extração com dióxido de carbono supercrítico em função de combinações de temperatura e pressão e proporção de cossolvente etanol. LASEFI/FEA/UNICAMP Campinas, 2016.

O extrato obtido por extração com etanol apresentou um conteúdo de artemisinina (ART) de $6,0 \pm 0,5 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ de extrato, o qual resulta em um rendimento de artemisinina (AY) de $0,7 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ de planta, enquanto que a extração com CO_2Sc produziu extratos com ART de $1,0 - 23,4 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ extrato. Os resultados da ANOVA mostraram que a adição de proporção de cossolvente influenciou significativamente apenas ART (p -valor = 0,93).

A Figura 17 mostra o efeito do cossolvente na ART, na qual é possível observar que o aumento da proporção de cossolvente reduziu ART, mostrando que o aumento de polaridade do solvente não contribuiu para a extração de artemisinina. Um estudo de solubilidade anterior demonstrou que o CO_2Sc puro é melhor solvente para recuperação de artemisinina em EFS com pressão e ponto de inversão nas isotermas de solubilidade, possivelmente

associado à pressão de vapor de artemisinina vs efeitos da densidade (XING, YANG et al. 2003).

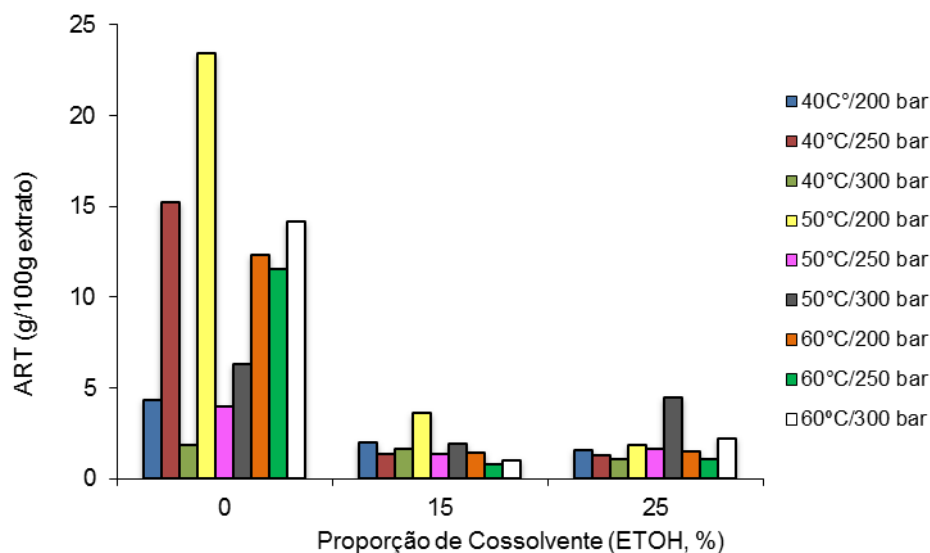


Figura 17 - Conteúdo de artemisinina obtido por extração com dióxido de carbono supercrítico, em função de combinações de temperatura e pressão e proporção de cossolvente etanol. LASEFI/FEA/UNICAMP Campinas, 2016.

De acordo com os rendimentos apresentados na Tabela 10, a extração com etanol ofereceu melhores resultados de X_0 quando comparada aos resultados da extração com CO_2Sc , no entanto, os extratos obtidos da operação com CO_2Sc apresentaram maiores ART (maior concentração de artemisinina), especialmente aqueles obtidos com CO_2Sc puro. Porém, Martinez-Correa et al. (2017) observaram que não houve diferenças significativas entre os valores de X_0 e ART para as duas tecnologias de extração, nas condições de 60 °C 400 bar para CO_2Sc , e 25 °C e pressão atmosférica para etanol. As diferenças entre os resultados observados neste estudo e nos relatados por Martinez, Correa et al. (2017) seriam relacionadas aos procedimentos de extração adotados em cada estudo, considerando que as condições de extração com CO_2Sc e extração com etanol foram diferentes. Por outro lado, em relação a ART, a melhor condição encontrada neste estudo foi 50 °C e 200 bar (23,4 g. 100 g⁻¹ extrato), enquanto AY mais alta foi obtida a 60 °C e 250 bar (0,76 g. 100 g⁻¹ planta), o que está em acordo com a literatura que relata AY na faixa de 0,2 – 0,9 g. 100 g⁻¹ de planta quando CO_2 puro é utilizado (KOHLE, HAERDI et al. 1997; QUISPE-CONDORI, et al. 2005; LIN, YANG et al. 2006; TZENG, LIN et al. 2007; MARTINEZ-CORREA et al. 2017).

Tabela 10 – Avaliação do rendimento global de extração, concentração de artemisinina no extrato e conteúdo de artemisinina na folha de *A. annua*, obtidos em diferentes condições de extração com dióxido de carbono supercrítico e com o solvente etanol. LASEFI/FEA/UNICAMP Campinas, 2016.

Cossolvente (%)	Temperatura (°C)	Pressão (bar)	X ₀ (g. 100 g ⁻¹ planta)	ART (g. 100 g ⁻¹ extrato)	AY (g. 100 g ⁻¹ planta)
0	40	200	3,81	4,38	0,17
		250	4,02	15,24	0,61
		300	4,01	1,90	0,08
	50	200	3,34	23,41	0,78
		250	4,90	4,00	0,20
		300	4,00	6,32	0,25
	60	200	4,73	12,33	0,58
		250	6,90	11,54	0,80
		300	5,69	14,16	0,81
15	40	200	7,48	1,98	0,15
		250	6,08	1,38	0,08
		300	7,76	1,66	0,13
	50	200	3,17	3,62	0,12
		250	5,85	1,41	0,08
		300	9,55	1,93	0,18
	60	200	7,11	1,44	0,10
		250	7,72	0,80	0,05
		300	4,99	1,04	0,17
25	40	200	5,36	1,59	0,10
		250	4,84	1,30	0,06
		300	5,55	1,09	0,06
	50	200	6,25	1,86	0,12
		250	7,04	1,68	0,12
		300	8,55	4,47	0,38
	60	200	5,37	1,52	0,08
		250	5,07	1,08	0,06
		300	7,66	2,24	0,17
ETOH	Ambiente	Atmosférica	12,0 ± 1,0	6,0 ± 0,5	0,75 ± 0,04

4.3 EXTRAÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL DE *V. curassavica*

4.3.1 *V. curassavica* – Lote 1

A obtenção de óleo essencial por destilação com arraste a vapor mostrou um rendimento global (X_0) de $0,57 \pm 0,02 \text{ g.100 g}^{-1}$ de matéria-prima, comparável à literatura, e variam de 0,23 a 0,55% B.S. (QUISPE-CONDORI, 2005; CARVALHO Jr. et al., 2004; QUISPE-CONDORI et al., 2008; GILBERT & FAVORETO, 2013), com proporção relativa de 29% de β -cariofileno, identificado como componente majoritário, seguido de α -pineno com 28,15% e α -humuleno com 3,64%, conforme pode ser observado na Tabela 11, e concentração de α -humuleno (α -HUM) de $1,5 \text{ g.100 g}^{-1}$ de óleo essencial. O X_0 da extração com CO_2Sc variou de 1,5 a 6,5 g.100 g^{-1} de matéria-prima superando o reportado por Quispe-Condori et al. (2008) que obteve $3,6 \pm 0,4 \text{ g.100 g}^{-1}$ de matéria-prima a 60 °C e 300 bar; e o reportado por Michielin et al. (2009), cujo X_0 foi $5,0 \pm 0,2 \text{ g.100 g}^{-1}$ de matéria-prima, obtido a 50°C e 300 bar.

Os resultados obtidos na extração com CO_2Sc não apresentaram diferença estatisticamente significativa para X_0 de óleo essencial, para as temperaturas e pressões testadas com nível de confiança de 95% (ANOVA- Apêndice K). A Figura 18 apresenta as isotermas de X_0 obtidas a 40 e 60 °C. Apesar do alto desvio dos resultados, é possível observar vários pontos de inversão e uma tendência de aumento do rendimento com o aumento da pressão, principalmente a 60 °C. O alto desvio destes resultados pode ser justificado por erros experimentais ocorridos durante a execução do planejamento. Uma das possíveis causas pode ser atribuída ao intervalo de tempo necessário para a execução das extrações, pois o material vegetal foi armazenado já moído e classificado, podendo ter causado a perda dos compostos voláteis. A unidade de extração MV-10 utilizada no experimento também apresentou problemas e durante a realização deste estudo necessitou de manutenção. Em função disso, foi necessário mais de um operador executar o planejamento experimental proposto.

Tabela 11 - Composição química do óleo essencial de *V. curassavica* – Lote 1 obtido por destilação com arraste. CPQBA/UNICAMP Campinas, 2017.

Pico	Composto	Proporção (%)	RT (min)	RI*	RI**
1	α-Pino	28,15	5,366	953	932
2	β -Pino	0,52	6,300	980	974
3	β -Pino	0,85	6,400	983	974
4	1,8-Cineol	0,38	7,950	1029	1026
5	-	0,84	8,010	1030	
6	-	1,54	12,100	1143	
7	-	0,50	17,090	1265	
8	-	0,48	21,637	1374	
9	-	0,40	22,339	1391	
10	-	0,88	22,977	1406	
11	β-Cariofileno	29,72	23,533	1420	1417
12	α-Humuleno	3,64	24,814	1452	1452
13	Aromadendreno	2,24	24,976	1456	1458
14	9- <i>epi</i> -(<i>E</i>)-Cariofileno	5,30	25,111	1460	1464
15	γ -Muurole	2,87	25,921	1480	1478
16	-	0,66	26,067	1483	
17	γ -Amorfe	4,34	26,548	1495	1495
18	β -Bisaboleno	2,25	26,872	1504	1505
19	-	1,47	27,045	1508	
20	δ -Amorfe	1,31	27,298	1515	1511
21	-	1,81	27,606	1522	
22	(<i>E</i>)- γ -Bisaboleno	0,48	27,920	1530	1529
23	<i>anti-sin-sin</i> -Helifolen-12-al C	1,84	33,149	1669	1619

RT: Tempo de retenção; RI: Índice de retenção; (-) Não identificado.

* Calculado

** Teórico (ADAMS, 2007)

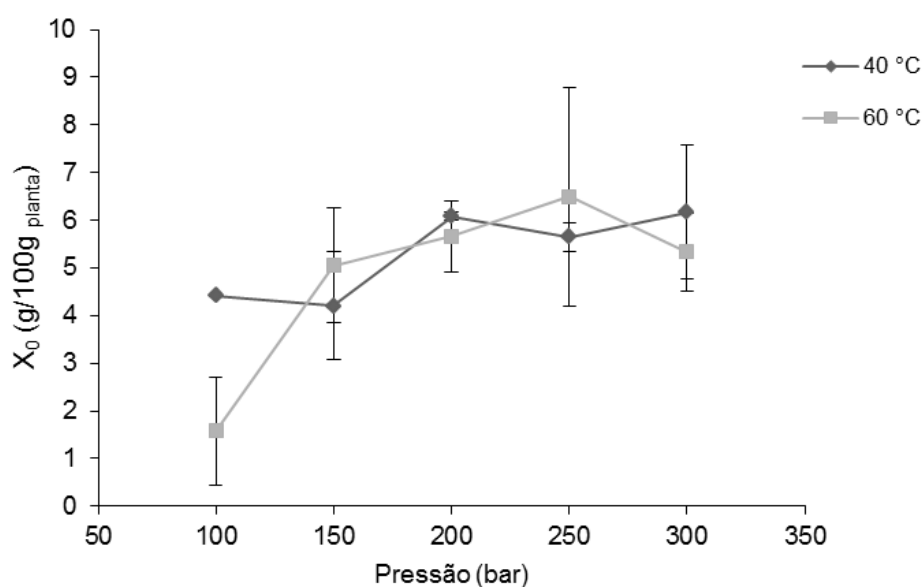


Figura 18 – Isotermas de rendimento global de extração obtidas com dióxido de carbono supercrítico a partir de *V. curassavica* para diferentes condições de temperatura e pressão. LASEFI/FEA/UNICAMP Campinas, 2016.

Não foi verificada diferença estatisticamente significativa a 95% de significância no α -HUM, conforme observado na Figura 19. Apesar de não haver diferença significativa no α -HUM obtido nas condições estudadas, é possível indicar a condição de 40 °C/100 bar como a melhor neste caso, porque apresentou a maior pureza do composto de interesse, embora o desvio dos resultados diminua a sua confiabilidade.

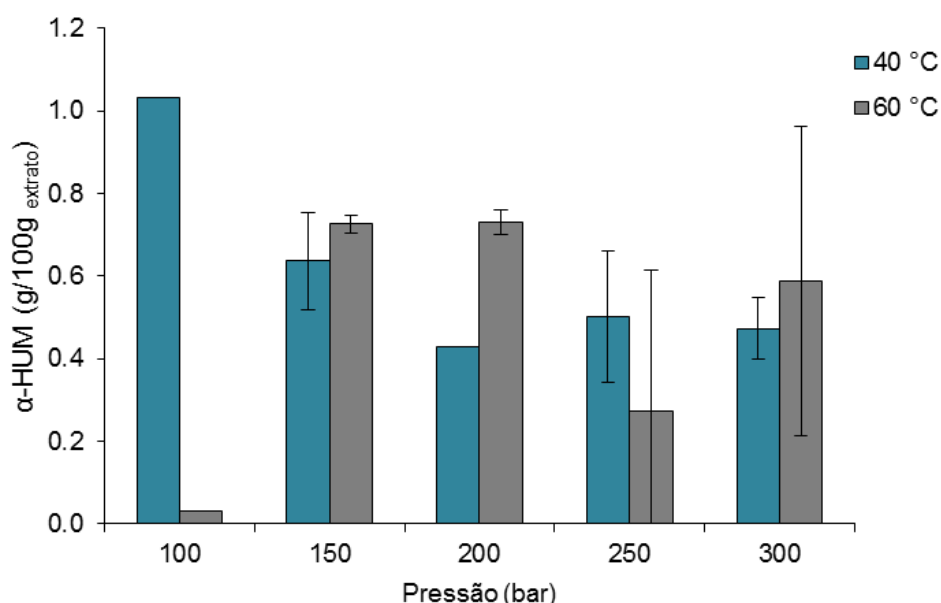


Figura 19 – Teor de α -humuleno nos extratos *V. curassavica* para diferentes condições de temperatura e pressão com extração com dióxido de carbono supercrítico. LASEFI/FEA/ UNICAMP Campinas, 2016.

4.3.2 *V. curassavica* – Lote 2

O planejamento do segundo lote de extrações de *V. curassavica* foi realizado devido aos erros experimentais apresentados nos resultados do primeiro lote. Os autores Quispe-Condori et al. (2003), Quispe-Condori et al. (2008) e Michielin et al. (2009) alcançaram os melhores rendimentos a 300 bar e 60 e 50 °C, respectivamente. Portanto, um novo planejamento a 300 bar foi sugerido: Extração em etapa única a 60 °C e 300 bar, e processo

de extração fracionada a 60 °C com três níveis de pressão (80, 200 e 300 bar), a qual demonstrou resultados promissores em estudo anterior (QUISPE-CONDORI, 2005).

A Figura 20 apresenta os rendimentos globais de óleo essencial (X_0) e concentração de α -humuleno (α -HUM) no mesmo, para as diferentes técnicas e condições de extração. A extração de óleo essencial por destilação com arraste a vapor obteve X_0 de $0,9 \pm 0,06 \text{ g.100 g}^{-1}$ planta, comparável à literatura de 0,23 a 0,55% B.S. (QUISPE-CONDORI, 2005; CARVALHO Jr. et al., 2004; QUISPE-CONDORI et al., 2008; GILBERT & FAVORETO, 2013), e α -HUM de $1,71 \pm 0,26 \text{ g.100 g}^{-1}$ óleo essencial. O perfil químico do óleo essencial obtido por destilação a vapor indicou como componentes majoritários o α -pineno e o β -cariofileno (perfil químico completo disponível no Apêndice L).

A obtenção de extrato com CO_2Sc em um único estágio, a 60 °C e 300 bar, resultou em X_0 de $3,94 \pm 0,32 \text{ g.100 g}^{-1}$ planta, enquanto na extração sequencial com três pressões o X_0 total foi de $5,02 \pm 0,11 \text{ g.100 g}^{-1}$ planta, superando a extração em uma única etapa. No entanto, α -HUM nas duas condições não atingiu o resultado obtido com destilação com arraste a vapor. Nos ensaios experimentais com o primeiro lote de *V. curassavica*, na condição de 60 °C e 250 bar, o X_0 obtido foi de $6,5 \text{ g.100 g}^{-1}$ planta, e α -HUM de $0,27 \text{ g.100 g}^{-1}$ extrato, havendo divergência nos resultados das extrações dos dois lotes. O que pode ser justificado por características específicas da matéria-prima de cada lote utilizado, pois também houve variabilidade nos resultados da extração com destilação a vapor. A composição química do óleo volátil na condição de 60 °C e 250 bar teve como componente majoritário o β -cariofileno sem a presença de α -pineno. O perfil químico completo está disponível no Apêndice L.

Avaliando individualmente cada etapa da extração fracionada de 60 min com CO_2Sc (Figura 20), na temperatura de 60 °C e nas pressões de 80, 200 e 300 bar, observa-se que a pressão de 80 bar resultou no menor X_0 das três etapas, $1,03 \pm 0,001 \text{ g.100 g}^{-1}$ planta, porém com a maior α -HUM, obtendo uma fração $1,42 \pm 0,05 \text{ g.100 g}^{-1}$ extrato de α -humuleno, e $9,33 \pm 0,8782 \text{ g.100 g}^{-1}$ extrato de β -cariofileno, sendo a alíquota de maior interesse no estudo. Quando comparada aos resultados obtido por Quispe-Condori et al. (2008), o autor obteve X_0

similar, porém a concentração de β -cariofileno foi consideravelmente maior. Isso pode ser justificado pela variação do lote de matéria-prima e acesso da espécie de *V. curassavica*, já que o óleo essencial obtido por destilação com arraste a vapor também obteve concentração mais baixa ($14,76 \pm 3,09 \text{ g.100 g}^{-1}$ óleo essencial) do β -cariofileno. Os extratos resultantes da extração sequencial apresentaram coloração diferenciada entre si, Figura 21, assim como composição química com elevada variabilidade. Na fração obtida a $60 \text{ }^\circ\text{C}/80 \text{ bar}$ o composto majoritário também é o β -cariofileno seguido do bisaboleno e ausência de α -pineno. No extrato obtido a $60 \text{ }^\circ\text{C}/200 \text{ bar}$ há a presença ainda do α -humuleno, β -cariofileno, bisaboleno, além do bergamotol, acetato de bisabolol e o número de compostos detectados é consideravelmente maior. Na última fração a $60 \text{ }^\circ\text{C}/300 \text{ bar}$, também há uma elevada variabilidade de compostos, com a presença de α -humuleno, β -cariofileno, bisaboleno, bergamotol, acetato de bisabolol e compostos provavelmente de alta massa molecular, perfil químico com os compostos identificados das frações de extrato está disponível nos Apêndice M.

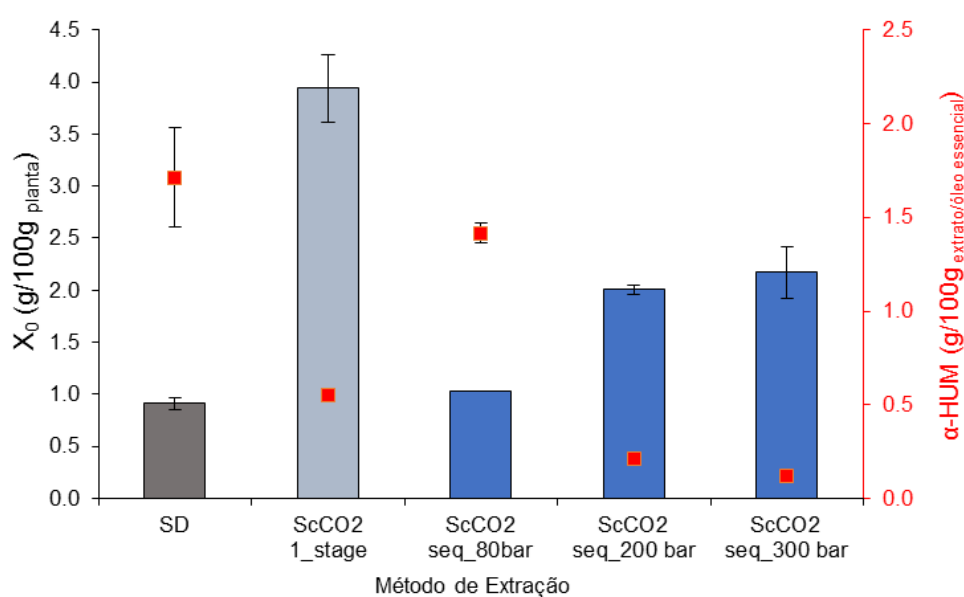


Figura 20 – Rendimento de óleo volátil e concentração de α -humuleno para extração com destilação com arraste a vapor, dióxido de carbono supercrítico em um estágio e dióxido de carbono supercrítico sequencial nas pressões de 80, 200 e 300 bar. UTFPR Câmpus Pato Branco, 2017.

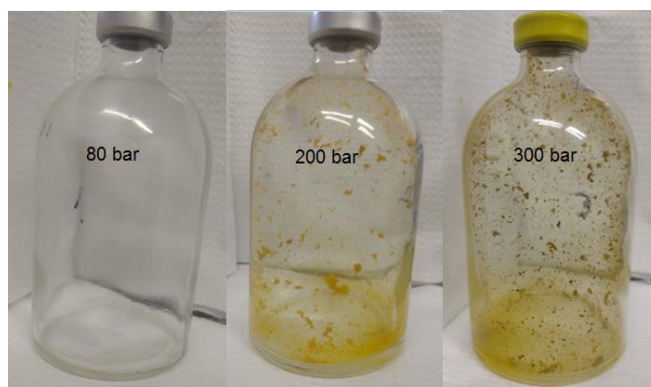


Figura 21 – Extratos de *V. curassavica* obtidos por extração fracionada com dióxido de carbono supercrítico nas pressões de 80, 200 e 300 bar. LASEFI/FEA/UNICAMP Campinas, 2017.

4.4 ANÁLISE ECONÔMICA

4.4.1 Produção de artemisinina a partir de *A. annua*

Os custos de cultivo de *A. annua* foram estimados de acordo com a literatura Bragatto (2003), utilizando valores de mão de obra locais, custos de hora máquina tabelados e insumos com valores atualizados, além de simular a condição de cultivo terceirizado, chegando ao valor de R\$ 2,93 kg⁻¹, a planilha com os cálculos está disponível no Apêndice E.

4.4.1.1 Extração com CO₂Sc

Duas condições de extração com CO₂Sc foram escolhidas para verificação do impacto destas variáveis na avaliação econômica do processo. A primeira, a 50 °C e 200 bar que resultou em maior ART (23,4 g.100 g⁻¹ extrato) e a segunda condição, a 60 °C e 250 bar com resultado ótimo X₀ (6,9 g.100 g⁻¹ planta) – ambas com alto AY (0.8 g.100g⁻¹ planta).

A Figura 22 apresenta a influência do aumento de escala do processo (5 L, 50 L, 100 L e 500 L) no Custo de Operação e Manutenção (COM) e na produtividade de artemisinina

anual. É possível observar que nas duas condições de processo testadas houve redução do COM com o aumento de escala, enquanto a produtividade cresceu expressivamente. O menor COM encontrado foi na condição de 60 °C e 250 bar na capacidade de 500 L (R\$ 295,00 kg⁻¹). A condição de 50 °C e 200 bar apresentou COM de R\$ 608,91 na mesma capacidade. Este resultado está associado ao menor rendimento de extração obtido desta condição (3,34 g.100 g⁻¹ planta), embora este extrato apresente maior ART (23,4 g.100 g⁻¹ extrato).

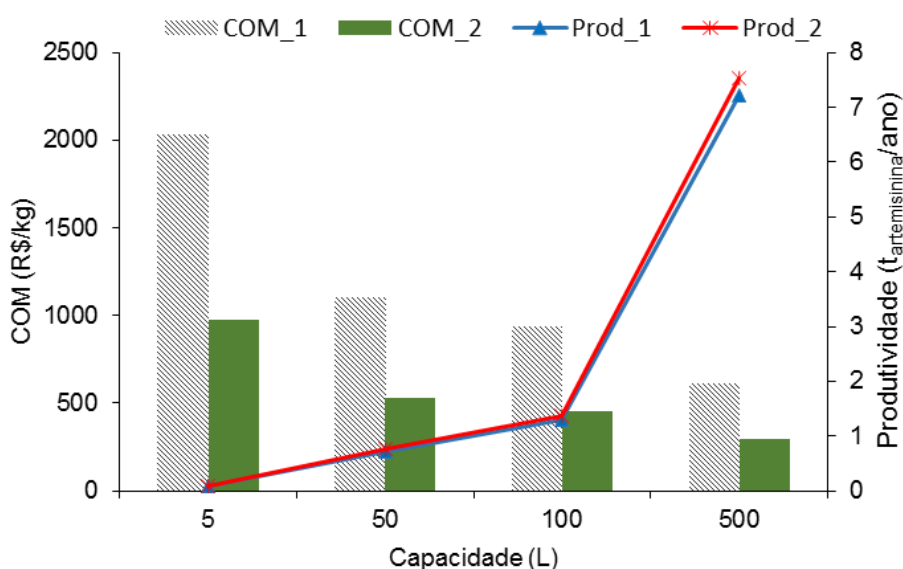


Figura 22 – Influência do aumento de escala do sistema no custo de produção e produtividade de artemisinina para extração com dióxido de carbono supercrítico. COM_1 e Prod_1: Custo de produção e produtividade de artemisinina na condição 1 (50°C/200 bar); COM_2 e Prod_2: Custo de produção e produtividade de artemisinina na condição 2 (60°C/250bar). UTFPR Câmpus Pato Branco, 2017.

O Capital Fixo Direto (CFD), Figura 23, apresentou crescimento assim como a produtividade, atingindo valores de R\$ 33,8 Mi para a capacidade de 500 L. Vários autores observaram o mesmo comportamento de COM, produtividade e CFD com a variação da capacidade de extração utilizando extração com CO₂Sc para obtenção de diversos compostos bioativos a partir de diferentes matrizes vegetais como *Rosmarinus officinalis*, *Curcuma long* e *Passiflora edulis* (ZABOT et al., 2015, OSORIO-TOBÓN et al., 2016, VIGANÓ et al., 2017).

As Figuras 24 e 25 apresentam a influência do aumento de escala na composição do COM nas duas condições estudadas. Nota-se o mesmo comportamento da composição do

COM com o aumento da escala para ambas as condições, sendo que na escala de 5 L a maior fração é a mão de obra diminuindo gradualmente ao longo do aumento da capacidade de produção. Esse comportamento é observado porque as plantas industriais de EFS não requerem um grande número de trabalhadores devido ao alto nível de instrumentação e automação em plantas industriais (VIGANÓ et al., 2017). Os custos com utilidades permanecem praticamente constantes para as diferentes escalas de produção adotadas. Por outro lado, o custo com matéria-prima aumenta à medida que a produção cresce até a assumir a maior fatia na composição do COM (aproximadamente 64%) na escala de 500 L.

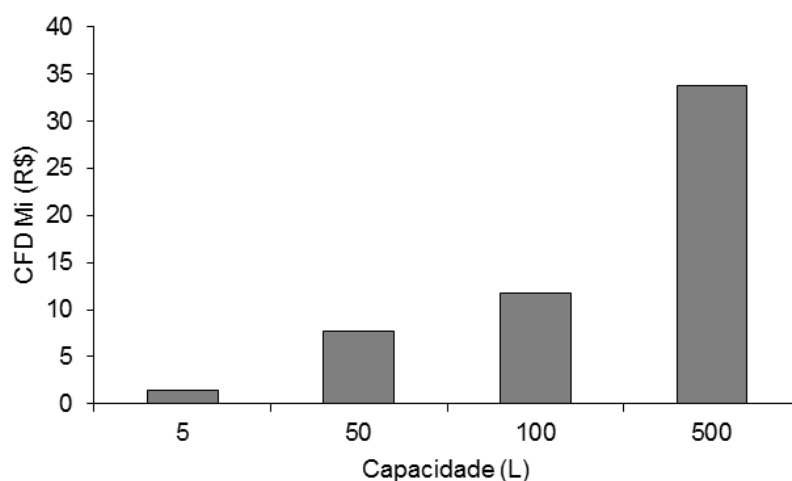


Figura 23 – Influência do aumento de escala do sistema no capital fixo direto para extração com dióxido de carbono supercrítico. UTFPR Câmpus Pato Branco, 2017.

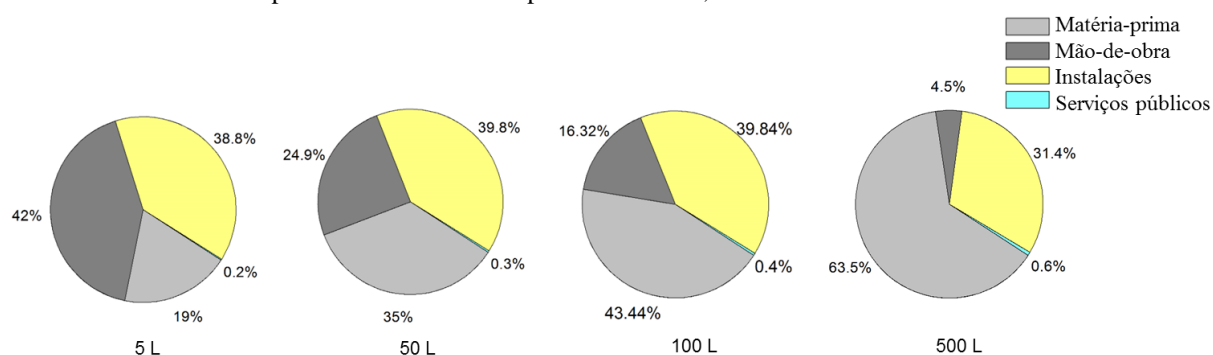


Figura 24 – Influência da capacidade do sistema na composição do custo de produção de artemisinina para extração com dióxido de carbono supercrítico a 50 °C/200 bar. UTFPR Câmpus Pato Branco, 2017.

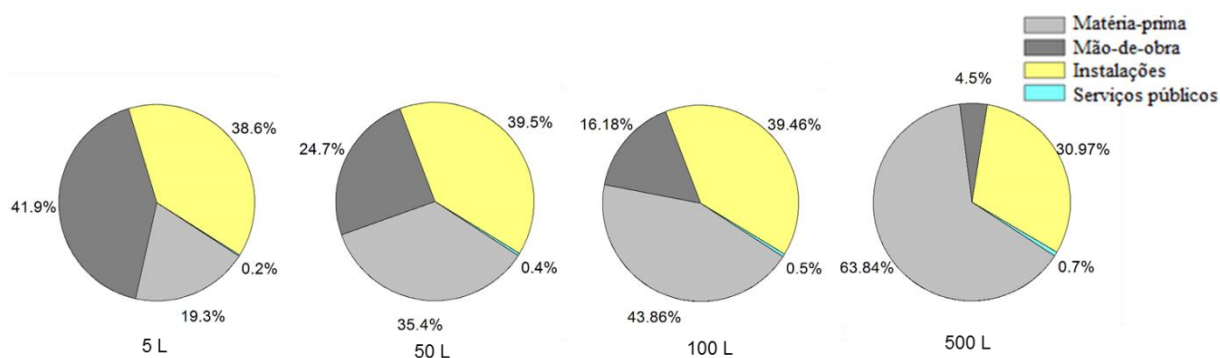


Figura 25 – Influência da capacidade do sistema na composição do custo de produção de artemisinina para extração com dióxido de carbono supercrítico a 60 °C/250 bar. UTFPR Câmpus Pato Branco, 2017.

4.4.1.2 Extração convencional – Maceração a frio com etanol

O COM obtido pela extração convencional é de R\$ 731,76 kg⁻¹ extrato, o qual é consideravelmente mais alto quando comparado a melhor condição de extração com CO₂Sc (60 °C/250 bar e 500 L de capacidade) que é de R\$ 295,42 kg⁻¹ extrato, como pode ser observado na Figura 26. O capital fixo direto (CFD) para extração com etanol ficou em R\$ 31,6 Mi comparável ao CFD para a condição ótima com CO₂Sc de R\$ 33,8 Mi. No entanto, a produtividade de artemisinina pelo processo convencional é de 0,68 t_{extrato}.ano⁻¹, menor do que a observada para a extração com CO₂Sc que é 7,54 t_{extrato}.ano⁻¹ (Figura 26). A baixa produtividade da tecnologia convencional é devido aos longos períodos de extração, pois o processo de extração convencional com etanol precisa de 6 h para levar a exaustão massa da droga vegetal, enquanto o processo de extração com CO₂Sc leva apenas 60 min. Conseqüentemente, no processo de extração convencional são realizadas menos bateladas ao longo do ano e menores quantidades de extrato são obtidos, embora o mesmo CFD é investido (SANTOS et al., 2012).

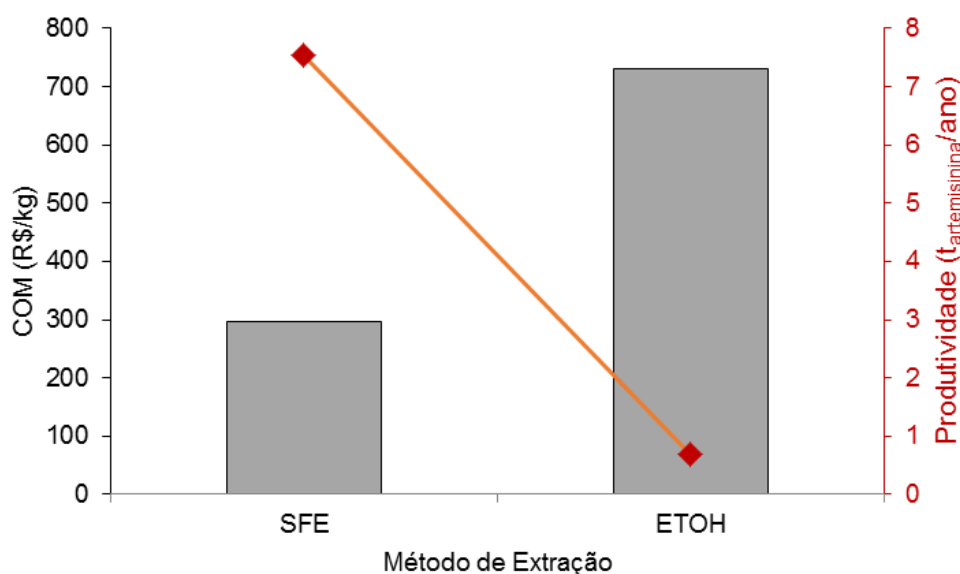


Figura 26 – Custo de operação e manutenção e produtividade de artemisinina anual para plantas de extração com as tecnologias de extração dióxido de carbono supercrítico (condições de operação 60 °C/250 bar e 500 L de capacidade) e convencional com Etanol. UTFPR Câmpus Pato Branco, 2017.

A composição do COM, com 480 L de capacidade para tecnologia de extração convencional com etanol, (Figura 27), tem 5,2% de despesas com matérias primas, e é liderada pelos custos com instalações (67%). Tal comportamento pode ser justificado pela baixa produtividade anual de extrato resultante de longos períodos de extração (6 horas por batelada). E apesar desta tecnologia ter despesas baixas com matéria-prima, o COM final é alto pela razão dos equipamentos possuírem valor elevado e alta taxa de depreciação devido à baixa produtividade.

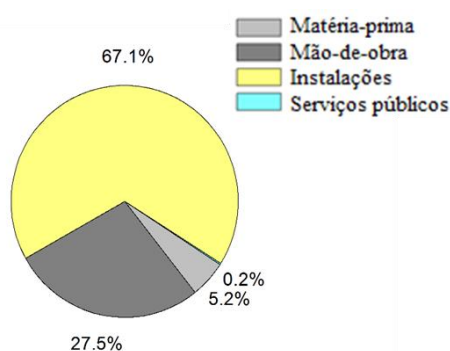


Figura 27 – Influência da capacidade do sistema na composição do custo de produção de artemisinina para extração convencional com Etanol. UTFPR Câmpus Pato Branco, 2017.

4.4.1.3 Estudo de sensibilidade para produção de artemisinina a partir de *A. annua*

O estudo de sensibilidade foi realizado utilizando, como dado de entrada, o preço de venda dos extratos produzidos estimado com base no teor de artemisinina obtido e o preço de artemisinina cristalizada (US\$ 150,00 kg⁻¹; R\$ 474,00 kg⁻¹) (A2S2, 2016). A Tabela 12 traz o COM, preço de venda e os indicadores econômicos para os cenários estudados com extração com CO₂Sc e ETOH. É possível visualizar que o COM ultrapassou o valor de venda dos extratos em todas as condições simuladas. Mesmo na melhor condição e capacidade, extração com CO₂Sc a 60 °C/250 bar - 500 L, o COM superou o preço de venda, lembrando que os custos com purificação, que encarecem ainda mais o produto, não foram considerados durante a simulação econômica. Conseqüentemente os indicadores de viabilidade, margem de lucro, *Return on Investment* (ROI) e o Valor Presente Líquido (VPL) foram negativos.

A margem de lucro seria a porcentagem adicionada ao COM formando o preço final da comercialização, e definindo a porcentagem de lucro da empresa sobre as vendas, quanto maior, mais lucro para a empresa. O ROI é a relação entre a quantidade de dinheiro ganho (ou perdido) como resultado do CFD. Já o VPL é o valor presente de pagamentos futuros, descontados a uma taxa de juros anual apropriada (7% ao ano) (SOUZA et al., 2016), menos o custo do investimento inicial (SOUZA & CLEMENTE, 2009; LIMA et al, 2017).

Tabela 12 – Índices de projeto do processo de extração de artemisinina com dióxido de carbono supercrítico e convencional com Etanol. UTFPR Câmpus Pato Branco, 2017.

Tecnologia	Valor venda (R\$.kg ⁻¹)	Capacidade (L)	COM (R\$.kg ⁻¹)	Margem lucro (%)	ROI (%)	VPL (R\$, a juros de 7% ao ano)
CO ₂ Sc 50 °C e 200 bar	110,98	5	2.035,95	-1.737,78	-34,82	-5.255.080,00
		50	1.104,39	-895,87	-31,78	-25.049.320,00
		100	933,75	-741,36	-30,90	-37.231.120,00
		500	608,91	-448,73	-37,52	-121.514.640,00
CO ₂ Sc 60 °C e 250 bar	54,51	5	977,23	-1.697,07	-34,94	-5.267.720,00
		50	531,59	-877,37	-32,00	-25.178.880,00
		100	450,67	-726,96	-31,16	-37.464.960,00
		500	295,42	-442,00	-38,02	-122.873.440,00
ETOH	28,20	480	731,76	-2.974,05	-21,175	-78.598,00

COM: Custo de operação e manutenção; ROI: Retorno do Investimento; VPL: Valor Presente Líquido.

A composição do COM analisada na Figura 25, mostrou que na condição ótima definida, extração com CO₂Sc na condição de 60 °C/250 bar e capacidade de 500 L, o custo com matéria-prima é a variável de maior peso. No cenário estudado, o COM ultrapassou o

valor de revenda de artemisinina, mostrando falta de rentabilidade e conduzindo a um VPL negativo ao fim do horizonte de análise, situação esta também encontrada no estudo econômico de obtenção de outras biomoléculas (ZABOT et al., 2015; OSORIO-TOBÓN et al., 2016; VIGANÓ et al., 2017).

Para viabilizar economicamente a produção de artemisinina com extração com CO₂Sc é necessário além da redução dos custos envolvidos com a aquisição de matéria-prima, fazer a máxima utilização da mesma levando-a a exaustão completa. Uma das soluções seria o cultivo familiar de *A. annua* para redução de custos com mão-de-obra, uso de genótipos de *A. annua* de alto rendimento para maximizar a produção de massa seca e teor de artemisinina na biomassa, além de utilizar a mesma porção de matéria-prima para extração não apenas de artemisinina, mas também do ácido artemisinínico e dihidroartemisinínico, precursores da artemisinina, que podem ser extraído da mesma porção da droga vegetal (LÉVESQUE & SEEGER, 2012). Outra maneira de realizar este aproveitamento máximo é utilizar o resíduo vegetal resultante da extração com CO₂Sc, resíduo este sem contaminação por solventes, e submetê-lo a extração com outros solventes como etanol e/ou água para produção de outra gama de compostos químicos, ou seja, agregar mais valor ao processo (MARTINEZ-CORREA et al., 2016).

Apesar dos altos valores de COM encontrados no cenário estudado, os resultados mostram que o investimento elevado na extração com CO₂Sc é válido, pois ela é eficiente, reduz etapas futuras de purificação, e mostrou vantagens quando comparada a extração convencional com etanol. Qualquer mudança nos custos de aquisição, ou agregação de valor no material vegetal de *A. annua*, pode viabilizar a produção de artemisinina por extração com CO₂Sc. Tecnologia esta de grande importância na obtenção de compostos sensíveis a condições extremas de calor e de alto valor agregado, lembrando também de sua importância ecológica.

Já na extração com etanol (Figura 27) o alto COM é provavelmente resultado da união da baixa produtividade de artemisinina anual, recorrente de longos tempos de extração, com as taxas de depreciação do alto investimento inicial nos equipamentos.

A avaliação da viabilidade econômica das duas tecnologias pode ser resumidamente exemplificada pelo diagrama de fluxo de caixa na Figura 28, e no caso da extração com

CO₂Sc o resultado ao final do horizonte de análise foi de um prejuízo de R\$ -122.873.440,00, e para extração com etanol R\$ -78.598,00.

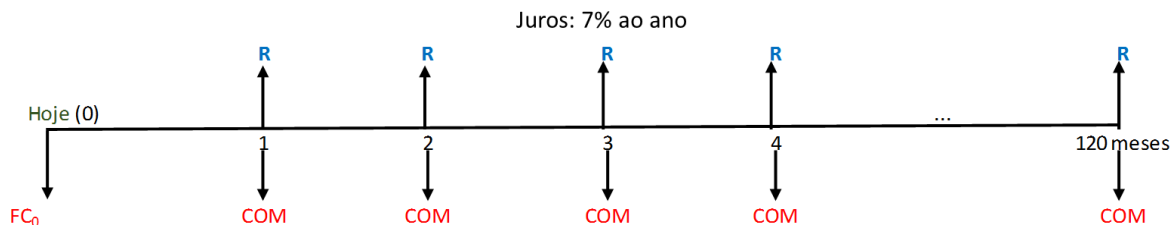


Figura 28 – Fluxo de caixa ao longo do horizonte de análise com FC_0 : investimento no tempo zero, R: Receita negativa ao longo de 120 meses, com juros de 7% ao ano. UTFPR Câmpus Pato Branco, 2017.

4.4.2 Produção de extrato e óleo essencial a partir da espécie *V. curassavica*

Após a composição dos custos estimados para a produção agrícola de *V. curassavica* padronizada e de alto rendimento, o valor do quilograma de massa seca de folha obtido foi estimado em R\$ 0,62 (Planilha completa disponível no Apêndice F).

4.4.2.1 Extração com CO₂Sc

Para atender a demanda de óleo essencial de aproximadamente 400 L.ano⁻¹, utilizando a tecnologia de CO₂Sc nas condições ótimas de operação (60 °C/80 bar onde X₀ foi de 1 g.100 g⁻¹ planta), foi proposto a utilização de 2 vasos de extração de 50 L e uma área de cultivo de erva baleeira de 2 hectares. Nestas condições o capital fixo direto (CFD) atingiu os valores de R\$ 4.291.940,34, valor este que inclui despesas com implantação da cultura, equipamentos, estrutura física e custos de inicialização da operação.

O COM do litro do extrato chegou ao patamar de R\$ 8.715,79, sendo os custos fixos de produção (CFP) de R\$ 8.436,44 L⁻¹ e, custos variáveis de produção (CVP) de R\$ 279,35 L⁻¹ (Planilha completa disponível no Apêndice G). O valor de venda do litro de óleo essencial de erva baleeira varia de R\$ 2,5 a R\$ 8 mil (HERBIA, 2017; LAZSLO, 2017; Harmonia

Natural, 2017), ou seja, mesmo considerando um cenário ótimo de mercado, o COM obtido com esta tecnologia ultrapassa os valores de venda e inviabilizam sua produção. Este cenário também pode ser exemplificado pelo diagrama de fluxo de caixa na Figura 28, mostrado anteriormente no item 4.4.1.3.

A Figura 29 mostra a composição dos custos de produção dos extratos de erva baleeira obtido por extração com CO₂Sc, sendo possível observar que as despesas são lideradas pelos custos com tecnologia e matéria-prima, os quais são gerados pelas taxas de depreciação dos equipamentos de alto valor e alto custo do dióxido de carbono. Para viabilizar a produção do óleo volátil de *V. curassavica* por extração com CO₂Sc, é necessário o aumento, não só do rendimento global, mas também da concentração dos compostos de interesse, pois automaticamente a depreciação não iria impactar tanto nos custos e a matéria-prima seria melhor aproveitada.

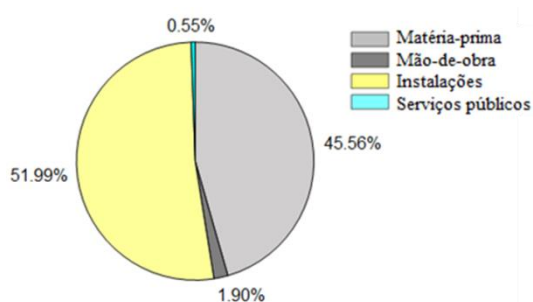


Figura 29 - Composição do custo de produção de extrato de *V. curassavica* para extração com CO₂Sc. UTFPR Câmpus Pato Branco, 2017.

4.4.2.2 Extração com destilação por arraste a vapor

4.4.2.2.1 Análise determinística

Para a realização da análise determinística foram utilizados os valores determinados para a Taxa Mínima de Atratividade de 0,81% ao mês, de acordo com a taxa SELIC (BACEN, 2017), Investimento Inicial de R\$ 305.971,50, Valor Residual nulo, Horizonte de

planejamento de 120 meses, quantidade vendida de $36,80 \text{ L.mês}^{-1}$ óleo essencial de erva baleeira, considerando o Preço de Venda Unitário de R\$ 3.500,00. Para o Custo Fixo de Produção (CFP) e CFP unitário, foram estabelecidos os valores de R\$ 6.834,92 e R\$ 185,63, respectivamente.

O Projeto de Investimento (PI) em estudo necessita de CFD de R\$ 305.971,50 e espera-se que esse investimento retorne R\$ 8.436.783,78 (Valor Presente - VP). Isso implica em um retorno líquido (VPL) de R\$ 8.130.812,28 em 120 meses, equivalente a R\$ 106.192,56 por mês (VPLA). Vale ressaltar que esse ganho sempre é o adicional ao oportunizado pelo mercado (TMA). Para esse PI, a cada unidade monetária investida, há a expectativa de retorno de R\$ 27,57. Isso é equivalente a um ganho extra de 2,80% de retorno do investimento (ROIA) ao mês além da TMA (0,81%). O retorno fica melhor expresso pelo índice ROIA/TMA (SOUZA & CLEMENTE, 2009), cujo valor obtido é de 346%. Isso permite categorizar o investimento como retorno de grau/nível “excelente” (>100%), segundo a escala proposta por Lima et al. (2017b). Os Indicadores de retorno da Metodologia Multi-índice Ampliada (MMIA) estão dispostos na Tabela 13.

Tabela 13 - Indicadores de retorno da Metodologia Multi-índice Ampliada (MMIA). UTFPR Câmpus Pato Branco, 2017.

Indicador	Valor esperado
VP	R\$ 8.436.783,78
VPL	R\$ 8.130.812,28
VP (RT)	R\$ 9.110.433,08
VP (CVT)	R\$ 150.322,15
VP (CF)	R\$ 523.327,16
VP (VR)	R\$ 0,00
VPLA	R\$ 106.192,56
IBC	27,5738
ROIA (%)	2,80

Legenda: Valor Presente (VP), Valor Presente Líquido (VPL), Receita Total (RT), Custo Variável Total (CVT), Custo Fixo (CF), Valor Residual (VR), Valor Presente Líquido Anualizado (VPLA), Índice Benefício de Custo (IBC), Retorno Adicional sobre o Investimento (ROIA).

No tocante a dimensão riscos, o PI em estudo apresenta retorno do investimento em aproximadamente (*Payback*) 10 meses. O índice *Payback/N* é de 8,33%, ou seja, o PI deve ser promissor em 8,33% da vida estimada para se pagar. Por outro lado, o índice TMA/TIR resultou em 5,28%, representando a razão entre o percentual oferecido pelo mercado e o rendimento esperado PI. Isso permite categorizar o investimento como risco de nível/grau baixo (0 a 20%), segundo a escala proposta por Lima et al. (2017b).

A Tabela 14 mostra os Limites de Elasticidade (LEs) e a Figura 30 os Valores-Limite (VLs), para o PI em estudo.

Tabela 14 - Indicadores de elasticidade da MMIA. UTFPR Câmpus Pato Branco, 2017.

Indicador	Variação (%)
ΔTMA	1.794,51
ΔFC_0	2.657,38
ΔFC_j	96,37
ΔFC_0 e FC_j	93,00
ΔTMA e FC_0	1071,16
ΔTMA e FC_j	91,46

Legenda: Variação da Taxa Mínima de Atratividade (ΔTMA), Variação do Investimento Inicial (ΔFC_0), Variação do Fluxo de Caixa (ΔFC_j)

A TMA admite uma variação máxima de 1.794,51% antes de torná-lo economicamente inviável, sendo o valor-limite igual a 15,35% (TIR). Por outro lado, o investimento inicial suporta um acréscimo de até 2.657,38%, sendo o valor-limite igual a R\$ 8.436.783,78. Já o Fluxo de Caixa (FC), permite uma redução máxima 96,37%, sendo o valor-limite igual a R\$ 4.346,16. Esses valores melhoram a percepção dos riscos associados à implantação do PI em estudo. Dessa forma, há uma folga de variação considerada elevada dos custos de implantação e reduções do fluxo de caixa, sendo que o PI em estudo se manterá viável enquanto a variação (aumento) da TMA não for superior a 1.587,11%.

Indicador	Valor-limite
TMA (%)	15,35
FC ₀ (R\$)	8.436.783,78
FC ₁ (R\$)	-247,88
FC ₂ (R\$)	-247,88
FC ₃ (R\$)	-247,88
FC ₄ (R\$)	-247,88
FC ₅ (R\$)	-247,88
FC ₆ (R\$)	-247,88
FC ₇ (R\$)	4.346,16
FC ₈ (R\$)	4.346,16
...	
FC ₁₁₀ (R\$)	4.346,16
FC ₁₁₁ (R\$)	4.346,16
FC ₁₁₂ (R\$)	4.346,16
FC ₁₁₃ (R\$)	4.346,16
FC ₁₁₄ (R\$)	4.346,16
FC ₁₁₅ (R\$)	4.346,16
FC ₁₁₆ (R\$)	4.346,16
FC ₁₁₇ (R\$)	4.346,16
FC ₁₁₈ (R\$)	4.346,16
FC ₁₁₉ (R\$)	4.346,16
FC ₁₂₀ (R\$)	4.346,16

Figura 30 - Valores-Limites (VLs). UTFPR Câmpus Pato Branco, 2017.

Como o preço utilizado para o litro de óleo essencial de erva-baleeira foi baseado na venda ao varejo, se realizou novos cálculos preços de venda variando entre R\$ 500,00 e R\$ 3.500 com o intuito de se observar o efeito dessa variação sobre o valor líquido presente (VPL). Conforme a Figura 31, é possível notar que caso o valor de venda seja menor que R\$ 350,00, é necessário repensar o projeto de investimento, pois não haverá retorno do capital investido.

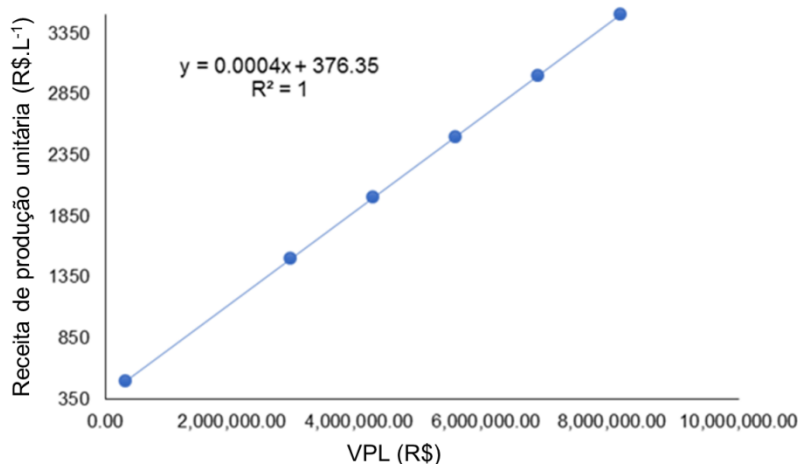


Figura 31- Efeito da variação do preço de venda sobre o Valor Líquido Presente. UTFPR Câmpus Pato Branco, 2017.

4.4.2.2.2 Análise Estocástica via Simulação de Monte Carlo (SMC)

Os parâmetros adotados para a realização das simulações foram: Taxa Mínima de Atratividade (TMA) com distribuição triangular, cujos valores mínimos (0,79%), mais provável (0,81%) e máximo (1,22%) foram baseados no histórico dos últimos três anos da taxa SELIC (BACEN, 2017); Investimento Inicial (FC_0) com distribuição uniforme, sendo adotado o valor mínimo de R\$ 305.971,50, conforme o levantamento de custos (Tabela disponível no Apêndice H), e valor máximo de +20% do valor-base do mesmo; para o Custo Variável Unitário (CV_{u_j}) e o Custo Fixo (CF_j) foi utilizado distribuição normal e adotou-se aqueles encontrados na Tabela disponível no Apêndice H, e valor máximo de +20% dos valores-base dos mesmos; Quantidade Vendida (Q_j) com distribuição triangular, no qual o valor máximo corresponde à produtividade mensal de óleo essencial (36,8 L), valor mínimo de -20% e máximo de +10% do valor-base; e o Preço de Venda Unitário (PV_{u_j}) com distribuição triangular, cujos valores mínimos, mais provável e máximo (R\$ 2.000,00, R\$ 3.500,00 e R\$ 4.000,00, respectivamente) foram estabelecidos com base no histórico de vendas. O Valor Residual foi considerado nulo, uma vez que se trata de uma cultura perene. Além disso, não há expectativa de revenda dos demais equipamentos ao final desse horizonte.

A Tabela 15 apresenta as estatísticas descritivas conforme Lima, et al. (2015) e Lima et al. (2017a). A SMC resultou em um VPL médio de R\$ 6.409.413,67, o qual corresponde a um VPLA de R\$ 80.267,62, valor este próximo do VPLA obtido na abordagem determinístico, o qual foi de R\$ 106.192,56, havendo uma variação dos resultados entre R\$ 5.266.718,76 (valor mínimo) e R\$ 7.273.039,55 (valor máximo). Há 50% de probabilidade de o VPL resultar abaixo da mediana de cerca de R\$ 6.453.089,45 e 50% de possibilidade de resultar acima desse valor. De modo geral, a dispersão pode ser medida pelo desvio-padrão de R\$ 371.064,29 ou pelo coeficiente de variação de 5,79%.

Tabela 15 - Estatísticas descritivas obtidas com a SMC. UTFPR Câmpus Pato Branco, 2017.

Estatísticas descritivas	VPL
Quantidade	R\$ 10.000
Mínimo	R\$ 5.266.718,76
Máximo	R\$ 7.273.039,55
Amplitude (Máx-Mín)	R\$ 2.006.320,78
Média	R\$ 6.409.413,67
Desvio padrão	R\$ 371.064,29
Coeficiente de variação	5,79%
Mediana	R\$ 6.453.089,45

A probabilidade de o PI gerar déficit financeiro foi de 0% ($VPL < 0$). Portanto, a probabilidade do PI ser promissor dentro da variabilidade avaliada sob a ótica econômica é de 100%. Além disso, de acordo com dados apresentados, a simulação revelou que há 19,16% de probabilidade desse PI gerar um VPL abaixo de R\$ 6.049.990,20. Há 96,66% de probabilidade de que o projeto gere um VPL entre R\$ 5.683.531,05 e R\$7.149.367,65. Por fim, há 99,99% de probabilidade de que o VPL gerado supere R\$ 5.317.071,90.

A Tabela 16 apresenta os valores de máximo e mínimo do VPL para nível de confiança de 90%, 95% e 99%.

Tabela 16 - Valores de máximo e mínimo do Valor Presente Líquido a 90, 95 e 99% de probabilidade. UTFPR Câmpus Pato Branco, 2017.

Probabilidade (%)	VPL mínimo (R\$)	VPL máximo (R\$)
90	5.799.067,23	7.019.760,11
95	5.682.141,03	7.136.686,31
99	5.453.615,40	7.365.211,94

A Figura 32 mostra a composição do COM do óleo essencial de *V. curassavica* obtido por extração com arraste a vapor. Observa-se que mais de 50% das despesas são referentes à matéria-prima, seguido de 24,96% de custos com mão de obra. Portanto para a produção do óleo essencial continuar viável economicamente é necessário o controle de todo o processo de produção da biomassa vegetal, assim como utilizá-la ao máximo levando-a a exaustão, além de automatizar os processos envolvidos no cultivo e processamento de erva baleeira para redução de despesas com mão-de-obra.

Quando comparada a tecnologia de extração com CO₂Sc, observa-se que a extração com destilação a vapor exige um CFD consideravelmente mais baixo (aproximadamente 7% do CFD necessário para CO₂Sc), além do processo ser bastante simples, barato e envolver baixo grau técnico de operacional.

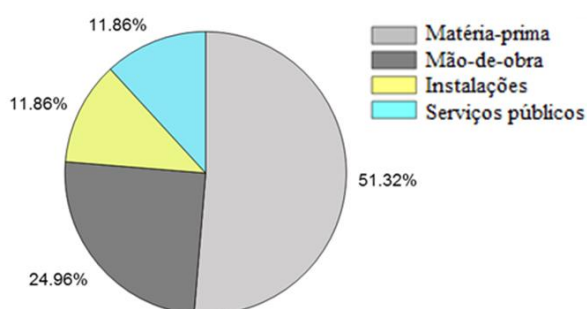


Figura 32 - Composição do custo de produção de óleo essencial de *V. curassavica* utilizando com arraste a vapor. UTFPR Câmpus Pato Branco, 2017.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A extração de *A. annua* utilizando etanol apresentou maior rendimento de extrato que a extração com CO₂Sc, porém com menor concentração de artemisinina.

Os altos rendimentos de extrato etanólico de *A. annua* com baixas concentrações de artemisinina indicam arraste de substâncias polares não desejadas durante o processo de extração, os quais aumentam o nível de dificuldade e os custos de purificação.

A avaliação econômica de produção de extratos de *A. annua* com o solvente etanol revelou altos valores de COM, devido aos altos custos da matéria-prima juntamente com as altas taxas de depreciação do equipamento devido à baixa produtividade anual, resultante dos tempos de extração prolongados.

No planejamento de extração de artemisinina, fazendo uso de CO₂Sc à partir de *A. annua*, das temperaturas e pressões testadas, a condição de 60 °C e 250 bar demonstrou ser mais promissora mesmo não possuindo a maior pureza do composto entre as condições testadas.

O uso do cossolvente etanol nas extrações com CO₂Sc de artemisinina resultou em aumento do rendimento de extrato mas redução de concentração do composto alvo.

O aumento de escala de produção de extratos com alto teor de artemisinina com CO₂Sc contribuiu para a redução do COM, sendo a condição ótima encontrada com extrator com capacidade de 500 L e nas condições de 60 °C e 250 bar sem adição de cossolvente.

A extração de artemisinina com CO₂Sc também não resultou em bons indicadores econômicos, devido ao alto COM dos extratos em todas as capacidades de produção testadas. Contudo os COM encontrados foram atribuídos aos valores elevados de aquisição de matéria-prima e não ao investimento na tecnologia de extração.

O investimento elevado na extração com CO₂Sc é válido, pois ela é eficiente, resulta em extratos de excelente qualidade, reduz etapas futuras de purificação, e mostrou vantagens quando comparada a extração convencional com etanol. Para a viabilização econômica do PI é necessário a redução dos custos de aquisição de matéria-prima, e/ou reaproveitamento da mesma para a produção de demais produtos de alto valor agregado.

Na produção de extratos com CO₂Sc à partir de *V. curassavica* as extrações do Lote 1 apresentaram desvio padrão de grande intensidade, e as temperaturas e pressões testadas não mostraram diferença significativa no rendimento global e concentração de α -humuleno e β -cariofileno, sendo a condição de 40 °C e 100 bar indicada como a melhor condição devido a redução de gastos energéticos.

O segundo lote de *V. curassavica* teve melhores resultados de produção de extratos na primeira alíquota da extração fracionada, a 60 °C e 80 bar, com resultados comparados a extração por destilação com arraste a vapor, porém não superiores que a mesma.

A avaliação econômica de produção de extratos de *V. curassavica* a extração com CO₂Sc se revelou inviável, pois os baixos rendimentos de extrato resultaram em um custo de produção mais elevado que o preço de venda no mercado, conduzindo a VPL negativo.

A produção de óleo essencial de *V. curassavica* por destilação com arraste a vapor resultou em indicadores econômicos excelentes, com alta rentabilidade, baixo risco associado e retorno do investimento em aproximadamente 10 meses, se mostrando um PI promissor devido à alta rentabilidade e baixo risco associado.

Deixo como sugestão para trabalhos futuros o estudo econômico para a obtenção comercial de artemisinina, a partir de *A. annua*, em outros cenários. Cenários estes que podem ter como informações básicas mudanças na composição do COM, como por exemplo a produção familiar de *A. annua*, ou ainda a obtenção de subprodutos de alto valor agregado utilizando a mesma porção de biomassa vegetal.

REFERÊNCIAS

ACHÉ. Histórico: Foco em Inovação - *Cordia verbenacea* DC. (Internacionalização 2011). Disponível em: <<http://www.ache.com.br/Corp/historia.aspx>>; Acesso em: 20 Set. 2014.

ACHEFLAN será lançado no México. São Paulo: Aché Laboratórios Farmacêuticos S.A., 2015. Disponível em: <<http://www.ache.com.br/PressRoom/News.aspx?NewsId=488>>. Acesso em: 25 Mar. 2015.

ACTON, N., KLAYMAN, D. L., ROLLMAN, I. J. Reductive electrochemical HPLC assay for artemisinin (qinghaosu). **Planta Medica**, v.5, p.445-446, 1985.

ADAMS, R. P. Identification of essential oil components by gas chromatography/Mass spectrometry. 4th Edition, Carol Stream: Allured Publishing Corporation, 2007.

AEN – PR. Paraná é o primeiro do mundo na produtividade de soja. 2015. Disponível em: <<http://www.aen.pr.gov.br/modules/noticias/article.php?storyid=93562&tit=Parana-e-o-primeiro-do-mundo-na-produtividade-de-soja>>. Data de acesso: Abril, 2018.

AFTAB, M. T.; MASROOR, A. K.; FERREIRA, J. F. S. Effect of Mineral Nutrition, Growth Regulators and Environmental Stresses on Biomass Production and Artemisin Concentration of *Artemisia annua* L. In: *Artemisia annua – Pharmacology and Biotechnology*. Berlim: Springer, 2014.

ALBARELLI, J.Q.; RABELO, R.B.; SANTOS, D.T.; BEPPU, M.M.; & MEIRELES, M.A.A. Effects of supercritical carbon dioxide on waste banana peels for heavy metal removal. **The Journal of Supercritical Fluids**, 58(3), 343-351, 2011. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.supflu.2011.07.014>

AL-JABARI, M. Kinetic models of supercritical fluid extraction, **Journal of Separation Science**, v. 25, p. 477-489, 2002.

ANDRIÃO, M.A.; PEREIRA, F.C.S.; MARTINS, M.I.E.G.; SACRAMENTO, L.V.S. Estimativas de Custo de Produção e Rentabilidade de Plantas Mediciniais: carqueja cultivada no município de Cajuru, Estado de São Paulo. *Informações Econômicas*. SP. V. 40, n.2, fev. 2010. Disponível em: <<http://www.iea.sp.gov.br/ftp/iea/publicacoes/IE/2010/tec2-0210.pdf>>. Acesso em: Jun. 2017.

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/medicamentos/fitoterapicos/poster_fitoterapicos.pdf>. Acesso em: 03 Mar. 2016.

Anti-Inflamatórios: Anti-inflamatório Acheflan – Benefícios, efeitos e mais. 2017. Disponível em: <<https://antiinflamatorios.com.br/anti-inflamatorio-acheflan-beneficios-efeitos-e-mais/>> Acesso em: Jun. 2017.

ARAUJO, J. S. **Desenvolvimento vegetal, produção e composição Química do óleo essencial de *Cordia verbenacea* DC. (Boraginaceae) em função do fornecimento de N, P, K e B e da aplicação de ácido Jasmônico**. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Biologia. Campinas-SP, 2007.

A2S2 - ASSURED ARTEMISININ SUPPLY SYSTEM. Market Update (August 2013) Disponível em: <<http://www.a2s2.org/market-data/a2s2-market-update-aug13.html>> Acesso em: 22 Set. 2014.

_____. **Market Update** (April 2016) Disponível em: <http://www.a2s2.org/market-data/artemisinin-imports-into-india.html>> Acesso em: 14 Abr. 2017.

BACEN. Banco Central do Brasil. Histórico das Tas de Juros. 2017. Disponível em: <https://www.bcb.gov.br/Pec/Copom/Port/taxaSelic.asp/>>. Acesso em: mai. 2017.

BAGCHI, G.D.; HAIDER, F.; DWIVEDI, P.D.; SINGH, A.; & NAQVI, A.A. Essential oil constituents of *Artemisia annua* during different growth periods at monsoon conditions of subtropical north Indian plains. **Journal of Essential Oil Research**, 15(4), 248-250, 2003.

BHERING, S. B., dos SANTOS, H. G., BOGNOLA, I. A., Cúrcio, G. R., CARVALHO JUNIOR, W. D., CHAGAS, C. D. S., ... & SILVA, J. D. S. Mapa de solos do Estado do Paraná: legenda atualizada. Embrapa Florestas-Artigo em anais de congresso (ALICE). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO, 32, 2009

BOLINA, C.O.; MARCHESE, J.A.; CAPELIN, D; BENIN, G. Correlation between agronomic, physiological and phytochemicals characters in *Artemisia annua* L varieties. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais** (Impresso), v. 15, p. 135-141, 2013.

BOLINA, C. O.; MARCHESE, J. A.; PALADINI, M. V.; PINNOW, C.; BENIN, G.; SOUSA, I. M. O.; FOGGIO, M. A. **Dissimilaridade genética em variedades de *Artemisia annua* L. embasada em caracteres agrônômicos, fisiológicos e fitoquímicos.** Revista Brasileira de Plantas Mediciniais, 2014, p. 356-363.

BRAGATTO, R.D. **Emater** - Instituto Paranaense de Assistência Técnica e Extensão Rural. Guia Prático. 2003.

Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Assistência Farmacêutica. Política e Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos / Ministério da Saúde, Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos, Departamento de Assistência Farmacêutica. – Brasília: Ministério da Saúde, 2016.

BRIARS, R.; PANIWNYK, I. Potential Methods to Improve the Efficiency of Artemisinin Extraction from *Artemisia annua*. In: *Artemisia annua. Pharmacology and Biotechnology*. Springer Berlin Heidelberg, 2014. p. 125-137.

BRISIBE, E.A., UMOREN, U.E., BRISIBE, F., MAGALHÃES, P.M., FERREIRA, J.F., LUTHRIA, D., & PRIOR, R. L. Nutritional characterization and antioxidant capacity of different tissues of *Artemisia annua* L. **Food Chem.** 115, 1240-1246, 2009.

CAPELIN, D. *Artemisia annua* L.: produção de biomassa, artemisinina, rendimento e composição de óleo essencial em função de diferentes variedades e densidades de plantio. 2012. Dissertação (mestrado) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Pato Branco.

CARVALHO Jr, P. M.; RODRIGUES, R. F. O.; SAWAYA, A. C. H. F.; MARQUES, M. O. M.; SHIMIZU, M. T. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Cordia verbenaceae* DC. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 95, p. 297-301, 2004.

CASAROTTO FILHO, N.C.; KOPITKE, B.H. Análise de Investimentos: Matemática Financeira, Engenharia Econômica, Tomada de Decisão, Estratégia Empresarial. 11 ed. São Paulo: Atlas. 2010.

CASTRO, C.; SILVA, M.L.; PINHEIRO, A.L.; JACOVINE, L.A.G. Análise Econômica do Cultivo e Extração do Óleo Essencial de *Melaleuca alternifolia* Cheel. *Revista Árvore*, Viçosa – MG, v. 29, n.2, p. 241-249, 2005.

CELEGHINI, R. M. d. S., I. M. d. O. SOUSA, A. P. d. SILVA, R. A. F. RODRIGUES and M. A. FOGLIO "Desenvolvimento e validação de metodologia analítica por CLAE-IR para determinação de artemisinina em *Artemisia annua* L." **Química Nova**. 2009.

CHATURVEDI, D.; GOSWAMI, A.; SAIKIA, P.P.; BARUA, N.C.; RAO, P.G. Artemisinin and its derivatives: a novel class of anti-malarial and anti-cancer agents. **Chem Soc Rev** 39, 435–454, 2010.

CHEMAT, F.; VIAN, M.A.; CRAVOTTO, G. Green extraction of natural products: concept and principles. **International journal of molecular sciences**, v. 13, n. 7, p. 8615-8627, 2012.

CHRISTEN, P.; VEUTHEY, J.L. New trends in extraction, identification and quantification of artemisinin and its derivatives. **Current medicinal chemistry**, v. 8, n. 15, p. 1827-1839, 2001.

CUTLER M., LAPKIN A. (2007) Separation of artemisinin from primary extracts: a study commissioned through medicines for malaria venture (MMV) [online]. Disponível em: <<http://www.mmv.org/newsroom/publications/separation-artemisinin-primary-extracts>> Acesso em: 15 Nov. 2015.

DAROS, R.R., HÖTZEL, M.J., BRAN, J.A., LEBLANC, S.J., VON KEYSERLINGK, M.A.G. Prevalence and risk factors for transition period diseases in grazing dairy cows in Brazil. **Prev. Vet. Med.** 145, 16–22, 2017.

DE CASTRO, R.A.; ALBIERO, A.L.M. O mercado de matérias primas para indústria de fitoterápicos. **Revista Fitos Eletrônica**, v. 10, n. 1, p. 59-72, 2016.

DIOP, E. Save our Children by Wiping Out Malaria! The Global Fund. 01 MAY 2017. Disponível em: <<https://www.theglobalfund.org/en/blog/2017-05-01-save-our-children-by-wiping-out-malaria/>> Acesso em Jun. 2017.

DNDi: ASMQ – ARTESUNATE/MEFLOQUINE. Disponível em:<<https://www.dndi.org/diseases-projects/portfolio/asmq/>> Acesso em Jun. 2015.

EFFERTH T. Mechanistic perspectives for 1,2,4-trioxanes in anti-cancer therapy. **Drug Resist**, 2005, Update 8: 85-97.

ELLMAN A. Cultivation of *Artemisia annua* in Africa and Asia. **Outlooks Pest Manage**. 21, 84–88, 2010.

ELSOHLY, H. N.; CROOM Jr, E. M., EL-FERALY, F. S., & EL-SHEREI, M. M.A large-scale extraction technique of artemisinin from *Artemisia annua*. **Journal of natural products**, v. 53, n. 6, p. 1560-1564, 1990.

EMERSON ECOLOGICS: Delivering to improve health. Cordia extreme™ 2 OZ (Cordia). 2015. Disponível em: < <https://www.emersonecologics.com/Products/EmersonMain/PIDCORDIA.aspx>> . Acesso em: 21 mar. 2015.

ENSERINK, M. Source of new hope against malaria is in short supply. **Science**, v. 307, n. 5706, p. 33, 2005.

FAPESP: Pesquisa FAPESP 118. A terapia da artemísia - Medicamento contra a malária derivado da planta chinesa será produzido no Brasil. **Revista FAPESP**, Dez. 2005.

FAPESP: Pesquisa FAPESP 255. Laboratório em renovação - Aché cria laboratório de nanotecnologia e firma parcerias para desenvolver novos medicamentos. **Revista FAPESP**, Maio 2017.

FERREIRA, J. S.; JANICK, J. Cultivation and genetics of *Artemisia annua* L. for increased production of the antimalarial artemisinin. **Plant Genetic Resources**, v.3, n.2, p.206–229, 2005.

Fiocruz Notícias: Núcleo de Assistência Farmacêutica ratifica atuação como colaborador da Opas. 2011. Disponível em: < <https://agencia.fiocruz.br/n%C3%BAcleo-de-assist%C3%Aancia-farmac%C3%AAutica-ratifica-atua%C3%A7%C3%A3o-como-colaborador-da-opas>> Acesso em: Jan. 2017.

FOGLIO, M. A.; DIAS, P.C.; CARVALHO, J.E.; REHDER, V.L.G.; ANTONIO, M. A. ; POSSENTI, A.; RODRIGUES, R.A.F.; SILVA, E.F. Antiulcerogenic activity of sesquiterpene lactone enriched fraction from crude hydroalcoholic extract of *Artemisia annua* L. **Planta Medica**, New York, v. 68, p. 515-518, 2002.

FORNARI, T.; VICENTE, G.; VÁZQUEZ, E.; GARCIA-RISCO, M.R.; REGLERO, G. Isolation of essential oil from different plants and herbs by supercritical fluid extraction. **Journal of Chromatography A**, v. 1250, p. 34-48, 2012.

FRAGOSO, T.P. **Análise do uso medicinal do gênero *Artemisia* no Brasil com base em fatores tradicionais, científicos, políticos e patentários para subsidiar o Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos**. Monografia (especialização) – Instituto de Tecnologia em Fármacos – Farmanguinhos, Pós-graduação em Gestão da Inovação em Fitomedicamentos, Rio de Janeiro, 2014.

GILBERT, B.; FAVORETO, R. *Cordia verbenacea* DC Boraginaceae. **Revista Fitos Eletrônica**, v. 7, n. 01, 2013.

GIL-CHÁVEZ, G. J.; VILLA, J. A.; AYALA-ZAVALA, J. F.; HEREDIA, J. B.; SEPULVEDA, D.; YAHIA, E. M.; GONZÁLEZ-AGUILAR, G. A. Technologies for extraction and production of bioactive compounds to be used as nutraceuticals and food ingredients: an overview. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 12, 2013.

GILMORE, K.; Kopetzki, D.; Lee, J.W., Horváth; Z.; McQuade, D.T.; Seidel-Morgenstern, A.; & Seeberger, P.H. Continuous synthesis of artemisinin-derived medicines. **Chemical Communications**, v. 50, n. 84, p. 12652-12655, 2014.

Global Cosmetic, Notícia 2017, Mais verdes do que nunca, os produtos naturais continuam em expansão. Disponível em: <http://globalcosmetic.com.br/noticia.php?n=mais-verdes-do-que-nunca-os-produtos-naturais-continuam-em-expansao>, Acesso em: 20 Abr. 2017.

HAO, J.-y.; HAN, W.; XUE, B.-y. and DENG, X. Microwave-assisted extraction of artemisinin from *Artemisia annua* L. **Separation and Purification Technology** 28(3): 191-196, 2002.

Harmonia Natural: Óleo essencial de erva baleeira. Disponível em: <http://harmonia-natural.net/erva-baleeira.html>. Acesso em: Maio 2017.

HARZER, J. H. **Indicadores de riscos em projetos de investimentos: uma contribuição à Metodologia Multi-índice**. Tese (Doutorado em Administração) Pontifícia Universidade Católica do Paraná, Curitiba 2015.

HAYNES, R. K.; VONWILLER, S. C. Extraction of artemisinin and artemisinic acid: preparation of artemether and new analogues. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 88, n. Supplement 1, p. 23-26, 1994.

HERBIA: Óleo essencial de erva baleeira. Disponível em: < <http://www.herbia.com.br/produtos/oleos-essenciais/oleo-essencial-de-erva-baleeira/>>, Acesso em Maio 2017.

HOAREAU, L. & DA SILVA, E.J. Medicinal plants: a re-emerging health aid. **Electronic Journal of Biotechnology**. V. 2 (2), 1999.

HWANG, D.I.; WON, K.J.; KIM, D.Y.; YOON, S.W.; PARK, J.H.; KIM, B.; e LEE, H.M. Anti-adipocyte Differentiation Activity and Chemical Composition of Essential Oil from *Artemisia annua*. **Natural product communications**, 11(4), 539, 2016.

ISLAMUDDIN, M.; CHOUHAN, G.; WANT, M.Y.; TYAGI, M.; ABDIN, M.Z.; SAHAL, D.; e AFRIN, F. Leishmanicidal activities of *Artemisia annua* leaf essential oil against visceral leishmaniasis. **Frontiers in microbiology**, 5, 2014.

IVANESCU, B.; CORCIOVA, A. Artemisinin in Cancer Therapy. In: *Artemisia annua- Pharmacology and Biotechnology*. Springer Berlin Heidelberg, p. 205-227. 2014.

JOLY, A.B. Botânica: introdução à taxonomia vegetal. 6. ed. São Paulo: Nacional, 1987. 578 p.

JUNIOR, D.O.P.; GADELHA, T.; CASTRO, A.A. Monitoramento dos indicadores de inovação, importação e exportação na indústria farmacêutica. UFSE. **Revista GEINTEC**, São Cristovão, SE, v.3, n.5, p.313-328, 2013. ISSN: 2237-0722.

JUTEAU, F.; MASOTTI, V., BESSIERE, J.M., DHERBOMEZ, M., & VIANO, J. Antibacterial and antioxidant activities of *Artemisia annua* essential oil. **Fitoterapia**, v. 73, n. 6, p. 532-535, 2002.

KOHLER, M.; HAERDI, W.; CHRISTEN, P. and VEUTHEY, J.-L. Extraction of artemisinin and artemisinic acid from *Artemisia annua* L. using supercritical carbon dioxide. **Journal of Chromatography A** 785(1-2): 353-360, 1997.

KÖPPEN, W. Climatologia: con um estúdio de los climas de la Tierra. México: Fondo de Cultura Economica, 1948. 478p.

KUHN, T. & WANG, Y. Artemisinin—an Innovative cornerstone for anti-malaria therapy. **Prog Drug Res**, 65:385–422, 2007.

LADEIRA, R. **Instituto Brasileiro de estudos homeopáticos. Preparação do extrato seco de *Cordia verbenacea***. 2002. Monografia (especialização) - Instituto Brasileiro De Estudos Homeopáticos, Faculdade De Ciências Da Saúde De São Paulo, Porto Alegre.

LAI, H.C.; SINGH, N.P.; SASAKI, T. Development of artemisinin compounds for cancer treatment. **Invest New Drugs** 31, 230–246, 2013.

LAPKIN, A.; PLUCINSKI, P.K.; CUTLER, M. **Comparative assessment of technologies for extraction of artemisinin, a summary of report commissioned through malaria medicines ventures (MMV)**. Department of Chemical Engineering University of Bath, 2006.

LASLO: Óleo essencial de erva baleeira. Disponível em: < <https://www.belezadocampo.com.br/laszlo-oleo-essencial-de-erva-baleeira-folhas>>, Acesso em: Maio 2017.

LEITÃO, N.C.M.C.S.; PRADO, G.H.C.; VEGGI, P.C.; MEIRELES, M.A.A.; PEREIRA, C.G. Anacardium occidentale L. leaves extraction via SFE: global yields, extraction kinetics, mathematical modeling and economic evaluation. **J. Supercrit. Fluids** 78 (0), 114–123, 2013.

LÉVESQUE, F.; SEEBERGER, P.H. Continuous-Flow Synthesis of the Anti-Malaria Drug Artemisinin. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 51, n. 7, p. 1706-1709, 2012.

LIMA, J.D. Manual de análise de viabilidade econômica de projetos de investimento (MAVEPI). Departamento Acadêmico de Matemática – DAMAT, 2017. Disponível em: <<http://pb.utfpr.edu.br/savepi/recursosDidaticos.php>>.

LIMA, J.D. de; TRENTIN, M.G.; OLIVEIRA, G.A.; BATISTUS, D.R.; SETTI, D. A systematic approach for the analysis of the economic viability of investment projects. **Int. J. Engineering Management and Economics**. v.5, n. 1/2. 2015. p. 19-34.

LIMA, J.D. de; TRENTIN, M.G.; OLIVEIRA, G.A.; BATISTUS, D.R.; SETTI, D. "Systematic Analysis of Economic Viability with Stochastic Approach: A Proposal for Investment" in Engineering Systems and Networks. **Springer International Publishing**, p.317-325, Switzerland, 2017a.

LIMA, J.D. de; BENNMANN, M.; SOUTHER, L. F. P.; BATISTUS, D. R.; OLIVEIRA, G. A. \$AVEP: Web System to Support the Teaching and Learning Process in Engineering Economics. **Brazilian Journal of Operations and Production Management**, v. 14, p. 469-485, 2017b.

LIN, Y.-L.; YANG, C.-C.; HSU, H.-K.; HSU, S.-L. and CHANG, C.-M. J. Response surface methodology to supercritical fluids extraction of artemisinin and the effects on rat hepatic stellate cell in vitro. **The Journal of Supercritical Fluids** 39(1): 48-53, 2006.

LIU H., T.X., ZHANG Y., WANG C., JIANG H. The discovery of *Artemisia annua* L. in the Shengjindian cemetery, Xinjiang, China and its implications for early uses of traditional Chinese herbal medicine qinghao. **J. Ethnopharmacol** 146, 278–286, 2013.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas. Nova Odessa. Instituto Plantarum. 2008. 2. ed. 544 p.

MAGIERO, E. C.; ASSMANN, J. M.; MARCHESE, J. A.; CAPELIN, D.; PANADINI, M.V.; TREZZI, M. M. Efeito alelopático de *Artemisia annua* L. na germinação e desenvolvimento inicial de plântulas de alface (*Lactuca sativa* L.) e leiteiro (*Euphorbiaheterophylla*L.). **Rev. Bras. Pl. Med.**, v. 11, n. 3, p. 317-324, 2009.

MALWADE, C. R.; QU, H.; RONG, B. G.; CHRISTENSEN, L. P. Conceptual process synthesis for recovery of natural products from plants: a case study of artemisinin from *Artemisia annua*. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v. 52, p. 7157-7169, 2013.

MARCHESE, J.A. & REHDER, V.L.G. The influence of temperature in the production of artemisinin in *Artemisia annua* L.. **Braz. J. Med. Plant**, Botucatu, v. 4, p. 89-93. 2001.

MARCHESE, J. A.; FIGUEIRA, J.M. **O uso de tecnologias pré e pós-colheita e boas práticas agrícolas na produção de plantas medicinais e aromáticas.** REV. BRAS. PL. MED., Botucatu, v.7, n.3, p.86-96, 2005.

MARCHESE, J. A. **Caracterização do mecanismo fotossintético e aspectos relacionados à floração de *Artemisia annua* L.** 2006. 68 f. Tese (Doutorado) – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Botucatu, 2006.

MARCHESE, J. A.; FERREIRA, J. F.; REHDER, V. L.; RODRIGUES, O. **Water deficit effect on the accumulation of biomass and artemisinin in annual wormwood (*Artemisia annua* L., Asteraceae).** *Brazilian J. of Plant Physiology*, 2010, p.1-9.

MARQUES, M. C. M.; OLIVEIRA, P. E. A. M. Características reprodutivas das espécies vegetais da planície litorânea. In: MARQUES, M. C. M; BRITZ, R. M. (Org.). **História natural e conservação da Ilha do Mel.** Curitiba: UFP, 2005. p. 85-101.

MARTINEZ, J., ROSA, P.T.V., MEIRELES, M.A.A. Extraction of clove and vetiver oils with supercritical carbon dioxide: modeling and simulation. *Open Chem. Eng. J.*, 1 (1), 1–7, 2007.

MARTINEZ-CORREA, H.A.; BITENCOURT, R.G.; KAYANO, A.C.A.V.; MAGALHÃES, P.M.; COSTA, F.T.M. and CABRAL, F.A. Integrated extraction process to obtain bioactive extracts of *Artemisia annua* L. leaves using supercritical CO₂, ethanol and water. **Industrial Crops and Products**, 95: 535-542, 2017.

MASANGO, P. Cleaner production of essential oils by steam distillation. **Journal of Cleaner Production**, v. 13, n. 8, p. 833-839, 2005.

MATSUSHITA, M., CORRÊA JÚNIOR, C., SANTOS, A., & HOSOKAWA, R. Produção e comercialização do guaco (*Mikania laevigata* Schultz Bip. ex Baker) na região Sul do Estado do Paraná. **Rev. Bras. Pl. Med.**, 17(3), 351-359, 2015.

MCHUGH, M.; KRUKONIS, V. Supercritical fluid extraction: principles and practice. **Elsevier**, 2013.

MEDEIROS, R.; Medeiros, R.; Passos, G.F.; Vitor, C.E.; Koepp, J.; Mazzuco, T.L.; Pianowski, L.F.; ... & Calixto, J.B. Effect of two active compounds obtained from the oil of *C. verbenacea* on the acted inflammatory responses elicited by LPS in the rat paw. **British Journal of Pharmacology**, v. 151, n. 5, p. 618-627. 2007.

MEIRELES M.A.A., ROSA P.T.V. Universidade Estadual de Campinas. Processo de extração e purificação de artemisinina a partir de massa sólida de *Artemisia annua* utilizando dióxido de carbono. Brasil. 2010. Patente

MEIRELES, M. A. A. Extração Supercrítica: Aspectos Técnicos e Econômicos. **Revista Fitos Eletrônica**, v. 2, n. 01, p. 65-72, 2013.

MENDES, A.D.R.; MENDES, A.D.R.; NASCIMENTO, C.R.; QUEIROZ, T.B.; PINTO, V.B.; & MARTINS, E.R. Ecogeografia de populações de erva-baleeira (*Varronia curassavica*) no Norte e Vale do Jequitinhonha em Minas Gerais. **Ciência Rural**, v.45, n.3, p.418-424, 2015.

MERCK. **Ficha de informações de segurança de produtos químicos:** Etanol absoluto. São Paulo: Merck, 2006a.

MERCK. **Ficha de informações de segurança de produtos químicos:** n-Hexano. São Paulo: Merck, 2006b.

MICHIELIN, E.M.; SALVADOR, A.A.; RIEHL, C.A.; SMÂNIA, A.; SMÂNIA, E. F.; & FERREIRA, S.R. Chemical composition and antibacterial activity of *Cordia verbenacea* extracts obtained by different methods. *Bioresource technology*, 100(24), 6615-6623, 2009.

MONDAL, A.; CHATTERJI, U. Artemisinin Represses Telomerase Subunits and Induces Apoptosis in HPV-39 Infected Human Cervical Cancer Cells. **Journal of cellular biochemistry**, 2015, doi: 10.1002/jcb.25152.

MONTANARI JUNIOR, I. Aspectos do cultivo comercial de erva baleeira. **Revista Agroecologia Hoje**, v. 3, n. 2, p. 14-15, 2000.

MONTANARI, I. Jr. **Viabilidade genética em uma população de *Cordia verbenacea* DC. para características agronômicas e fitoquímicas.** Tese de doutorado. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho". Botucatu, SP. 2011.

MORETTO, E.; FETT, R. Tecnologia de oleos e gorduras vegetais na industria de alimentos, Livraria Varela. **São Paulo**, 1998.

MORGAN, J. P. Introduction to riskmetrics. New York: JP Morgan, 1994.

MORVILLO, C.M.; DE LA FUENTE, E.B.; GIL, A.; MARTÍNEZ-GHERSA, M.A.; & GONZÁLEZ-ANDÚJAR, J.L. Competitive and allelopathic interference between soybean crop and annual wormwood (*Artemisia annua* L.) under field conditions. *European Journal of Agronomy*, v. 34, n. 4, p. 211-221, 2011.

NEVES, M.C.M. Plantas medicinais: diagnóstico e gestão. Ed. IBAMA. Brasília. 52. 2001.

NEWMAN, D.J.; CRAGG, G.M. Natural products as sources of new drugs over the 30 years from 1981 to 2010. *Journal of natural products*, v. 75, n. 3, p.311-335, 2012.

NORONHA, E.; DE NEGRI, F.; ARTUR, K. Custos do trabalho, direitos sociais e competitividade industrial. **Tecnologia, exportação, e emprego**. Brasília: Ipea, 2006.

Notícias, 2005: A fórmula pioneira do Aché. 29/06/2005. Disponível em: <<http://www.istoedinheiro.com.br/noticias/negocios/20050629/formula-pioneira-ache/25773>> Acesso em: 08 Abr. 2016.

Notícias.MED.BR, 2007. Medicamentos novos no mercado farmacêutico: saiba quais são as novidades. Disponível em: <<http://www.news.med.br/p/pharma-news/11144/medicamentos-novos-no-mercado-farmaceutico-saiba-quais-sao-as-novidades.htm>>. Acesso em: 8 Abr. 2016.

Notícias, 2015. Parceria com México. Disponível em: <<http://www.ache.com.br/impress/imprensa/noticias/ache-vai-exportar-para-os-eua/>>, Acesso em: Mar. 2015.

OLIVEIRA S.M.M.; JOSÉ V.L.A. Processos de extração de óleos essenciais. Dossiê Técnico. Instituto de Tecnologia do Paraná. Set. 2007. Disponível em: <<http://www.respostatecnica.org.br/dossie-tecnico/downloadsDT/MTgy>>. Acesso em: 01 Abr. 2016.

ODLARE, M.; ARTHURSON, V.; PELL, M.; SVENSSON, K.; NEHRENHEIM, E.; & ABUBAKER, J. Land application of organic waste – Effects on the soil ecosystem. **Applied Energy**, 88(6), 2210-2218, 2011. doi: <http://doi.org/10.1016/j.apenergy.2010.12.043>

OMS - Organização Mundial de Saúde: Relatório da Conferência Internacional sobre Cuidados Primários de Saúde. 1979. Disponível em: <http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/39228/5/9241800011_por.pdf> Acesso em: Jan. 2017.

OMS - Organização Mundial de Saúde: World malaria report 2005. Genebra: WHO, 2005. 294p.

_____. WHO Urges Countries to Act on New Anti-Resistance Malaria Medicines. 2002, Geneva: World Health Organization, Disponível em: <<https://apps.who.int/inf/en/pr-2002-31.html>>, Acesso em: 20 Jun. 2014.

_____. Malaria: Fact sheet N°94 - March 2013. Disponível em: <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs094/en/index.html>>. Acesso em: 07 Jul. 2013.

_____. World Malaria Report. 2016. WHO. Disponível em: <<http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/254912/1/WHO-HTM-GMP-2017.4eng.pdf?ua=1>>, Data de acesso: 15 Mai. 2017.

_____. GLOBAL VECTOR CONTROL RESPONSE 2017–2030. Background document to inform deliberations during the 70th session of the World Health Assembly. **World Health Organization**, 2017a. Disponível em: < http://www.who.int/malaria/areas/vector_control/Draft-WHO-GVCR-2017-2030.pdf?ua=1>, Data de acesso: 30 Jun. 2017.

_____. Artemisinin and artemisinin-based combination therapy resistance. **World Health Organization**, 2017b. Disponível em: < <http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/255213/1/WHO-HTM-GMP-2017.9-eng.pdf?ua=1>>, Data de acesso: 30 Jun. 2017.

OSORIO-TOBÓN, J.F.; CARVALHO, P.I.; BARBERO, G.F.; NOGUEIRA, G.C.; ROSTAGNO, M.A.; & de ALMEIDA MEIRELES, M.A. Fast analysis of curcuminoids from turmeric (*Curcuma longa* L.) by high-performance liquid chromatography using a fused-core column. **Food chemistry**, v. 200, p. 167-174, 2016.

PALADINI M. V. *Artemisia annua* L.: produção de biomassa, artemisinina, rendimento e composição de óleo essencial influenciados por diferentes eliciadores e níveis de adubação NPK. 2012. Dissertação (mestrado) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Pato Branco.

PASSOS, G. F.; FERNANDES, E. S.; CUNHA, F. M.; FERREIRA, J.; PIANOWSKI, L. F.; CAMPOS, M. M.; CALIXTO, J. B. Anti-inflammatory and anti-allergic properties of the essential oil and active compounds from *Cordia verbenaceae*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 110, p.323-333, 2007.

PEPLOW, M. Synthetic biology's first malaria drug meets market resistance. **Nature**, v. 530, p. 389-390, 2016.

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

PERRY, R. H.; & GREEN, D. W. Perry's Chemical Engineer's Handbook (7th ed.). New York.: Mc Graw Hill, 1997.

PETERS, M.; TIMMERHAUS, K; & WEST, R. Plant Design and Economics for Chemical Engineers: McGraw-Hill Education, 2003.

PINTO, A.C.; BARREIRO, E.J.L. Como chegar aos fármacos verde-amarelos? **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 21, n. 12, p. 2173, 2010.

Portal Brasil, Relação de fitoterápicos oferecidos pelo SUS. Última modificação 09/11/2012, Ministério da Saúde. Disponível em: < <http://www.brasil.gov.br/saude/2012/11/sus-tem-fitoterapicos-para-doencas-simples/relacao-de-fitoterapicos-oferecidos-pelo-sus/view>> Acesso em: Fev. 2016.

PRADO, J.M.; DALMOLIN, I.; CARARETO, N.D.D.; BASSO, R.C.; MEIRELLES, A.J.A.; OLIVEIRA, V.J.; BATISTA, E.A.C.; MEIRELES, M.A.A. Supercritical fluid extraction of grape seed: process scale-up, extract chemical composition and economic evaluation. **J. Food Eng.** 109 (2), 249–257, 2012.

PRADO, J.M.; FORSTER–CARNEIRO, T.; ROSTAGNO, M.A.; ROMERO, L.A.F.; FILHO, F.M.; & MEIRELES, M.A.A. Obtaining Sugars From Coconut Husk, Defatted Grape Seed, And Pressed Palm Fiber By Hydrolysis With Subcritical Water. **The Journal of Supercritical Fluids**, 89, 89-98, 2014.

QU, H.; CHRISTENSEN, K. B.; FRETTÉ, X. C.; TIAN, F.; GREVSEN, K. RANTANEN, J.; CHRISTENSEN L. P. Crystallization for the isolation and purification of artemisinin from crude extracts of *Artemisia annua*: feasibility and challenges. **BIWIC-16th International Workshop on Industrial Crystallization**, 2009, p. 37-44.

QUISPE-CONDORI, S.Q. **Determinação dos parâmetros de processo nas diferentes etapas da extração supercrítica de produtos naturais: *Artemisia annua*, *Cordia verbenacea*, *Ocimum selloi* e *Foeniculum vulgare***. 2005. Tese (doutorado) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

QUISPE-CONDORI, S.; SANCHEZ, D.; FOGGIO, M.A.; ROSA, P.T.V.; ZETZL, A.; BRUNNER, G.; MEIRELES, M.A.A. Global yield isotherms and kinetic of artemisinin extraction from *Artemisia annua* L leaves using supercritical carbon dioxide. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 36, p. 40-48, 2005.

QUISPE-CONDORI, S. Q.; FOGGIO, M. A.; ROSA, T. V. P.; MEIRELES, M. A. A. Obtaining β -caryophyllene from *Cordia verbenacea* de Candolle by supercritical fluid extraction. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 46, p. 27-32, 2008.

REVERCHON, E.; SENATORE, F.; Isolation of Rosemary oil: comparison between hydrodistillation and supercritical CO₂ extraction. **Flavour Fragr J.**, 7:227e30, 1992.

RYAN, M. P. Patent Incentives, Technology Markets, and Public-Private Bio-Medical Innovation Networks in Brazil. **World Development**, v. 38, p. 1082-1093, 2010.

RODRIGUES, R.A.F.; FOGLIO, M.A.; BOAVENTURA JR, S.; SANTOS, A.S.; REHDER, V.L.G. Otimização do processo de extração e isolamento do antimalárico artemisinina a partir de *Artemisia annua* L. **Química Nova**, v. 29, n. 2, p. 368-372, 2006.

SADIQ, A., MUHAMMAD Q.H., MUHAMMAD A. 2014. Ethnopharmacology of *Artemisia annua* L.: A review. **Artemisia annua-Pharmacology and Biotechnology**. Sprin. Berlin Heidelberg, 9-25.

SANTOMAURO, F., DONATO, R., SACCO, C., PINI, G., FLAMINI, G., e BILIA, A. R. Vapour and Liquid-Phase *Artemisia annua* Essential Oil Activities against Several Clinical Strains of Candida. **Planta medica**. 2016.

SANTOS, J. C. **Extração com fluido supercrítico e suas aplicações na obtenção de produtos naturais**. 2011. Trabalho de Conclusão de Curso - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

\$AV€II. Sistema de Análise da Viabilidade Econômica de Projetos de Investimento. Disponível em: <<http://pb.utfpr.edu.br/savepi>>. Acesso em: mai. 2017.

SERAFINI, L. A.; BARROS, N. M.; AZEVEDO, J. L. **Biotecnologia na agricultura e na agroindústria**. Guaíba: Livraria e Editora Agropecuária, 2001.

SCHMIDELL, W., LIMA, A. U., AQUARONE, E., & BORZANI, W. **Biotecnologia Industrial**, vol 2. Edgard Blücher, São Paulo. 2001. ISBN 85-212-0279-2.

SHRETTA, R.; YADAV, P. Stabilizing supply of artemisinin and artemisinin-based combination therapy in an era of wide-spread scale-up. **Malaria journal**, v. 11, n. 1, p. 399, 2012.

SILVA JR, A.A.; VIZZOTO, V.J.; GIORGI, E. Plantas medicinais caracterização e cultivo. Florianópolis: EPAGRI, 1995. 71 p. Boletim Técnico, 68.

SMITH, R. Chemical Process Design and Integration. Chichester: Wiley, 2005.

SOUZA, A.; & CLEMENTE, A. Decisões Financeiras e Análises de Investimentos: Conceitos, técnicas e aplicações. 6. Ed. São Paulo: Atlas, 2009.

SOUZA, A.; XAVIER, Jr. A.E.; SALES, L.B.; LIMA, A.K.C.; ECHTERNACHT, T.H.S. Return Expectations and Perceived Risks in the Establishment of a Business Unit of Cashew Nut Processing in Rio Grande do Norte State, Brazil. **International Journal of Agricultural Research**, 11: 56-68, 2016.

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

SuperPro Designer®. SPDManual. Disponível em: <http://www.intelligen.com/downloads/SPDManual_HC.pdf> Data de acesso: Maio, 2018.

TANKO, H., CARRIER, D. J., DUAN, L., & CLAUSEN, E. Pre-and post-harvest processing of medicinal plants. *Plant Genetic Resources: Characterization and Utilization*, 3(02), 304-313, 2005.

TEIXEIRA, D., GOMES, J., BONFIM, F., PARDO, P., & MAYOBRE, M. Postharvest conservation techniques for basil. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, 18(1), 168-171, 2016.

TELLEZ, M. R.; CANEL, C., RIMANDO, A. M., & DUKE, S. O. Differential accumulation of isoprenoids in glanded and glandless *Artemisia annua* L. **Phytochemistry**, v. 52, n. 6, p. 1035-1040, 1999.

TZENG, T. C.; LIN, Y. L.; JONG, T. T.; CHANG, C. J. Ethanol modified supercritical fluids extraction of scopoletin and artemisinin from *Artemisia annua* L. **Separation and Purification Technology**, v. 56, p. 18-24, 2007.

TOKUOKA, M.; SAWAMURA, N.; KOBAYASHI, K.; MIZUNO, A. Simple metabolite extraction method for metabolic profiling of the solid-state fermentation of *Aspergillus oryzae*. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v. 110, n. 6, p. 665–669, 2010.

TOWLER, M.J.; WEATHERS, P. J. Variations in key artemisinin and other metabolites throughout plant development in *Artemisia annua* L. for potential therapeutic use. **Industrial crops and products**, v. 67, p. 185-191, 2015.

TRAN, K.Q.; ANTONY, S.T.; GARY, L.F.; Artemisinin triggers a G1 cell cycle arrest of human Ishikawa endometrial cancer cells and inhibits Cyclin Dependent Kinase-4 promoter activity and expression by disrupting NF- κ B transcriptional signaling. **Anti-cancer drugs**, 25, 270. 2014.

TURTON, R.; BAILIE, R.C.; WHITING, W.B.; & SHAEIWITS, J.A. Analysis, synthesis, and design of chemical processes (3rd ed.). New Jersey: Prentice Hall, 2009.

UNITAID: Global malaria diagnostic and artemisinin treatment commodities demand forecast 2015 – 2018. Relatório de previsão, **OMS**, Abril 2016.

VAN DEN DOOL, H.; KRATZ, D. J. A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography, **Journal of Chromatography A**, v. 11, p. 463-471, 1963.

VARDANEGA, R.; PRADO, J. M.; & MEIRELES, M.A.A. Adding value to agri-food residues by means of supercritical technology. *The Journal of Supercritical Fluids*, 96, 217-227, 2015.

VAZ, A.P.A.; SCARANARI, C.; BATISTA, L.A.R.; FIGUEIRA, G.M.; SARTORATTO, A.; MAGALHÃES, P.M. Biomassa e composição química de genótipos melhorados de espécies medicinais cultivadas em quatro municípios paulistas. **Pesq.agropec. bras.**, Brasília, v. 41, n. 5, May 2006.

VEGGI, P.C.; CAVALCANTI, R.N.; MEIRELES, M.A.A. Production of phenolic-rich extracts from Brazilian plants using supercritical and subcritical fluid extraction: experimental data and economic evaluation. **Journal of Food Engineering**, v. 131, p. 96-109, 2014.

VEGGI, P. C., J. M. PRADO, G. A. BATAGLION, M. N. EBERLIN and M. A. A. MEIRELES Obtaining phenolic compounds from jatoba (*Hymenaea courbaril* L.) bark by supercritical fluid extraction. **The Journal of Supercritical Fluids** 89: 68-77, 2014.

VEIGA Jr. V.F.; PINTO, A.C.; MACIEL, M.A. Plantas medicinais: cura segura. **Química nova**, v. 28, n. 3, p. 519-528, 2005.

VIEGAS JR, Cláudio; BOLZANI, Vanderlan da Silva; BARREIRO, Eliezer J. Os produtos naturais e a química medicinal moderna. **Química Nova**, v. 29, n. 2, p. 326-337, 2006.

VIGANÓ, J.; ZABOT, G.L.; MARTÍNEZ, J. Supercritical fluid and pressurized liquid extractions of phytonutrients from passion fruit by-products: economic evaluation of sequential multi-stage and single-stage processes. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 122, p. 88-98, 2017.

Waters, The Science of What is Possible. MV-10 ASFE System – System Guide for ChromScope. V1.20. Copyright © Waters Corporation 2012.

WETZSTEIN, H. Y.; PORTER, J. A.; JANICK, J.; & FERREIRA, J.F. Flower morphology and floral sequence in *Artemisia annua* (Asteraceae) 1. **American journal of botany**, v. 101, n. 5, p. 875-885, 2014.

XING, H.; YANG, Y.; SU, B.; HUANG, M. and REN Q. Solubility of artemisinin in supercritical carbon dioxide. **Journal of Chemical & Engineering Data** 48(2): 330-332, 2003.

ZABOT, G.L.; MORAES, M.N.; ROSTAGNO, M.A.; & MEIRELES, M.A.A. Fast analysis of phenolic terpenes by high-performance liquid chromatography using a fused-core column. **Analytical Methods**, v. 6, n. 18, p. 7457-7468, 2014.

ZABOT, G.L.; MORAES, M.N.; CARVALHO, P.I.N.; & MEIRELES, M.A.A. New proposal for extracting rosemary compounds: Process intensification and economic evaluation. **Industrial Crops and Products**, 77, 758-771, 2015.

ZARONI, M.; PONTAROLO, R.; ABRAHÃO, W. S. M.; FÁVERO, M. L. D; CORREA JÚNIOR, C.; STREMEL, D. P. Qualidade microbiológica das plantas medicinais produzidas no Estado do Paraná. **Revista Brasileira de Farmacologia**, v. 14, n. 1, p. 29-39, 2004.

ZUÑIGA, A. D. G.; PEREIRA, J. A. M.; COIMBRA, J. S. R.; MINIM, L. A., ROJAS, E. E. G. REVISÃO: TÉCNICAS USADAS NO PROCESSO DE PURIFICAÇÃO DE BIOMOLÉCULAS. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, Curitiba, v. 21, n. 1, p. 61-82, 2003.

ÍNDICE DE APÊNDICES

<i>APÊNDICE A – Planejamento experimental de extração com dióxido de carbono supercrítico a partir de A. annua em três temperaturas (40, 50 e 60 °C), três pressões (200, 250 e 300 bar) e três níveis de cossolvente (0, 15 e 25%). LASEFI/FEA/UNICAMP Campinas, 2016.....</i>	<i>101</i>
<i>APÊNDICE B – Planejamento experimental de extração com dióxido de carbono supercrítico à partir de V. curassavica em duas temperaturas (40 e 60 °C) e cinco pressões (100, 150, 200, 250, 300 bar). LASEFI/FEA/UNICAMP Campinas, 2016.....</i>	<i>102</i>
<i>APÊNDICE C - Planilha de cálculo de custos finais dos equipamentos de extração de fluido supercrítico de diferentes tamanhos estimados de acordo com o “power Law” - 5 e 50 L. UTFPR Câmpus Pato Branco, 2017.</i>	<i>103</i>
<i>APÊNDICE D - Planilha de cálculo de custos finais dos equipamentos de extração de fluido supercrítico de diferentes tamanhos estimados de acordo com o “power Law”- 100 e 500 L. UTFPR Câmpus Pato Branco, 2017.....</i>	<i>104</i>
<i>APÊNDICE E - Planilha de cálculo de custos de produção comercial terceirizada de A. annua. UTFPR Câmpus Pato Branco, 2016.....</i>	<i>105</i>
<i>APÊNDICE F - Planilha de cálculo de custos de cultivo comercial de V. curassavica em agroindústria. UTFPR Câmpus Pato Branco, 2017.....</i>	<i>106</i>
<i>APÊNDICE G - Planilha de Capital Fixo Direto (CFD) para implementação de Agroindústria e custos de produção comercial de óleo volátil por extração com dióxido de carbono supercrítico a partir de V. curassavica. UTFPR Câmpus Pato Branco, 2017.</i>	<i>107</i>
<i>APÊNDICE H - Planilha de cálculo de Capital Fixo Direto (CFD) para implementação de Agroindústria e custos de produção comercial de óleo essencial por extração com destilação com destilação por arraste a vapor a partir de V. curassavica. UTFPR Câmpus Pato Branco, 2017.</i>	<i>108</i>
<i>APÊNDICE I - Resumo da Análise de Variância para o planejamento experimental de extração com dióxido de carbono supercrítico a partir de A. annua em três temperaturas (40, 50 e 60 °C), três pressões (200, 250 e 300 bar) e três níveis de cossolvente (0, 15 e 25%). UTFPR Câmpus Pato Branco, 2016.....</i>	<i>109</i>
<i>APÊNDICE J - Perfil por Cromatografia em camada delgada, sem limpeza das amostras, dos extratos obtidos por extração com dióxido de carbono supercrítico à partir de A. annua. CPQBA/UNICAMP Campinas, 2016.</i>	<i>110</i>
<i>APÊNDICE K - Resumo da Análise de Variância para o planejamento experimental de extração com dióxido de carbono supercrítico a partir de V. curassavica em duas temperaturas (40 e 60 °C) e cinco pressões (100, 150, 200, 250 e 300 bar). UTFPR Câmpus Pato Branco, 2017.....</i>	<i>111</i>
<i>APÊNDICE L – Composição química de óleo essencial de V. curassavica – Lote 2. CPQBA/UNICAMP Campinas, 2017.....</i>	<i>112</i>
<i>APÊNDICE M - Composição química do extrato de V. curassavica – Lote 2 obtido por extração fracionada com CO₂Sc na temperatura de 60 °C e pressões de 80, 200 e 300 bar. CPQBA/UNICAMP Campinas, 2017.</i>	<i>113</i>
<i>APÊNDICE N - Quantificação de β-cariofileno no óleo essencial de V. curassavica – Lote 2 obtido por destilação com arraste a vapor, e nos extratos de V. curassavica – Lote 2, obtidos com dióxido de carbono supercrítico na condição de 60 °C e 250 bar, por extração fracionada com dióxido de carbono supercrítico na temperatura de 60°C e pressões de 80, 200 e 300 bar. CPQBA/UNICAMP Campinas, 2017.....</i>	<i>114</i>
<i>APÊNDICE O - Quantificação de α-humuleno no óleo essencial de V. curassavica – Lote 2 obtido por destilação com arraste a vapor, e nos extratos de V. curassavica – Lote 2, obtidos com dióxido de carbono supercrítico na condição de 60 °C e 250 bar, por extração fracionada com dióxido de carbono supercrítico na temperatura de 60°C e pressões de 80, 200 e 300 bar. CPQBA/UNICAMP Campinas, 2017.....</i>	<i>115</i>

APÊNDICES

APÊNDICE A – Planejamento experimental de extração com dióxido de carbono supercrítico a partir de *A. annua* em três temperaturas (40, 50 e 60 °C), três pressões (200, 250 e 300 bar) e três níveis de cossolvente (0, 15 e 25%). LASEFI/FEA/UNICAMP Campinas, 2016.

Ordem de execução	Ordem das amostras	Blocos	Temperatura (°C)	Pressão (bar)	Cossolvente (%)
18	1	1	50	300	25
1	2	1	40	200	0
12	3	1	50	200	25
3	4	1	40	200	25
11	5	1	50	200	15
13	6	1	50	250	0
2	7	1	40	200	15
7	8	1	40	300	0
27	9	1	60	300	25
10	10	1	50	200	0
19	11	1	60	200	0
6	12	1	40	250	25
4	13	1	40	250	0
14	14	1	50	250	15
16	15	1	50	300	0
24	16	1	60	250	25
15	17	1	50	250	25
8	18	1	40	300	15
17	19	1	50	300	15
25	20	1	60	300	0
23	21	1	60	250	15
20	22	1	60	200	15
26	23	1	60	300	15
5	24	1	40	250	15
9	25	1	40	300	25
22	26	1	60	250	0
21	27	1	60	200	25

APÊNDICE B – Planejamento experimental de extração com dióxido de carbono supercrítico à partir de *V. curassavica* em duas temperaturas (40 e 60 °C) e cinco pressões (100, 150, 200, 250, 300 bar). LASEFI/FEA/UNICAMP Campinas, 2016.

Ordem de execução	Ordem das amostras	Blocos	Temperatura (°C)	Pressão (bar)
15	1	1	40	300
12	2	1	40	150
6	3	1	60	100
8	4	1	60	200
2	5	1	40	150
3	6	1	40	200
13	7	1	40	200
7	8	1	60	150
5	9	1	40	300
4	10	1	40	250
20	11	1	60	300
16	12	1	60	100
14	13	1	40	250
11	14	1	40	100
1	15	1	40	100
9	16	1	60	250
19	17	1	60	250
10	18	1	60	300
18	19	1	60	200
17	20	1	60	150

APÊNDICE C - Planilha de cálculo de custos finais dos equipamentos de extração de fluido supercrítico de diferentes tamanhos estimados de acordo com o “power Law” - 5 e 50 L. UTFPR Câmpus Pato Branco, 2017.

Extrator de 5 L:

Descrição	Quantidade	Preço Unitário (US\$)	Valor (US\$) total	Fonte
Extratores (5 L)	2	6.217,67	12.435,33	Cotação direta
Banho aquecimento	1	2.063,09	2.063,09	Cotação direta
Banho resfriamento	1	2.283,91	2.283,91	Cotação direta
Bomba CO ₂	1	24.420,00	24.420,00	Cotação direta
Bomba solvente	0	14.630,00	-	Cotação direta
Separadores	2	3.003,15	6.006,31	Cotação direta
Medidor vazão	1	7.886,44	7.886,44	Cotação direta
Tanque pulmão	1	2.157,73	2.157,73	Cotação direta
<i>Back pressure</i>	3	1.780,00	5.340,00	Zabot 2015
<i>Micrométrica</i>	1	1.090,00	1.090,00	Zabot 2015
<i>Bloqueio</i>	8	220,00	1.760,00	Zabot 2015
<i>Safety</i>	2	310,00	620,00	Zabot 2015
Tubulação	1	3.660,00	3.660,00	Zabot 2015
Estrutura	1	4.060,00	4.060,00	Zabot 2015
Manômetro	5	410,00	2.050,00	Zabot 2015
Controlador temperatura	4	310,00	1.240,00	Zabot 2015
Total			77.072,81	

Extrator de 50 L:

Descrição	Quantidade	Fator aumento escala	Valor 50 L (US\$)	Total (US\$)
Extratores (5 L)	2	0,82	41.079,71	82.159,42
Banho aquecimento	1	0,59	8.026,36	8.026,36
Banho resfriamento	1	0,59	8.885,45	8.885,45
Bomba CO ₂	1	0,55	86.645,43	86.645,43
Bomba solvente	0	0,55	51.909,20	-
Separadores	2	0,49	9.280,63	18.561,27
Medidor vazão	1	0,60	31.396,46	31.396,46
Tanque pulmão	1	0,49	6.668,02	6.668,02
<i>Back pressure</i>	1	0,60	18.612,38	18.612,38
<i>Micrométrica</i>	2	0,60	11.397,47	22.794,94
<i>Bloqueio</i>	8	0,60	2.300,41	18.403,26
Tubulação	1	0,60	38.270,41	38.270,41
Estrutura	1	0,60	42.452,97	42.452,97
Manômetro	5		410,00	2.050,00
Controlador temperatura	4	0,60	3.241,48	12.965,93
Total				397.892,29

APÊNDICE D - Planilha de cálculo de custos finais dos equipamentos de extração de fluido supercrítico de diferentes tamanhos estimados de acordo com o “power Law”- 100 e 500 L. UTFPR Câmpus Pato Branco, 2017.

Extrator de 100 L:

Descrição	Quantidade	Fator aumento escala	Valor 100 L (US\$)	Total (US\$)
Extratores (5 L)	2	0,82	72.522,37	145.044,73
Banho aquecimento	1	0,59	12.081,65	12.081,65
Banho resfriamento	1	0,59	13.374,79	13.374,79
Bomba CO2	1	0,55	126.856,33	126.856,33
Bomba solvente	0	0,55	75.999,52	-
Separadores	2	0,49	13.034,14	26.068,28
Medidor vazão	1	0,60	47.588,14	47.588,14
Tanque pulmão	1	0,49	9.364,87	9.364,87
<i>Back pressure</i>	1	0,60	28.211,10	28.211,10
<i>Micrométrica</i>	2	0,60	17.275,34	34.550,67
<i>Bloqueio</i>	8	0,60	3.486,77	27.894,12
Tubulação	1	0,60	58.007,09	58.007,09
Estrutura	1	0,60	64.346,66	64.346,66
Manômetro	5		410,00	2.050,00
Controlador temperatura	4	0,60	4.913,17	19.652,68
Total				615.091,11

Extrator de 500 L:

Descrição	Quantidade	Fator aumento escala	Valor 500 L (US\$)	Total (US\$)
Extratores (5 L)	2	0,82	271.410,95	542.821,90
Banho aquecimento	1	0,59	31.226,15	31.226,15
Banho resfriamento	1	0,59	34.568,40	34.568,40
Bomba CO2	1	0,55	307.429,59	307.429,59
Bomba solvente	0	0,55	184.180,79	-
Separadores	2	0,49	28.679,90	57.359,81
Medidor vazão	1	0,60	124.991,58	124.991,58
Tanque pulmão	1	0,49	20.606,15	20.606,15
<i>Back pressure</i>	1	0,60	74.097,24	74.097,24
<i>Micrométrica</i>	2	0,60	45.374,15	90.748,30
<i>Bloqueio</i>	8	0,60	9.158,09	73.264,68
Tubulação	1	0,60	152.357,24	152.357,24
Estrutura	1	0,60	169.008,30	169.008,30
Manômetro	5		410,00	2.050,00
Controlador temperatura	4	0,60	12.904,57	51.618,30
Total				1.732.147,62

APÊNDICE E - Planilha de cálculo de custos de produção comercial terceirizada de *A. annua*. UTFPR Câmpus Pato Branco, 2016.

Cálculos realizados com base na cultura de CAPIM LIMÃO (*Cymbopogon citratus*) (Bragatto, 2003), com as devidas alterações de informações específicas da cultura de *A. annua* e atualização de valores de material de consumo e mão de obra local:

Espaçamento entre plantas: 1x1 m

Área: 01 ha.

Número de plantas por hectare: 10.000

Produtividade prevista: 4000 kg.ha⁻¹ de folhas secas

Especificação	Unidade	Quantidade	Custo unitário (R\$)	Custo total (R\$)
a) Preparo do solo				
aração	HM	2,0	121,64 ^a	243,28
gradagem	HM	1,0	121,64 ^a	121,64
distribuição de adubo de base	HM	1,0	121,64 ^a	121,64
b) Plantio	HD	18,0	15,00 ^b	270,00
c) Tratos culturais				
capina (02 passadas)	HD	12,0	15,00 ^b	180,00
aplicação de adubo de cobertura	HD	1,0	15,00 ^b	15,00
d) Colheita				
Manual com desgalhe	HD	40,0	15,00 ^b	600,00
e) Insumos				
mudas (semente + substrato + mão de obra)	unid	10.000	0,07 ^c	700,00
adubo básico	Kg	300	1,5 ^d	450,00
adubo de cobertura	Kg	250	1,5 ^d	375,00
f) Transporte	Km	150	1,5 ^c	225,00
			TOTAL (R\$)	3301,56
			Lucro Produtor Rural (2,5 vezes)* (R\$)	11555,46
			TOTAL ** (US\$)	3701,66
			Total kg.ha⁻¹ (US\$)	0,93

HM: Hora máquina (R\$/H); HD: Homem dia (R\$/H);

^a SOBRATEMA -- <https://www.sobratema.org.br/CustoHorario/Tabela>

^b Valor de mão de obra local Jun. 2016.

^c Cálculo realizado com base nos custos atualizados Jun. 2016.

^d Cotação direta Jun. 2016.

*ELLMAN (2010), **Dolar 29/03/2017: R\$ 3,1217

APÊNDICE F - Planilha de cálculo de custos de cultivo comercial de *V. curassavica* em agroindústria. UTFPR Câmpus Pato Branco, 2017.

Operação	Unidade	Valor Unitário (R\$)	Quantidade	Total (R\$.ha ⁻¹)
mão de obra	Mensalista ^a	1031	2	2062,00
Encargos	Mensalista ^b	721,7	2	1443,40
Herbicidas	L ^c	17	1	17,00
Capina	HD ^b	80	2	160,00
Arrendamento	ha ^c	200	1	200,00
Uréia	saco 50 kg ^c	56	8	448,00
Fósforo	saco 50 kg ^c	69	2	138,00
Potássio	saco 50 kg ^c	65	2	130,00
Custo total de produção de <i>V. curassavica</i> por ha				4598,40
Custo de produção do Kg de folha seca de <i>V. curassavica</i> por ha				0,62

HD: homem dia, ha: Hectare

^a trabalhador agropecuário - Sindicato da categoria 2017.

^b NORONHA et al., 2006.

^c Cotação local.

APÊNDICE G - Planilha de Capital Fixo Direto (CFD) para implementação de Agroindústria e custos de produção comercial de óleo volátil por extração com dióxido de carbono supercrítico a partir de *V. curassavica*. UTFPR Câmpus Pato Branco, 2017.

Operação	Unidade	Valor Unitário (R\$)	Quantidade	Total (R\$.ha ⁻¹)
Operações Mecanizadas - 2 hectares				
Aração	HM ^a	125,25	3	375,75
Sulcação da Linha de Plantio	HM ^a	125,25	5	626,25
Distribuição de Mudas	HM ^a	125,25	3	375,75
			Total	1.377,75
Operações Manuais				
Plantio	HD ^b	80	20	1.600,00
			Total	1.600,00
Insumos para Plantio				
Uréia	saco 50 kg	56	4	224,00
Fósforo	saco 50 kg	69	1	69,00
Potássio	saco 50 kg	65	1	65,00
Mudas	unidade ^c	9	9.200	82.800,00
Irrigação	R\$.ha ^{-1d}	500	1	500,00
			Total	83.658,00
			Total ha	86.635,75
			Total 2 ha	176.471,50
Planta Industrial de Extração				
Equipamento Extrator - 100 L	Unidade	200.7734,421	2	4.015.468,84
Barracão 300 m ²	Unidade	100.000,00	1	100.000,00
			Total	4115468,84
Capital de investimento total				4.291.940,34
Custos por Processamento				
Custos fixos				
mão de obra	Mensalista ^e	1.315,6	3	3.946,80
Encargos	Mensalista ^f	920,92	3	2.762,76
			Total	6.709,56
Custos variáveis				
Serviços Públicos	R\$.Mês ^{-1g}	1.925,00	1	1.925,00
Insumos	R\$.Mês ⁻¹	183.425,00	1	183.425,00
CO ₂	R\$.Mês ^{-1b}	156.157,10	1	156.157,10
			Total	341.507,10
Custo total M.P.+óleo				341.507,10
Custo fixo total M.P.+óleo				352.815,06
Custo variável total M.P.+óleo				11.307,96
Custo de produção do LITRO de óleo essencial				341.507,10
Custo fixo de produção do LITRO de óleo essencial				8.715,79
Custo variável de produção do LITRO de óleo essencial				279,35

HM: hora máquina, HD: homem dia, ha: Hectare

^a SOBRATEMA -- <https://www.sobratema.org.br/CustoHorario/Tabela>

^b Cotação local

^c Cotação CLONAGRI -- <http://clonagri.com/micropropagadas/>

^d CASTRO et al.(2005), valor atualizado em <http://www.calculador.com.br/calculo/correcao-valor-por-indice>

^e Auxiliar de produção - Sindicato da categoria 2017.

^f NORONHA et al. (2006).

^g Balanços de energia gerados pelo SuperPro Designer[®]8.5.

APÊNDICE H - Planilha de cálculo de Capital Fixo Direto (CFD) para implementação de Agroindústria e custos de produção comercial de óleo essencial por extração com destilação com destilação por arraste a vapor a partir de *V. curassavica*. UTFPR Câmpus Pato Branco, 2017.

Operação	Unidade	Valor Unitário (R\$)	Quantidade/ha	Total (R\$.ha ⁻¹)	
Operações Mecanizadas - 2 hectares					
Aração	HM ^a	125,25	3	375,75	
Sulcação da Linha de Plantio	HM ^a	125,25	5	626,25	
Distribuição de Mudas	HM ^a	125,25	3	375,75	
			Total	1.377,75	
Operações Manuais					
Plantio	HD ^b	80	20	1.600,00	
			Total	1.600,00	
Insumos para Plantio					
Uréia	saco 50 kg	56	4	224,00	
Fósforo	saco 50 kg	69	1	69,00	
Potássio	saco 50 kg	65	1	65,00	
Mudas	unidade ^c	9	9.200	82.800,00	
Irrigação	R\$.ha ⁻¹ *	500	1	500,00	
			Total	83.658,00	
			Total ha	86.635,75	
			Total 2 ha	176.471,50	
Planta Industrial de Extração					
Equipamento Destilador - Dorna 100 kg	unidade	28000	1	28.000,00	
Barracão 300 m ²	unidade	100000	1	100.000,00	
Talha	unidade	1500	1	1.500,00	
			Total	129.500,00	
Capital de investimento total				305.971,50	
Custos por Processamento					
Custos fixos de					
	mão-de-obra	Mensalista ^f	1315,6	1	1.315,60
	Encargos	Mensalista ^e	920,92	1	920,92
				Total	2.236,52
Custos variáveis					
Água Hidrodestilação ^g	5 m ³	1	32,9	32,90	
Embalagens vidro ambar (1L)	unidade	7	10	70,00	
Gás	kg	6,62	150	993,00	
Electricidade ^h	kWh	0,6402	1600	1.024,32	
Água (fluido refrigerante) ^a	6-10 m ³	1,02	5	5,10	
			Total	2.125,32	
Custo total M.P.+óleo				8.960,24	
Custo fixo total M.P.+óleo				6.834,92	
Custo variável total M.P.+óleo				2.125,32	
Custo de produção do LITRO de óleo essencial				243,48	
Custo fixo de produção do LITRO de óleo essencial				185,73	
Custo variável de produção do LITRO de óleo essencial				57,75	

HM: hora máquina, HD: homem dia, ha: Hectare

^a SOBRATEMA -- <https://www.sobratema.org.br/CustoHorario/Tabela>

^b Cotação local

^c Cotação CLONAGRI -- <http://clonagri.com/micropropagadas/>

^d CASTRO et al.(2005), valor atualizado em <http://www.calculador.com.br/calculo/correcao-valor-por-indice>

^e Auxiliar de produção - Sindicato da categoria 2017.

^f NORONHA et al. (2006).

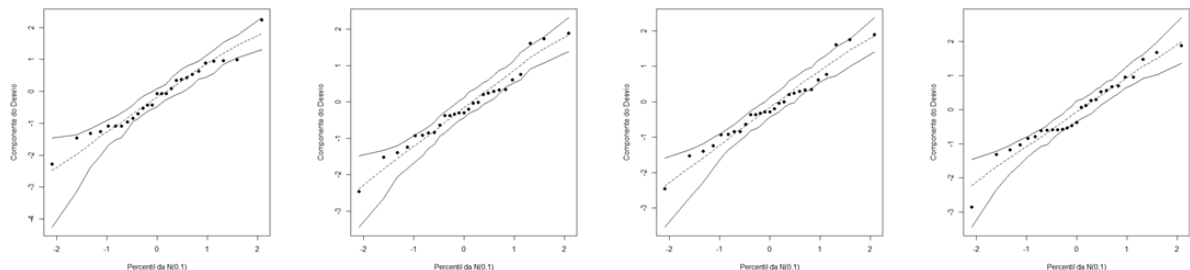
APÊNDICE I - Resumo da Análise de Variância para o planejamento experimental de extração com dióxido de carbono supercrítico a partir de *A. annua* em três temperaturas (40, 50 e 60 °C), três pressões (200, 250 e 300 bar) e três níveis de cossolvente (0, 15 e 25%). UTFPR Câmpus Pato Branco, 2016.

Para modelagem dos dados foi utilizado um Modelo Linear Generalizado (Nelder & Wedderburn, 1972), para todas as variáveis respostas com distribuição Gama e função de ligação logarítmica. Inicialmente foram considerados modelos saturados considerando a potência, temperatura e cossolvente, bem como as interações de primeiro e segundo grau. Após o ajuste e verificação de pressupostos do modelo, apenas o efeito dos níveis do cossolvente mostraram ser significativos ($\chi^2 = 0,0041; 4,9e-14; 1,01e-7; 4,09e-14$), para todas as variáveis estudadas na seguinte ordem: Rendimento do Extrato (RE), Pureza do Extrato (PUR_ART), Artemisinina folha (ART_F) e Mg de artemisinina por grama de extrato (mgART/gE)

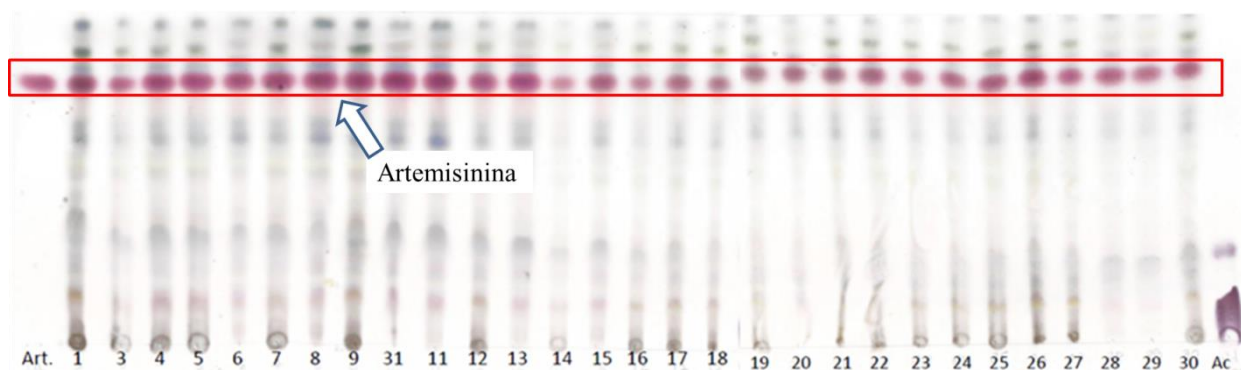
Para verificar quais níveis de Cossolvente diferiram entre si, foi utilizado o Teste de Tukey, ao nível de 5% de significância. Os resultados são apresentados abaixo.

Rendimento do Extrato				
Comparação	Diferença	Erro-Padrão	z-value	p-valor
15-0 == 0	0,36622	0,11536	3,174	0,0042
25-0 == 0	0,29724	0,11536	2,577	0,027
25-15 == 0	-0,06898	0,11536	-0,598	0,8212
Pureza do Extrato				
15-0 == 0	-1,81037	0,26967	-6,713	<1e-05
25-0 == 0	-1,71244	0,26967	-6,350	<1e-05
25-15 == 0	0,09793	0,26967	0,363	0,93
Artemisinina Folha				
15-0 == 0	-1,5158	0,3021	-5,017	<1e-04
25-0 == 0	-1,3317	0,3021	-4,408	<1e-04
25-15 == 0	0,1841	0,3021	0,609	0,815
Mg de artemisinina por mg do extrato				
15-0 == 0	-1,81037	0,26967	-6,713	<1e-05
25-0 == 0	-1,71244	0,26967	-6,350	<1e-05
25-15 == 0	0,09793	0,26967	0,363	0,93

Por meio dos gráficos abaixo, verifica-se que a suposição de distribuição gama para os dados está correta, uma vez que todos os pontos encontram-se entre os limites estabelecidos.



APÊNDICE J - Perfil por Cromatografia em camada delgada, sem limpeza das amostras, dos extratos obtidos por extração com dióxido de carbono supercrítico à partir de *A. annua*. CPQBA/UNICAMP Campinas, 2016.



Art= Padrão de artemisinina Ac =Padrão de ácido artemisinínico

Amostras de extratos de *A. annua* obtidas com dióxido de carbono supercrítico submetidas a CCD.

N ° Exp.	Pressão (bar)	Temperatura (°C)	Solvente	Cossolvente- Etanol (%)
1	300	50	CO ₂	25
3	200	50	CO ₂	25
4	200	40	CO ₂	25
5	200	50	CO ₂	15
6	250	50	CO ₂	0
7	200	40	CO ₂	15
8	300	40	CO ₂	0
9	300	60	CO ₂	25
31	200	50	CO ₂	0
11	200	60	CO ₂	0
12	250	40	CO ₂	25
13	250	40	CO ₂	0
14	250	50	CO ₂	15
15	300	50	CO ₂	0
16	250	60	CO ₂	25
17	250	50	CO ₂	25
18	300	40	CO ₂	15
19	300	50	CO ₂	0
20	300	60	CO ₂	15
21	250	60	CO ₂	15
22	200	60	CO ₂	15
23	300	60	CO ₂	15
24	250	40	CO ₂	15
25	300	40	CO ₂	25
26	250	60	CO ₂	0
27	200	60	CO ₂	25
28	300	50	CO ₂	0
29	200	40	CO ₂	0
30	250	40	CO ₂	25

APÊNDICE K - Resumo da Análise de Variância para o planejamento experimental de extração com dióxido de carbono supercrítico a partir de *V. curassavica* em duas temperaturas (40 e 60 °C) e cinco pressões (100, 150, 200, 250 e 300 bar). UTFPR Câmpus Pato Branco, 2017.

Rendimento do Extrato (% B.S.)			
SQ	QM	F	P valor
7,34670	1,04953	0,7414 ns	0,6469 ns
Concentração de α -humuleno (g/100g extrato)			
0,34671	0,04953	1,3082 ns	0,3549 ns
Concentração de β -cariofileno (g/100g extrato)			
5,42516	0,77502	1,1572 ns	0,4169 ns

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < 0,01$)

* significativo ao nível de 5% de probabilidade ($0,01 \leq p < 0,05$)

ns não significativo ($p \geq 0,05$)

APÊNDICE L – Composição química de óleo essencial de *V. curassavica* – Lote 2. CPQBA/UNICAMP Campinas, 2017.

Composição química do óleo essencial de *V. curassavica* – Lote 2 obtido por destilação com arraste a vapor.

Pico	Composto	Proporção (%)	RT (min)	RI*	RI**
1	α -Pino	40,44	8,463	933	939
2	Canfeno	0,62	8,892	944	946
3	Sabineno	0,56	9,913	971	969
4	β -Pino	1,59	10,006	973	979
5	(Z)- β -Ocimeno	0,86	12,234	1026	1032
6	<i>cis</i> -hidrato Sabineno	0,94	12,315	1028	1065
7	Cânfora	2,38	17,397	1141	1141
8	Acetato de bornila	0,56	23,859	1243	1287
9	α - <i>cis</i> -Bergamotol	1,74	29,127	1407	1412
10	β-Cariofileno	18,56	29,625	1419	1417
11	γ -Elemeno	6,80	29,695	1421	1434
12	α-Humuleno	2,31	30,937	1451	1436
13	(Z)- β -Farneseno	1,75	31,145	1457	1440
14	<i>cis</i> -Muurolo-3,5-dieno	1,05	32,050	1479	1448
15	(E)- β -Farneseno	0,79	32,236	1483	1454
16	desconhecido	2,54	33,257	1509	-
17	(E)- γ -Bisaboleno	0,93	34,127	1531	1529
18	<i>cis</i> -hidrato de Sesquisabineno	0,63	34,986	1554	1542
19	Óxido de cariofileno	2,03	36,018	1580	1582
20	desconhecido	0,95	36,378	1590	-
21	desconhecido	0,90	39,070	1660	-
22	(Z)- α - <i>trans</i> -bergamotol	3,77	39,371	1669	1690
23	desconhecido	5,54	39,685	1678	-

RT: Tempo de retenção; RI: Índice de retenção; (-) Não identificado.

* Calculado

** Teórico (ADAMS, 2007)

Composição química do extrato de *V. curassavica* – Lote 2 obtido por extração com dióxido de carbono supercrítico na condição de 60 °C e 250 bar.

Pico	Composto	Proporção (%)	RT (min)
1	α -Pino	0,34	8,335
6	β-Cariofileno	11,35	29,533
10	α-Humuleno	1,73	30,902
11	(Z)- β -Farneseno	1,78	31,111
29	(Z)- α -Bergamotol	3,31	39,325
30	Acetato de bisabolol	5,08	39,615

RT: Tempo de retenção; Apresentação apenas dos compostos identificados.

APÊNDICE M - Composição química do extrato de *V. curassavica* – Lote 2 obtido por extração fracionada com CO₂Sc na temperatura de 60 °C e pressões de 80, 200 e 300 bar. CPQBA/UNICAMP Campinas, 2017.

Composição fitoquímica do óleo volátil de *V. curassavica* – Lote 2 obtido por extração fracionada com dióxido de carbono supercrítico na condição de 60 °C e 80 bar.

Pico	Composto	Proporção (%)	RT (min)
1	α -Zingibereno	3,63	29,080
2	β-Cariofileno	30,46	29,568
3	(<i>E</i>)- γ -Bisaboleno	19,33	29,649
4	α-Humuleno	4,59	30,913
5	B-Sesquifelandreno	5,36	31,134
7	δ -Cadineno	1,42	32,039
9	Isocariofileno	6,66	33,246
11	Burnesol	2,42	34,127
12	Óxido de cariofileno	3,05	35,995
14	(<i>Z</i>) α - β -Bergamotol	6,77	39,348
15	Acetato de bisabolol	9,54	39,627

RT: Tempo de retenção; Apresentação apenas dos compostos identificados.

Composição química do extrato de *V. curassavica* – Lote 2 obtido por extração fracionada com dióxido de carbono supercrítico na condição de 60 °C e 200 bar.

Pico	Composto	Proporção (%)	RT (min)
1	α -Pino	0,074	8,336
4	β-Cariofileno	1,957	29,498
5	(<i>E</i>)- γ -Bisaboleno	1,510	29,591
6	α-Humuleno	0,387	30,890
22	(<i>Z</i>) α -Bergamotol	2,045	39,325
23	Acetato de bisabolol	3,666	39,604

RT: Tempo de retenção; Apresentação apenas dos compostos identificados.

Composição química do extrato de *V. curassavica* – Lote 2 obtido por extração fracionada com dióxido de carbono supercrítico na condição de 60 °C e 300 bar.

Pico	Composto	Proporção (%)	RT (min)
3	β-Cariofileno	1,992	29,498
4	(<i>E</i>)- γ -Bisaboleno	1,588	29,591
5	α-Humuleno	0,410	30,890
21	(<i>Z</i>) α -trans-Bergamotol	1,968	39,325
22	Acetato de bisabolol	3,382	39,603

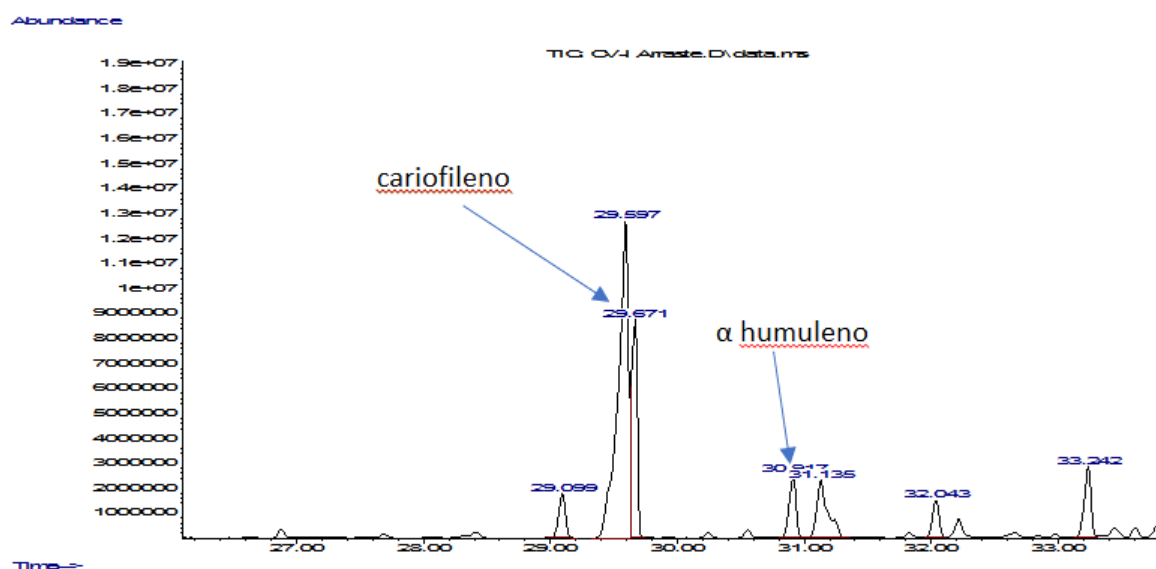
RT: Tempo de retenção; Apresentação apenas dos compostos identificados.

APÊNDICE N - Quantificação de β -cariofileno no óleo essencial de *V. curassavica* – Lote 2 obtido por destilação com arraste a vapor, e nos extratos de *V. curassavica* – Lote 2, obtidos com dióxido de carbono supercrítico na condição de 60 °C e 250 bar, por extração fracionada com dióxido de carbono supercrítico na temperatura de 60°C e pressões de 80, 200 e 300 bar. CPQBA/UNICAMP Campinas, 2017.

Amostras	Massa (mg)	Volume (mL)	Área	Concentração ($\mu\text{g/mL}$)	μg	(%) P/P
SD _i	32,6	1	703099172	4100,56	4100,56	12,58
SD _{ii}	33,7	1	982929608	5709,67	5709,67	16,94
ScCO ₂ -1estágio _i	389,3	10	143607278	883,29	8832,93	2,27
ScCO ₂ -1estágio _i	437,6	10	280952859	1673,08	16730,76	3,82
ScCO ₂ -Seq-80bar _i	107,7	5	316047855	1874,88	9374,42	8,70
ScCO ₂ -Seq-200bar _i	217,6	5	42226089	300,32	1501,59	0,69
ScCO ₂ -Seq-300bar _i	209,6	5	6332419	93,92	469,58	0,22
ScCO ₂ -Seq-80bar _{ii}	107,9	5	363262059	2146,38	10731,90	9,95
ScCO ₂ -Seq-200bar _{ii}	246,1	5	3534467	77,83	389,14	0,16
ScCO ₂ -Seq-300bar _{ii}	203,6	5	41869015	298,26	1491,32	0,73

Legenda: SD – Destilação com arraste a vapor; Seq – extração em 3 estágios; i, ii – repetições 1 e 2.

Ampliação do Cromatograma (CG-EM) de óleo essencial de *V. curassavica*, extração com destilação por arraste a vapor. CPQBA/UNICAMP Campinas, 2017.



APÊNDICE O - Quantificação de α -humuleno no óleo essencial de *V. curassavica* – Lote 2 obtido por destilação com arraste a vapor, e nos extratos de *V. curassavica* – Lote 2, obtidos com dióxido de carbono supercrítico na condição de 60 °C e 250 bar, por extração fracionada com dióxido de carbono supercrítico na temperatura de 60°C e pressões de 80, 200 e 300 bar. CPQBA/UNICAMP Campinas, 2017.

Amostras	Massa (mg)	Volume (mL)	área	Concentração ($\mu\text{g/mL}$)	μg	(%) P/P
SD _i	32,6	1	92615204	497,46	497,46	1,53
SD _{ii}	33,7	1	122174547	640,75	640,75	1,90
ScCO ₂ -1estágio _i	389,3	10	32909138	208,01	2080,14	0,53
ScCO ₂ -1estágio _i	437,6	10	41388846	249,12	2491,22	0,57
ScCO ₂ -Seq-80bar _i	107,7	5	51206579	296,72	1483,58	1,38
ScCO ₂ -Seq-200bar _i	209,6	5	1208120	54,33	271,67	0,13
ScCO ₂ -Seq-300bar _i	217,6	5	8357414	88,99	444,96	0,20
ScCO ₂ -Seq-80bar _{ii}	107,9	5	54771971	314,00	1570,00	1,46
ScCO ₂ -Seq-200bar _{ii}	203,6	5	8584216	90,09	450,46	0,22
ScCO ₂ -Seq-300bar _{ii}	246,1	5	711117	51,93	259,63	0,11

Legenda: SD – Destilação com arraste a vapor; Seq – extração em 3 estágios; i, ii – repetições 1 e 2.