



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
Curso de Graduação Farmácia-Bioquímica

BEATRIZ VIEIRA DOS SANTOS

EXTRAÇÃO DE CANABINOIDES DE *Cannabis sativa* L. ATRAVÉS DA
EXTRAÇÃO POR FLUIDO SUPERCRÍTICO

Araraquara, SP

2023

BEATRIZ VIEIRA DOS SANTOS

**EXTRAÇÃO DE CANABINOIDES DE *Cannabis sativa* L. ATRAVÉS DA
EXTRAÇÃO POR FLUIDO SUPERCRÍTICO**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao
Curso de Graduação em Farmácia Bioquímica da
Faculdade de Ciências Farmacêuticas de
Araraquara, da Universidade Estadual Paulista
“Júlio de Mesquita Filho”, para obtenção do grau
de Farmacêutica Bioquímica.

Orientador: Prof. Dr. André Gonzaga dos Santos

Coorientador: Dr. Flávio Alexandre Carvalho

**Araraquara, SP
2023**

S237e Santos, Beatriz Vieira dos.
Extração de canabinoides de *Cannabis sativa* L. através da extração por fluido supercrítico / Beatriz Vieira dos Santos. – Araraquara, 2023. 46 f. : il.

Trabalho de Conclusão de Cursos (Graduação – Farmácia Bioquímica) – Universidade Estadual Paulista. "Júlio de Mesquita Filho". Faculdade de Ciências Farmacêuticas.

Orientador: André Gonzaga dos Santos.
Coorientador: Flávio Alexandre Carvalho.

1. *Cannabis sativa*. 2. Canabinoides. 3. Extração com dióxido de carbono supercrítico. 4. Química Verde. I. Santos, André Gonzaga dos, orient. II. Carvalho, Flávio Alexandre, coorient. III. Título.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por sempre estar comigo, por me proteger e por guiar os caminhos da minha vida. Agradeço à minha mãe, Heloisa Vieira, por ser o meu porto seguro, meu refúgio nesse mundo. Agradeço também ao meu companheiro, Luis Felipe Sônego, por aguentar os meus momentos de desespero e angústia. Por fim, agradeço a mim, por nunca ter desistido.

RESUMO

Cannabis sativa L. (maconha ou cânhamo) possui mais de 500 compostos químicos diferentes, como canabinoides, terpenos, flavonoides, alcaloides e ácidos graxos. Atualmente, a procura por produtos à base de *C. sativa* tem aumentado muito, especialmente devido aos potenciais terapêuticos dos canabinoides (CBD, CBG, CBN, THC, entre outros), metabólitos secundários terpeno-fenólicos, que apresentam atividades antibacteriana, anti-inflamatória, antitumoral, antifúngica, antioxidante e analgésica, que se mostram relevantes na terapia da epilepsia, depressão, doença de Alzheimer, fibromialgia, ansiedade, espectro autista, entre muitas outras doenças. Com os avanços científicos recentes, o mercado nesse ramo tem crescido, e os canabinoides passaram a compor produtos farmacêuticos, alimentícios e cosméticos. Desse modo, a conscientização pública e as contínuas mudanças na legislação caracterizam o atual momento como uma transição histórica. À vista disso, um método de extração eficiente e seletivo é primordial para a obtenção dessas substâncias de interesse, a fim de suprir as futuras demandas do mercado. Entretanto, ainda existe uma carência geral de propostas estratégicas para extração e purificação dos canabinoides, especialmente em um cenário em que as tecnologias de processamento de *C. sativa* devem ser rápidas, eficientes, econômicas e seletivas, para proporcionarem maior rendimento do extrato, menor custo geral de processo, menor gasto energético, e baixo impacto sobre o meio ambiente. Em busca por melhorias, a extração utilizando dióxido de carbono (CO₂) supercrítico vem ganhando destaque como uma “estratégia verde” capaz de proporcionar um extrato com alto teor de canabinoides, em comparação aos extratos convencionais, e com menor concentração de compostos indesejáveis, como ceras e clorofila. Assim, este trabalho teve como objetivo explicar o funcionamento da extração supercrítica; avaliar suas vantagens e limitações; e discutir a influência de diferentes parâmetros de processamento (pressão e temperatura de extração, uso de co-solventes, descarboxilação no processamento das inflorescências). Além disso, a aplicação da tecnologia de extração com dióxido de carbono supercrítico foi revisada com foco nas aplicações terapêuticas dos canabinoides.

Palavras-chave: *Cannabis sativa*, Canabinoides, Extração com dióxido de carbono supercrítico, Química Verde.

ABSTRACT

Cannabis sativa L. (marijuana or hemp) has more than 500 different chemical compounds, such as cannabinoids, terpenes, flavonoids, alkaloids and fatty acids. Currently, demand for cannabis-based products has increased greatly, especially due to the therapeutic potential of cannabinoids (CBD, CBG, CBN, THC, among others), terpene-phenolic secondary metabolites, which have antibacterial, anti-inflammatory, antitumor, antifungal, antioxidant and analgesic properties that are relevant in the therapy of epilepsy, depression, Alzheimer's disease, fibromyalgia, anxiety, autism spectrum, among many other diseases. With recent scientific advances, the market in this field has grown enormously, and cannabinoids have become part of pharmaceutical, food and cosmetic products. In this way, public awareness and continuous changes in legislation characterize the moment as a historic transition. In view of this, an efficient and selective extraction method is essential to obtain these substances of interest in order to meet future market demands. However, there is still a general lack of strategic proposals for the extraction and purification of cannabinoids, especially in a scenario where *C. sativa* processing technologies must be fast, efficient, economical and selective, in order to provide higher extract yields, lower overall process costs, lower energy expenditure and a low impact on the environment. In the search for improvements, extraction using supercritical carbon dioxide (CO₂) has been gaining prominence as a "green strategy" capable of providing an extract with a high content of cannabinoids, compared to conventional extracts, and with a lower concentration of undesirable compounds, such as waxes and chlorophyll. Therefore, this work aims to explain how supercritical extraction works; evaluate its advantages and limitations; and discuss the influence of different processing parameters (extraction pressure and temperature, use of co-solvents, decarboxylation in the processing of the inflorescences). In addition, the application of supercritical carbon dioxide extraction technology was reviewed with a focus on cannabinoids in their medical applications.

Keywords: *Cannabis sativa*, Cannabinoids, Supercritical carbon dioxide extraction, Green Chemistry.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	7
2. OBJETIVOS	10
3. METODOLOGIA	11
4. DESENVOLVIMENTO DO TEMA	11
4.1. Parte 1: o processo de extração supercrítica	11
4.1.1. O que é extração com fluido supercrítico (SFE)	11
4.1.2. Características de um fluido supercrítico	12
4.1.3. Solventes e cossolventes	14
4.1.4. Princípios da extração com dióxido de carbono supercrítico	17
4.1.5. Parâmetros que influenciam no processo de extração supercrítica.....	19
4.1.6. Vantagens da extração com fluido supercrítico	22
4.1.7. Desvantagens da extração com fluido supercrítico	23
4.2. Parte 2: processo de extração supercrítica de canabinoides de <i>C. sativa</i> ..	24
4.2.1. Componentes de interesse	24
4.2.2. Processamento das inflorescências	26
4.2.3. Extração de canabinoides: melhores condições de operação	28
5. CONCLUSÃO	37
6. REFERÊNCIAS	40

1. INTRODUÇÃO

Cannabis sativa L. (maconha) é usada pela humanidade há pelo menos cinco milênios, e o conhecimento de suas propriedades psicotrópicas data de 2.700 a.C. Atualmente, os estudos sobre *C. sativa* têm obtido resultados eficientes no controle e na melhora de sintomas de diversas doenças, como uma alternativa ao tratamento-padrão. O Brasil é um dos países que vêm desenvolvendo pesquisas acerca das propriedades desta planta e sua importância terapêutica nos sistemas imunológico, nervoso e cardiovascular. Assim, os avanços científicos, conjunto à crescente conscientização pública dos canabinoides como produto médico, impulsionaram mudanças na legislação e um grande aumento na demanda de produtos a base de *C. sativa*, caracterizando uma importante transição histórica (Touw, 1981).

Cannabis sativa L. (maconha ou cânhamo) é uma espécie vegetal da família Cannabaceae que possui diversas variedades, cultivares ou subespécies. Alguns autores consideram a existência de três espécies - *Cannabis sativa* L., *Cannabis indica* Lam. e *Cannabis ruderalis* Janisch, porém o consenso mais contemporâneo é de que o gênero *Cannabis* é monotípico, sendo a única espécie *C. sativa*. Possui mais de 500 compostos químicos, dentre eles canabinoides, flavonoides, terpenos, alcaloides (metabólitos secundários), ácidos graxos, vitaminas e pigmentos (UPTON et al., 2014). Estudos evidenciaram o grande potencial terapêutico em especial dos canabinoides, como canabidiol (CBD), delta-9-tetrahidrocanabidiol (Δ^9 -THC), canabigerol (CBG), canabicromeno (CBC) e canabinol (CBN) (Atalay et al., 2019).

Os compostos THC e CBD são os mais estudados de *C. sativa*, sendo utilizados na produção de medicamentos e nos mais variados tipos de produtos, desde cosméticos a alimentos. O THC é o principal composto psicoativo presente na planta, responsável pelos efeitos psíquicos/mentais e/ou comportamentais. Seu uso terapêutico está relacionado aos seus efeitos analgésico, anti-inflamatório, antiespasmódico, antioxidante, neuroprotetor, antiemético, ansiolítico, antiepilético, entre outros (Moskowitz, 2021).

Por sua vez, o CBD não possui efeito psicoativo, porém desempenha uma função importante: interage com os receptores endocanabinoides, desencadeando efeitos globais e sistêmicos. Pode até mesmo ativar ou inibir receptores não

canabinoides dos sistemas nervoso central e imunológico. Um exemplo de sua ampla ação é a estimulação da fusão e a calcificação óssea, podendo também converter células de gordura branca em células de gordura marrom, estas últimas mais saudáveis e anti-inflamatórias, auxiliando na saúde cardiovascular. Somado a isso, o CBD possui propriedades terapêuticas antidiabéticas, antibacterianas, anticancerígenas, antipsicóticas, antipsoriáticas, entre tantas outras (Moskowitz, 2021).

Na década de 1980, foi descoberto o receptor canabinoide-1 (CB1) e, posteriormente, o receptor canabinoide-2 (CB2). Anos depois, os neurotransmissores *N*-araquidonoil etanolamina (conhecida por anandamida) e 2-araquidonoilglicerol (2-AG) também foram descobertos. Além disso, como parte do sistema endocanabinoide, foram identificadas as enzimas responsáveis por agrupar, degradar e inativar esses neurotransmissores. Todos esses componentes tornam o sistema endocanabinoide responsável por atividades estabilizantes e desestabilizantes do organismo. Segundo Pacher; Kunos (2013),

[...] a modulação da atividade do sistema endocanabinoide pode ter efeitos terapêuticos em praticamente todas as doenças que afetam os humanos, incluindo obesidade/síndrome metabólica, diabetes e complicações da diabetes, doenças neurodegenerativas, inflamatórias, cardiovasculares, hepáticas, gastrointestinais, dermatológicas, dor, transtornos psiquiátricos, caquexia, câncer, náusea e vômito provocados pela quimioterapia, entre outros.

Quanto ao caminho da legalidade, o uso de *C. sativa* passou por muitos paradigmas e preconceitos. Em 1996, o estado da Califórnia aprovou a Proposição 215, Lei do Uso Compassivo, que ofereceu certa defesa médica para aqueles com uma prescrição médica, e a partir de então, a posição tem sido de ativismo e pressão pública para a legalização de *C. sativa* medicinal. Ainda assim, existe um cinismo geral acerca do tratamento médico com *C. sativa*, não só por parte das autoridades. Ainda há a questão da existência e a ampliação de associações de cultivo de cannabis para fins medicinais, uma maneira para que milhares de pessoas que precisam possuam acesso a esse medicamento (Moskowitz, 2021).

Atualmente, 24 estados estadunidenses legalizaram o uso de alguma forma da cannabis medicinal. Inclusive, a Organização das Nações Unidas (ONU) já recategorizou *C. sativa* para a lista de plantas que possuem propriedades medicinais

reconhecidas, mesmo que usadas de forma controlada, evidenciando um avanço diante da proibição em nível internacional. Países como Canadá, Estados Unidos, Israel, Colômbia, Paraguai e Uruguai já possuem regulamentação de medicamentos formulados com *C. sativa*. No Brasil, a Resolução de nº 660, de 30 de março de 2022, define os critérios e os procedimentos para a importação de Produto Derivado de Cannabis, por pessoa física, atendendo a prescrição de profissional legalmente habilitado, para uso medicinal. Entretanto, a questão do autocultivo - pilar fundamental para o barateamento e para a popularização do acesso à Cannabis medicinal – ainda é controverso no país (Krepp, 2022).

As pessoas encontram um modo mais fácil e muito mais barato de garantir suas variedades específicas nos estados que permitem cooperativas ou o cultivo dedicado. O cenário atual é caracterizado por produtores comerciais que cultivarão o que produz mais dinheiro. Dessa forma, a oferta de estirpes específicas pode ser realizada por uma cooperativa, que seleciona um produtor para realizar o cultivo e atender necessidades medicinais particulares. As preparações seriam feitas pelos próprios membros da cooperativa e, assim, o risco e o custo são distribuídos: o produtor recebe um preço justo e o consumidor pode adquirir a gama de plantas que atendem suas necessidades de forma planejada. Isso economiza dinheiro; permite que o usuário crie seus próprios métodos de consumo; possibilita o cultivo de plantas orgânicas e livres de pesticidas; e facilita o acesso a espécies específicas necessárias. A cannabis medicinal é um tratamento que nenhum plano de saúde cobre, e que não substitui os cuidados médicos tradicionais. Dessa forma, o autocultivo é uma maneira de compensar o custo adicional desse tratamento, que não é insignificante (Moskowitz, 2021).

O atual cenário de mudanças na legislação, juntamente com a transição histórica em que a demanda por produtos à base de *C. sativa* aumentou intensamente, trazem a discussão necessária no que tange as tecnologias de processamento e extração disponíveis (Johnson, 2018). A literatura recente está altamente direcionada ao tema dos canabinoides e suas aplicações terapêuticas, porém ainda existe uma ausência geral de propostas estratégicas que visem recuperar e purificar os extratos por meio de processos escaláveis (Marzorati et al., 2020).

Os canabinoides de principal interesse (especialmente o THC e o CBD) podem ser extraídos por meio de diversas técnicas. Entretanto, a maioria delas é

realizada empregando solventes e aquecimento e, portanto, podem comprometer a qualidade final do extrato. À vista disso, um método de extração que vem ganhando destaque nas últimas décadas é a extração feita por fluido supercrítico, que é uma tecnologia limpa, uma vez que o processo é livre de resíduos tóxicos, e não provoca a degradação de componentes dos extratos, por ser realizada em baixas a médias temperaturas. Além disso, o método possibilita uma extração com alta seletividade e a obtenção de um produto mais puro, com o simples ajuste da temperatura e da pressão do processo (Costa; Tavares, 2018).

A escolha do método de extração mais adequado também é de extrema importância, porque muitas técnicas tradicionais de extração, como a destilação por arraste à vapor d'água, a hidrodestilação, a prensagem e a extração com solventes orgânicos, podem reduzir a qualidade e a estabilidade do extrato e, por consequência, o valor do produto final. Dessa forma, pode ser necessário frequentemente remover as possíveis impurezas presentes no extrato vegetal (como excesso de clorofila, pigmentos, cera e gorduras, metais pesados) carecendo de outros processos industriais de refino e purificação. Além disso, operações sob altas temperaturas podem causar degradação dos componentes da matéria-prima, incluindo princípios ativos farmacêuticos, e ainda provocar a perda de compostos voláteis de baixo peso molecular. Por essa razão, vem-se buscando formas de extração que sejam eficientes, e que menos prejudiquem a qualidade do produto. Sob esse aspecto, a extração utilizando fluido supercrítico mostrou-se vantajosa (Costa; Tavares, 2018).

Segundo Martínez (2005), foi na Alemanha que surgiram as primeiras aplicações em escala industrial da tecnologia supercrítica, como na descafeinização do café e na extração de resinas de cevada. Atualmente, a tecnologia ganhou destaque e se difundiu bastante, ainda mais com a publicação de diversos artigos técnicos e científicos relatando as aplicações da extração com fluido supercrítico (SFE) em matrizes vegetais. Algumas aplicações dessa tecnologia foram realizadas para a obtenção de óleos de cavalinha, cravo-da-índia, ginseng brasileiro, semente de girassol, casca de banana seca e folha de sálvia, por exemplo (Costa; Tavares, 2018).

2. OBJETIVOS

Os objetivos gerais são analisar e descrever a técnica de extração por fluido supercrítico de canabinoides da *Cannabis sativa* L., por meio de revisão da literatura. Os objetivos específicos deste trabalho são avaliar as vantagens e limitações da extração supercrítica; e verificar a influência dos diferentes parâmetros de processamento (pressão e temperatura; uso de co-solventes; descarboxilação prévia das inflorescências).

3. METODOLOGIA

A principal base de dados consultada foi o Google Acadêmico (Google Scholar). As principais palavras-chave utilizadas foram: *cannabis; cannabinoids; extraction; supercritical carbon dioxide extraction (SFE); purification; cannabis extract; review*. Foram utilizados artigos científicos, livros, legislações, relatórios e *websites*. Os artigos científicos eram das editoras Elsevier, MDPI, Molecules, Laszlo, Appris, Chromatography Today, e Scielo.

4. DESENVOLVIMENTO DO TEMA

4.1 Parte 1: O processo de extração supercrítica

4.1.1 O que é extração com fluido supercrítico (SFE)

A extração com fluido supercrítico (SFE) é uma técnica realizada para extrair compostos de interesse de substâncias sólidas ou semissólidas, utilizando um fluido supercrítico como componente principal do solvente de extração. Atualmente, o termo SFE é frequentemente usado para descrever o uso geral de dióxido de carbono (CO₂) como solvente extrator. Esta técnica permite uma flexibilidade para operar em diferentes espaços de temperatura e pressão, o que lhe confere uma importante vantagem, uma vez que a força de solvatação do CO₂ altera significativamente com a temperatura e a pressão. Devido a isso, os termos 'extração com CO₂' e 'SFE' são comumente usados de forma permutável, pois tais

processos de extração modernos operam tanto na região líquida (subcrítica) quanto na região supercrítica (Helmüller, 2018).

A extração à base de dióxido de carbono é uma alternativa atrativa às extrações tradicionais com hidrocarbonetos líquidos, para o processamento a granel de produtos naturais, especialmente os destinados ao consumo humano. Isso porque os extratos obtidos da SFE são especialmente vantajosos, pois não apresentam solvente residual e o uso de solventes tóxicos ou potencialmente perigosos pode ser evitado. Dessa forma, etapas que podem ser necessárias para a remoção desses solventes indesejados são diminuídas. Ainda, a extração supercrítica é uma técnica muito versátil por aceitar uma grande variedade de amostras. Os extratos obtidos podem ser posteriormente refinados, purificados, analisados, ou até mesmo diretamente incorporados nos produtos finais, de acordo com o objetivo da operação. A SFE também é capaz de fracionar ou produzir múltiplas frações de extração, o que permite o desenvolvimento de vários fluxos de processamento e produtos a partir de uma única etapa de extração (Helmüller, 2018).

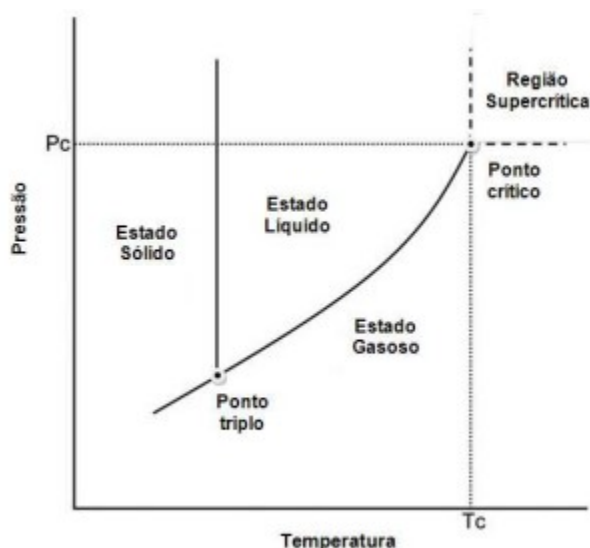
4.1.2 Características de um fluido supercrítico

No que tange a termodinâmica de um sistema fechado, composto por uma única substância, o diagrama de fases é a representação gráfica que demonstra as diferentes fases termodinamicamente estáveis para todas as coordenadas P e T (pressão e temperatura, respectivamente) (Capuzzo et al., 2013). As curvas de equilíbrio separam as regiões de cada fase, fornecendo os valores de pressão e temperatura nos quais as fases coexistem em equilíbrio (Atkins, 1999).

Quando uma substância no estado líquido é aquecida a uma determinada pressão, sua pressão de vapor eleva-se continuamente com o aumento da temperatura. Segue-se então, um aumento na densidade do vapor, enquanto ocorre uma diminuição da densidade do líquido, devido ao aumento do seu volume. O ponto em que a densidade do vapor se iguala à do líquido remanescente é denominado ponto crítico ou estado crítico (Figura 1). Neste ponto, os estados de gás e líquido são indistinguíveis e o limite entre as duas fases desaparece (Atkins, 2003; Netz e Ortega, 2002). A temperatura crítica (T_c) e a pressão crítica (P_c) são

características para cada substância, e quando atingidas, o fluido não pode mais ser liquefeito por um aumento na pressão (Cunha et al., 2018).

Figura 1 - Diagrama de fases genérico (adaptado de Herrero et al., 2010).



Os fluidos supercríticos (ou SCF) apresentam-se como um gás comprimido; dessa forma, são semelhantes a um líquido com densidade relativamente alta e baixa compressibilidade, mas possuem alta difusividade e baixa viscosidade, como os gases. Assim, a alta capacidade de penetração nas matrizes vegetais e o poder solvente tornaram os fluidos supercríticos bons solventes para solutos, conforme a compatibilidade química (Capuzzo et al., 2013). Além disso, a força do solvente e a seletividade podem ser ajustadas alterando temperatura e pressão. Tudo isso confere aos fluidos supercríticos taxas de difusão e transferência de massa superiores, devido às suas propriedades físicas únicas, resumidas na Tabela 1.

Tabela 1 - Faixas de valores de algumas propriedades físico-químicas de gases, líquidos e fluidos supercríticos (adaptado de Herrero et al., 2010).

Estado da matéria	Densidade (ρ , g/cm ³)	Difusividade (D_{AB} , cm ² /s)	Viscosidade (μ , g/s.cm)
Gás (P = 1 atm, T = 21°C)	10 ⁻³	0,1	10 ⁻⁴

Líquido ($P = 1 \text{ atm}$, $T = 15\text{-}30^\circ\text{C}$)	1	10^{-5}	10^{-2}
Supercrítico ($P = P_c$, $T = T_c$)	0,1 – 1,0	$10^{-3} - 10^{-4}$	$10^{-3} - 10^{-4}$

P_c : pressão crítica, T_c : temperatura crítica

Em suma, os fluidos supercríticos possuem propriedades do tipo gás no que se refere ao transporte de solutos, justamente por apresentarem coeficiente de difusão próximos aos de um gás; e propriedades do tipo líquido no que tange a potência do solvente e a tensão superficial desprezível (Taylor, 1996; Luque de Castro et al., 2004).

O que ocorre na prática é a alteração no estado de agregação entre as moléculas, por meio da elevação da pressão e da temperatura de um gás ou de um líquido. Essa alteração modifica as propriedades da substância de interesse, como a densidade e o poder de solvatação (a solvatação é o fenômeno que ocorre quando há a dissolução de um composto iônico ou polar em uma substância polar, sem a formação de uma nova substância), alterando seu comportamento químico e sua solubilidade. Além disso, uma das propriedades também alteradas pelo estado supercrítico é a mudança na constante dielétrica, isto é, na polaridade da substância (Costa; Tavares, 2018).

Em 1879, Hannay e Hogard verificaram experimentalmente que o aumento simultâneo da pressão e da temperatura acarretava também no aumento da solubilidade de substâncias químicas. A partir de então, o uso de SCF ocasionou um grande avanço científico e tecnológico. A baixa viscosidade dos fluidos supercríticos e o seu alto poder de difusão em materiais sólidos resultaram em melhores rendimentos do conteúdo bioativo nas extrações (Costa; Tavares, 2018).

4.1.3 Solventes e cossolventes

Vários fluidos podem ser empregados na extração supercrítica. A Tabela 2 apresenta alguns compostos e seus parâmetros críticos, como pressão (P_c) e temperatura (T_c) (Costa; Tavares, 2018).

Tabela 2 - Propriedades físicas de alguns fluidos comuns, em ordem crescente de temperatura crítica (Maul, 2000).

Fluido	Temperatura crítica (°C)	Pressão crítica (Bar)
Nitrogênio	-147,0	33,9
Metano	-82,4	46,4
Etileno	9,2	50,3
Dióxido de Carbono	31,0	73,8
Etano	32,2	48,8
Óxido Nitroso	36,4	72,5
Hexafluoreto de enxofre	45,5	37,6
Metanol	79,9	240,2
Propileno	91,6	46,1
Propano	96,8	42,5
Frigen 12	111,7	39,4
Amônia	132,4	112,9
Dióxido de enxofre	157,5	79,8
Pentano	196,6	33,3
Hexano	243,2	29,6
Água	374,7	226,8

Na escolha de um solvente, é necessário considerar, além dos aspectos relacionados à eficiência do processo extrativo, questões como viabilidade econômica e segurança. Optar por solventes menos nocivos e mais seguros, e considerar também as suas propriedades físico-químicas, a toxicidade e/ou riscos de seu manuseio, sua disponibilidade e custo, a facilidade de remoção ou recuperação e a estabilidade das substâncias que serão extraídas. Dentro desse contexto, em mais de 90 % das extrações com fluido supercrítico, principalmente em alimentos e produtos farmacêuticos, o dióxido de carbono (CO_2) vem sendo o principal solvente escolhido (Capuzzo et al., 2013).

O dióxido de carbono possui características semelhantes às de um solvente ideal, uma vez que possui pressão crítica moderada e baixa temperatura crítica (73,8 bar e 31,0°C, respectivamente), fator muito importante para a extração de produtos naturais, que podem sofrer reações de degradação quando submetidos a altas temperaturas. Além disso, sua polaridade é comparada ao pentano líquido e, por isso, é condizente com a solubilização de compostos lipofílicos, como os lipídios e os óleos essenciais (Capuzzo et al., 2013). Outro ponto de destaque é que o CO_2 é facilmente separado do soluto, uma vez que, sob condições ambientais retorna ao estado de gás, podendo ser reutilizado, o que também confere uma maior sustentabilidade à extração e um alto valor agregado ao produto final, devido à maior qualidade. Ainda, trata-se de um composto não inflamável, não explosivo, não corrosivo, e está disponível em alta pureza e a baixo custo (Cassel, 2008). Mesmo assim, é necessário cautela em seu manuseio, pois pode oferecer riscos: o dióxido de carbono pode provocar tontura ou asfixia, quando inalado; causar lesão ou queimadura por congelamento (frostbite), quando em contato com a pele/olhos na forma pressurizada; e até mesmo o congelamento dos lábios e da boca, em casos de ingestão do produto (mesmo que seja improvável). Por isso, recomenda-se manusear o solvente em área ventilada ou com sistema geral de ventilação/exaustão local; manter o protetor de válvula do cilindro em sua posição, até o momento do uso; manter o recipiente de armazenamento hermeticamente fechado; e utilizar equipamentos de proteção individual para o manuseio seguro (Silva et al., 2019).

Em relação à polaridade, o CO_2 é uma molécula apolar, semelhante a outros solventes apolares utilizados em extrações tradicionais, como o pentano e o hexano.

Por essa razão, ele é um solvente compatível para a solubilização de compostos lipofílicos, como hidrocarbonetos, cetonas, éteres, ésteres e aldeídos, mas substâncias polares e de maior peso molecular, como aminoácidos, proteínas, polissacarídeos, taninos e açúcares, são pouco solúveis. Entretanto, com o aumento da pressão, a constante dielétrica do CO_2 altera-se e isso pode ser um ponto muito positivo, porque a força do solvente e sua seletividade podem ser direcionadas/ajustadas com a modificação da temperatura e da pressão de operação. Mas há casos em que essa versatilidade não é suficiente para solubilizar e extrair alguns compostos de interesse (Costa; Tavares, 2018).

Além do CO_2 , existem outros solventes supercríticos utilizados em extrações. Há relatos do uso do óxido nitroso (N_2O) como fluido de extração, por ser mais apropriado para a extração de compostos polares. Entretanto, esse solvente é altamente inflamável, acarretando em riscos de explosões violentas. A água também já foi experimentada como possível fluido supercrítico, mas suas temperatura e pressão críticas são altas e, nessas condições, ela pode apresentar um grande poder corrosivo. Etano, metano, propano e éter dimetilico são opções de escolha para solventes supercríticos em extrações de compostos bioativos de plantas. Porém, resultados experimentais demonstraram que o CO_2 supercrítico proporciona maior versatilidade para o fracionamento das substâncias extraídas, devido à possibilidade de operar em diferentes pressões nos extratores ou separadores (Capuzzo, 2013).

Em relação à polaridade do CO_2 , os cossolventes, também chamados de solventes modificadores, podem ajudar a superar essa restrição. Na prática, eles são adicionados em pequenas quantidades juntamente com o solvente principal, com a finalidade de aumentar a solubilidade de compostos-alvo polares ou a seletividade do processo de extração, sem que haja necessidade da utilização de pressões elevadas. Por possuírem propriedades físico-químicas diferentes, os cossolventes podem quebrar interações intermoleculares (como as ligações de hidrogênio e as forças de van der Waals) e possibilitar o transporte do soluto para a superfície da matriz sólida. Assim, as interações moleculares do soluto com o solvente principal são facilitadas. Os cossolventes mais comumente utilizados são o metanol e o etanol, pois atendem os níveis legais permitidos para o uso de solventes

orgânicos, mas pode ser necessário ajustar as condições do processo com a finalidade de não extrair substâncias indesejáveis (Hamburger et al., 2004).

4.1.4 Princípios da extração com dióxido de carbono supercrítico

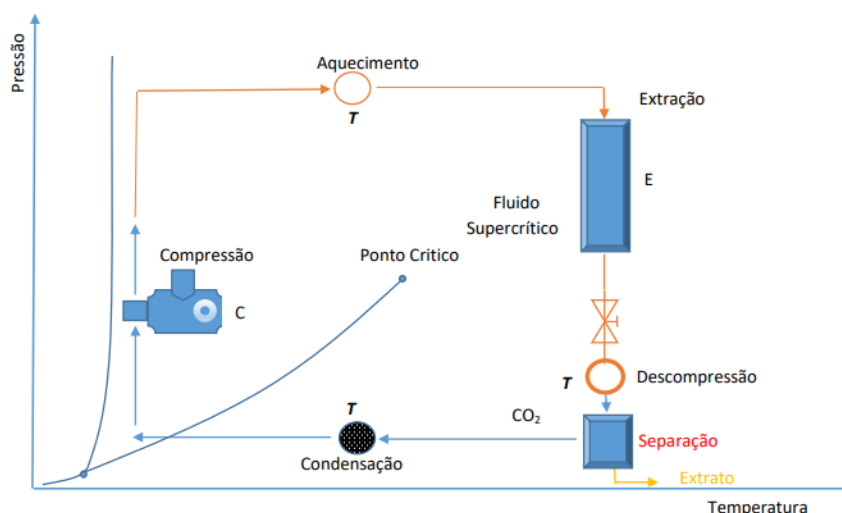
O princípio da extração de compostos de interesse a partir de materiais vegetais é baseado na retirada do soluto da matriz celular para a fase solvente (que está no estado de fluido supercrítico) por meio da transferência de massa. Dessa forma, o soluto ligado à matriz sólida, química ou fisicamente, é transferido para a fase solvente por dissolução ou dessorção. Dá-se origem à mistura soluto/solvente, que por sua vez, espalha-se na superfície do sólido na forma de um filme, ao redor da partícula. Esse conjunto partícula + filme (composto pela mistura de soluto e solvente) se move para a fase fluida. Ao final, ocorre a separação da mistura soluto/solvente por meio da expansão do solvente. É uma operação unitária por contato, baseada no equilíbrio e nas propriedades físico-químicas do solvente: alto coeficiente de difusão, alto poder de solvatação, baixa tensão superficial e baixa viscosidade (Costa; Tavares, 2018).

Uma unidade de extração supercrítica é composta pelos seguintes itens: uma fonte de CO₂, um compressor ou bomba de alta pressão, controladores de temperatura e pressão, um vaso extrator, uma válvula de descompressão e separadores dotados de reguladores de pressão. A partir do reservatório de CO₂, o solvente passa pela bomba compressora e por trocadores de calor elétricos, atingindo a pressão e a temperatura de operação e passando do estado líquido para o estado supercrítico. A matriz vegetal particulada está contida no interior do vaso extrator que, por sua vez, é revestido por uma camisa de aquecimento, para que o recipiente (e consequentemente a matéria-prima) seja aquecido até a temperatura desejada. Assim, a fase solvente supercrítica flui por todo o sistema, passando pela matriz sólida localizada na câmara de extração e carregando os componentes solubilizados. A partir de então, a mistura soluto-solvente passa pela válvula de descompressão (ou válvula de expansão), e a pressão e a temperatura são reduzidas. Por fim, o extrato precipita no frasco coletor (ou separador). Caso o sistema contenha separadores ciclônicos, para o processo de separação das frações desejadas, o solvente dissolve os componentes alvo da matriz vegetal e os transporta do recipiente de extração para os separadores, que permitem as

precipitações das frações, por meio de um processo de despressurização controlada. O CO_2 livre (ou com baixo teor de soluto), já no estado gasoso, é recirculado no sistema, passando por estágios prévios de resfriamento e assim, retornando ao seu reservatório inicial (Rovetto; Aieta, 2017; Mukhopadhyay, 2000; Rosa et al., 2009).

Dependendo do experimento, caso seja utilizado um cossolvente, uma determinada quantidade do mesmo é fornecida por uma bomba de cossolvente e, assim, o modificador escolhido é misturado com o fluxo principal de CO_2 . Ao final, as frações de cada separador ciclônico são coletadas em um recipiente com tampa para evitar rachaduras e perda de material. Esses recipientes são pesados em diferentes intervalos de tempo durante os processos de extração para determinar a cinética de extração e avaliar o rendimento final. Posteriormente, uma análise por HPLC pode ser feita para determinar a composição de canabinoides dos extratos obtidos (Rovetto; Aieta, 2017). A Figura 3 ilustra um diagrama esquemático de um processo de extração supercrítica.

Figura 3 - Diagrama esquemático de um processo de extração supercrítica (adaptado de Costa; Tavares, 2018).



4.1.5 Parâmetros que influenciam no processo de extração supercrítica

Para desenvolver um método de extração por fluido supercrítico viável economicamente, é necessário otimizar dois fatores importantes: o tempo de extração e o rendimento do processo. Além das condições de operação (pressão,

temperatura, tempo e fluxo de solvente), outros parâmetros podem interferir na extração, como por exemplo, as características da matéria-prima. Pode-se dizer que o poder de solubilização e a seletividade do solvente para com as substâncias de interesse são fatores determinantes para que o produto final apresente qualidade e pureza (Costa; Tavares, 2018). Podem-se destacar como principais parâmetros que influenciam no processo de extração:

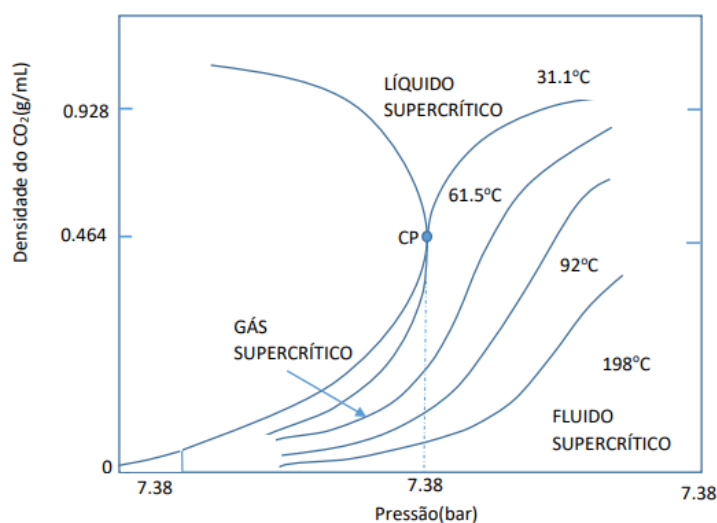
- a) Características da matéria-prima: algumas características dos compostos de interesse do material vegetal influenciam a sua solubilidade no fluido supercrítico. Geralmente, quanto menor o peso molecular, a polaridade e a pressão de vapor da substância, maior será sua solubilidade no CO₂ supercrítico (Pereira; Meireles, 2010).
- b) Tamanho de partícula do material vegetal: é aconselhável a redução do tamanho das partículas para aumentar a área de contato sólido/solvente. Isso porque, existe uma resistência à transferência de massa no interior dessas partículas sólidas, dificultando o contato dos componentes de interesse com a fase fluida. Com a redução do tamanho das partículas sólidas (partículas porosas), a distância que o soluto deve percorrer no interior das mesmas diminui, e a taxa de extração aumenta. Entretanto, até mesmo essa redução requer um limite, uma vez que, na presença de partículas muito pequenas, o solvente tem a possibilidade de percorrer caminhos preferenciais, e consequentemente não entrar em contato com todo o soluto disponível, reduzindo o rendimento da extração (Martínez, 2005). Uma alternativa para evitar a formação desses caminhos preferenciais pelo solvente é misturar o material vegetal particulado com quantidades adequadas de materiais inertes (como Celite, HMX, areia de Ottawa e esferas de vidro), para então serem adicionadas no recipiente de extração. Este processo evita a formação de canais e aumenta a superfície de contato entre o soluto e o solvente (Yamini, 2002).
- c) Vazão do solvente: em geral, quanto maior a vazão de solvente na coluna, maior a taxa de extração. Entretanto, se utilizadas vazões muito altas de solvente, pode não haver tempo de contato suficiente entre esse e o soluto

para a solubilização completa. Assim, a capacidade de extração pode aumentar até um valor máximo e partir dele, decair (Martínez, 2005).

- d) Densidade: a densidade do fluido supercrítico é responsável pela sua capacidade solvente, e pode ser alterada por modificações na temperatura e pressão do sistema, principalmente próximo à região do ponto crítico (Rosa et al., 2009).
- e) Umidade da matéria vegetal: a água presente na matriz vegetal pode competir com o soluto para interagir com o solvente e, assim, o rendimento da extração diminui. Devido a isso, é aconselhável realizar primeiramente a secagem do material vegetal (Pereira; Meireles, 2010).
- f) Pressão e temperatura: a pressão é uma das variáveis mais importantes que influenciam no rendimento e na seletividade do processo de extração. Aumentar a pressão a uma temperatura constante aumenta a densidade do fluido supercrítico e, dessa forma, melhora o seu poder solvente (mas pode ocasionar uma diminuição na seletividade da extração). Além disso, operar com pressões mais elevadas diminui o tempo de extração necessário (Kargili; Aytaç, 2021; Rovetto; Aieta, 2017).

Quando a temperatura aumenta a uma pressão constante, a densidade do fluido supercrítico diminui. Entretanto, esse efeito não é linear. Na região próxima do ponto crítico, o efeito da temperatura é maior: temperaturas menores diminuem a volatilidade dos solutos, fazendo com que tenham um maior fator de retenção a baixas pressões; já acima da pressão crítica, uma temperatura menor resulta em uma eluição mais rápida, devido ao aumento da densidade do CO₂. Isso porque a temperatura influencia não só na densidade do solvente, mas também na pressão de vapor e na energia cinética das moléculas de soluto (Carrilho et al., 2000). Na Figura 4, podem-se visualizar as influências da pressão e temperatura na densidade do CO₂ supercrítico.

Figura 4 – Variação da densidade do CO₂ supercrítico em função da pressão e da temperatura (adaptado de Bevan; Marshal, 1994).



4.1.6 Vantagens da extração com fluido supercrítico

É muito importante que as indústrias procurem produtos e tecnologias verdes, que possam substituir os convencionais. Por isso, a extração utilizando CO_2 supercrítico é uma notável estratégia, por oferecer baixo impacto ambiental (De Melo et al., 2014). De um modo geral, é um método livre de solventes orgânicos tóxicos (caso não opte pelo uso de cossolventes, mas ainda assim, o solvente orgânico é usado em menor quantidade), que garante, ao final da extração, a ausência de solventes residuais. Além disso, o processo é capaz de operar em baixas temperaturas e evitar a degradação da matéria-prima. O tempo de processamento é reduzido, juntamente com o processo de manuseio e o gasto de energia (Qamar et al., 2021). O dióxido de carbono utilizado como fluido de extração ainda tem a possibilidade de ser reciclado e reutilizado (em equipamentos a nível industrial), uma vez que, ao término da extração, é volatilizado. Além de ser um solvente de baixo custo e considerado seguro (GRAS – *generally regarded as safe*) (Jarvis; Morgan, 1997; Bhardwaj et al., 2010).

Uma das grandes vantagens da extração com CO_2 supercrítico, em relação aos métodos convencionais, é a possibilidade de ajustes das condições de processamento, como a temperatura, tempo, vazão do solvente e pressão, resultando em alterações na densidade, na difusividade e na viscosidade. Por isso, apesar do CO_2 ser um solvente apolar, seu poder solvente e sua solubilidade podem

ser controlados de acordo com as necessidades específicas dos compostos de interesse a serem extraídos. Ainda, é um solvente que apresenta maior versatilidade em relação ao fracionamento de extratos, baseada nas diferentes pressões operativas nos extratores ou separadores (Mukhopadhyay, 2000; Abbas et al., 2008). Majoritariamente, é um processo que exige baixo custo de energia e gasto na extração em escala industrial (Qamar et al., 2021).

Ainda, as máquinas de extração supercrítica em maior escala são normalmente automatizadas, o que acarreta em economia nos custos de mão de obra e em menores preocupações com a segurança (Valizadehderakhshan et al., 2021).

4.1.7. Limitações da extração com fluido supercrítico

Uma das limitações de optar pela extração com fluido supercrítico ou subcrítico é o custo de equipamento, caracterizado por ser um custo mais elevado. No entanto, ao considerar o custo de todo o processo, não somente dos instrumentos necessários, a técnica pode se mostrar econômica. Além disso, contrapondo-se à versatilidade do CO₂ supercrítico, as mudanças nos diferentes parâmetros nem sempre são seletivas para os compostos alvo e, assim, substâncias indesejadas podem ser co-extraídas. Isso porque o processo de “ajuste fino” das condições de temperatura e pressão pode não ser tão simples. A difusividade e a densidade do solvente são facilmente afetadas a cada grau Celsius e a cada unidade de mudança de pressão (Qamar et al., 2021). Outro ponto importante é a necessidade de desenvolvimento e otimização de protocolos, o que ainda limita a escolha dessa técnica. Atualmente, ainda há uma limitação na pesquisa científica sobre os efeitos dos parâmetros de extração (Rovetto; Aieta, 2017). Por isso, de acordo com Sharif et al. (2013), é de extrema importância a realização de um desenho experimental e de uma análise estatística apropriada com um pequeno número de ensaios a fim de ajustar os parâmetros influentes e otimizá-los. O emprego de um planejamento experimental é a forma mais eficiente de identificar e analisar dados dos vários fatores, e assim entender o seu impacto no resultado experimental.

4.2 PARTE 2: PROCESSO DE EXTRAÇÃO SUPERCRÍTICA DE CANABINOIDES DA *C. sativa*

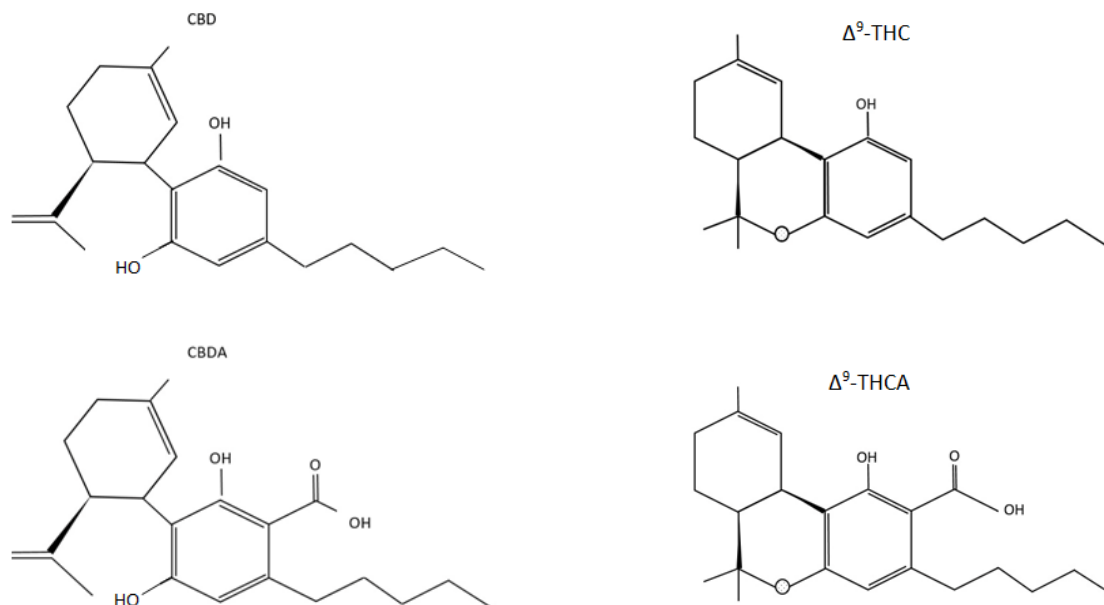
4.2.1. Componentes de interesse

Os estágios iniciais de crescimento de *C. sativa* apresentam baixo teor de canabinoides. É no estágio de floração que a biossíntese dos canabinoides e a biomassa aumentam. A planta é cultivada para se obter, principalmente, a fibra (cânhamo) e as inflorescências femininas contendo os canabinoides (para uso medicinal ou adulto, presente em grandes quantidades, especialmente o Δ^9 -tetrahydrocannabinol e o canabidiol). Entretanto, existem outros constituintes na composição química da *C. sativa*, como ácido oleico e linolênico, cetonas, aldeídos, clorofila, cera, flavonoides, terpenos, alcaloides, pigmentos, minerais, entre outros (Qamar et al., 2021).

Os canabinoides, compostos terpenofenólicos, são derivados da alquilação de um alquil-resorcinol com uma unidade monoterpreno, e sintetizados majoritariamente em tricomas secretores, muito presentes nas inflorescências femininas. As plantas masculinas das variedades conhecidas como cânhamo produzem maior quantidade de compostos não-canabinoides como os flavonoides (Thomas; ElSohly, 2016; Baldino et al., 2020).

Os fitocanabinoides estão presentes na matriz vegetal na forma neutra e, em maior quantidade, como ácidos, ou seja, ácido tetrahydrocannabinol (THCA), ácido canabidiólico (CBDA) e ácido canabigerol (CBGA). Os canabinoides ácidos são comumente considerados inativos, e diferem da forma neutra apenas pela presença do grupo carboxila ligado ao anel aromático. Dentro desse contexto, o CBD em especial tem ganhado destaque devido às suas propriedades terapêuticas e atividades farmacológicas, mesmo que possua baixa solubilidade em meio aquoso e, por isso, caracterizado por uma biodisponibilidade relativamente baixa. Ainda, é considerado um composto não psicoativo, com boa tolerabilidade e baixa toxicidade, que pode ser utilizado de forma isolada ou em conjunto com outros canabinoides, para o tratamento de diversas doenças (Qamar et al., 2021 e Baldino et al., 2020). Na Figura 5, estão representadas as estruturas químicas do CBD e do Δ^9 -THC em suas formas ácidas e neutras.

Figura 5 – Representação das estruturas químicas dos canabinoides CBD e Δ^9 -THC (adaptado de Moreno et al., 2020).



C. sativa também possui um óleo essencial (OE) de alto valor (presente em suas partes aéreas), formado por terpenos (monoterpenos e sesquiterpenos), e que pode compor formulações farmacêuticas e melhorar a atuação dos canabinoides. Isso porque existe um efeito conhecido como efeito *entourage*, que demonstra que a ação conjunta de compostos de OE e de diferentes canabinoides pode potencializar a atividade farmacológica, mesmo que em baixas concentrações. Ademais, é possível extrair o óleo (óleo fixo) de semente de *C. sativa*, rico em ácido linoleico, ácido linolênico, ácido estearidônico, terpenoides, sitosterol e salicilato de metila (Baldino et al., 2020).

O Δ⁹-tetrahydrocannabinol (Δ⁹- THC) é o principal canabinoide responsável pelo efeito psicoativo e também possui um grande potencial analgésico. A composição de canabinoides depende muito do teor de umidade e da saúde geral da planta. Muitas vezes o conteúdo de canabinoides pode alterar-se quando uma mesma variedade cresce em diferentes regiões. Dessa forma, as condições climáticas, a época do plantio, o tipo de solo, a nutrição, a época de colheita, a presença de parasitas, a temperatura, a radiação e a umidade do ambiente podem influenciar na proporção de CBD e THC (Kargili; Aytaç, 2021).

Em um experimento realizado por Kargili e Aytaç (2021), no qual foi avaliada a extração de THC e CBD de quatro diferentes variedades de *Cannabis* cultivadas

em diferentes regiões, observou-se que o rendimento desses compostos foi maior em áreas de cultivo com mais chuva, menor temperatura e maior umidade relativa. Em geral, *C. sativa* tem uma boa adaptabilidade frente às condições climáticas, desde zonas de clima quente até zonas de clima subtropical. Pode ser cultivada em regiões úmidas, mas também em regiões áridas, desde que irrigada adequadamente. Por isso, a presença de chuva antes do plantio ainda é muito necessária.

4.2.2 Processamento das inflorescências

O THC e o CBD (formas neutras) não estão presentes em concentrações significativas na planta; ao contrário, eles estão presentes predominantemente na forma de seu precursor ácido carboxílico (THCA e CBDA, respectivamente), e são produzidos nos caules, folhas, mas principalmente nas inflorescências. Acredita-se que os ácidos canabinoides podem apresentar propriedades interessantes, especialmente o ácido canabidiólico (CBDA). Entretanto, os compostos ácidos ainda não foram amplamente estudados como os seus homólogos neutros e, por isso, são normalmente considerados formas não ativas. Assim, um processo de descarboxilação é frequentemente aplicado (Moreno et al., 2020).

A descarboxilação é uma reação em que ocorre a decomposição do THCA e do CBDA em THC e CBD neutros, com a liberação de uma molécula de CO_2 e a perda de 12 % de sua massa. Os análogos neutros são mais estáveis, oferecem melhor bioatividade (a presença do grupo carboxílico limita a passagem através da barreira hematoencefálica e, conseqüentemente, o acesso ao sistema nervoso central) e possui maior solubilidade em CO_2 supercrítico, por apresentar uma polaridade mais baixa. Sabe-se que a descarboxilação é um processo lento e natural na planta ao longo do tempo, mas pode ser acelerado por meio de um tratamento térmico da amostra, expondo-a ao calor, luz e oxigênio (Moreno et al., 2020). Em relação à duração do tratamento térmico, ainda não há um protocolo geral: a eficácia da descarboxilação depende de fatores como a temperatura e o tempo de exposição (Marzorati et al., 2020). Alguns trabalhos utilizaram os seguintes protocolos: 120°C por 45 min (Fernandez et al., 2021); 140°C por 30 min (Kargili; Aytaç, 2021); 120°C por 2 horas (Rochfort et al., 2020); 140°C por 30 min (Grijó et al., 2018); e 120°C por 2 horas (Baldino et al., 2020).

Uma das desvantagens do processo de descarboxilação é a perda, por evaporação, de terpenos voláteis, componentes responsáveis pelo aroma e sabor específicos relacionados às diferentes cepas. Esses compostos não são exclusivos de *C. sativa*, mas podem exercer uma interação sinérgica com os canabinoides, devido ao efeito *entourage*. No entanto, a descarboxilação tem a grande vantagem de aumentar o rendimento da extração, por tornar os canabinoides mais solúveis em solventes não polares, e elevar a concentração de canabinoides no extrato, por contribuir para uma transferência de massa efetiva (Moreno et al., 2020). Essa preparação da amostra também desempenha uma função relevante na purificação e análise de canabinoides. A administração de extrato de *C. sativa* não descarboxilado forneceu resultados terapêuticos diferentes em comparação com o extrato previamente descarboxilado (Qamar et al., 2021). Nos estudos realizados por Moreno (2020), a extração do material descarboxilado foi mais seletiva para canabinoides, promoveu uma maior recuperação total de canabinoides e extraiu uma menor quantidade de compostos não canabinoides.

Como preparação das amostras, as inflorescências são submetidas à secagem e moagem como processamentos prévios à descarboxilação e extração. A secagem é realizada a fim de reduzir o teor de água presente, uma vez que a água é capaz de formar um tipo de barreira à extração dos componentes de interesse, e também para possibilitar a moagem. Já a moagem é realizada a fim de diminuir o tamanho do material, controlando o tamanho e a distribuição das partículas, e assim, melhorar a cinética de extração por aumentar a superfície de contato. As partículas muito pequenas podem se aglomerar e gerar caminhos preferenciais durante a extração, diminuindo o desempenho do processo. As partículas muito grandes podem exigir um tempo muito maior de operação (Baldino et al., 2020). É importante controlar também esse processo, pois uma moagem/esmagamento muito intenso e agressivo pode aumentar a dissolução de compostos indesejáveis (Valizadehderakhshan et al., 2021). Nem todos os autores trazem o tamanho da partícula do material vegetal em seus estudos, mas podem-se destacar alguns exemplos: Moreno et al. (2020) utilizou um moinho de pinos com uma malha de 2 mm anexada; Fernández et al. (2021) realizou a moagem com um moedor de ervas manual para atingir uma partícula variando de 0,5 a 2 mm; Vági et al. (2021) empregou um moinho de corte com uma peneira de fundo com furo de 1 mm; e

Marzorati et al. (2020) operou com um moinho de facas para atingir 50 µm de tamanho de partícula.

4.2.3 Extração de canabinoides por fluido supercrítico: melhores condições de operação

O cenário atual carece de maior quantidade de pesquisas científicas no que tange os efeitos dos parâmetros de extração, especialmente os materiais vegetais advindos de *C. sativa*. Encontram-se em artigos algumas tendências gerais de operação, mas normalmente estas são descobertas por tentativa e erro. Infelizmente, o tema ainda não foi explorado satisfatoriamente na literatura (Rovetto; Aieta, 2017).

Os parâmetros mais relevantes são temperatura, pressão, vazão de solvente (incrustação) e razão solvente-alimentação. Todos eles possuem um grande impacto no rendimento, no tempo de extração, na qualidade do produto e no custeio geral do processo. Assim, pode-se destacar a influência de cada parâmetro:

- a) Temperatura: a temperatura do recipiente de extração é a preocupação principal. Um aumento da temperatura de extração pode acarretar num baixo teor de terpenos no extrato, justamente por tratar-se de compostos bastante voláteis. A elevação da temperatura ainda contribui para a extração de ceras, resinas e clorofila. Ao contrário, temperaturas mais baixas aumentam o rendimento de óleo essencial e reduzem a proporção de ceras extraídas. A cera é caracterizada por ser uma goma verde escura muito viscosa e pegajosa, composta por resíduos pesados co-extraídos durante o processo, como por exemplo, pigmentos, fosfolipídios, metais pesados e ácidos graxos (Teräsvalli, 2020). Entretanto, Driníc et al. (2021) observou que o aumento da temperatura acarreta no aumento da solubilidade do CBG e THC e diminuição da solubilidade de CBD e CBN (especialmente em temperaturas próximas àquelas do ponto de fusão destes dois últimos canabinoides).
- b) Pressão: a pressão também é um fator crucial, pois afeta o rendimento e a seletividade do processo de extração. Como um princípio geral, quanto maior a pressão, maior é o poder solvente e o rendimento do processo

(Rovetto; Aieta, 2017). Isso porque alguns fluidos supercríticos podem alterar sua polaridade (e também a densidade) em alta pressão e, por conseguinte, serem capazes de dissolver um composto alvo. A solubilidade dos canabinoides no CO₂ supercrítico também aumenta, conforme o aumento da pressão a uma temperatura constante. Entretanto, a extração de outros compostos não-canabinoides indesejáveis também é favorecida e, dessa forma, perde-se a seletividade da extração. Por isso, o ideal é evitar pressões muito elevadas e altos níveis de densidade do CO₂ supercrítico. Dessa forma, o ajuste da pressão dependerá do objetivo da extração e, nem sempre a alta seletividade para canabinoides é desejada: a obtenção de outras substâncias (como terpenos e flavonoides) pode ser requerida para a produção do efeito entourage (Baldino et al., 2020).

- c) Vazão do solvente: uma baixa vazão de CO₂ possibilita um maior tempo de contato entre o solvente e o soluto. Dessa forma, o rendimento da extração aumenta, porém o tempo de operação também é aumentado. Por outro lado, trabalhar com uma alta taxa de fluxo permite acelerar o processo, mas implica na necessidade de maior atenção e cautela. Isso porque, em altas pressões, juntamente com uma vazão alta é possível ocorrer o esgotamento do fornecimento de CO₂ com o tempo. De um modo geral, o ideal é manter o equilíbrio: a taxa de fluxo deve ser suficiente para diminuir o tempo de extração, mas permitir um bom rendimento de CBD (Costa; Tavares, 2018).
- d) Uso de cossolventes: as descobertas de Perrotin-Brunel et al. (2010) demonstraram que a ordem de solubilidade dos canabinoides em CO₂ supercrítico foi THC < CBG < CBD < CBN. Alguns modificadores ou cossolventes (como por exemplo metanol, etanol, isopropanol) podem ser utilizados para melhorar a taxa de extração e incluir componentes mais polares. Eles são considerados arrastadores polares capazes de alterar a polaridade do dióxido de carbono e ainda possibilitar operar com menores quantidades de CO₂. O etanol é o cossolvente mais comumente utilizado por possuir uma toxicidade menor, um custo favorável e ainda uma facilidade no seu descarte. Ao contrário de um fluxo constante, o etanol pode ser administrado em pulsos, de modo que a quantidade necessária

do mesmo seja menor, assim como o tempo de extração. Entretanto, é necessário usar os modificadores com cautela, uma vez que a sua utilização pode aumentar a co-extração de substâncias indesejáveis e diminuir a pureza do extrato (Kargili; Aytaç, 2021).

Em seus experimentos, Grijó et. al. (2019) utilizou flores de duas variedades híbridas: a “Girl Scout Cookies”, ou “GSC”, e a “Durga Mata II CBD”, ou “DMII”. Na primeira estratégia de extração, as amostras foram primeiramente descarboxiladas (aquecidas nas temperaturas de 90, 110 e 140°C por um período de três horas). Na segunda estratégia, as amostras não foram descarboxiladas e a extração foi realizada com o auxílio do etanol como cossolvente. Ao final da extração, por meio de uma análise em HPLC, a composição dos canabinoides nos extratos foi investigada, e os resultados foram apresentados. De acordo com os autores, a etapa de descarboxilação a 140°C por 30 minutos de ambas as variedades aumentou a concentração de CBD e Δ^9 -THC nos extratos. Além disso, a utilização do cossolvente proporcionou uma extração com maior rendimento e seletividade para canabinoides. De uma maneira geral, os maiores rendimentos foram obtidos com as maiores densidades de solvente para a variedade “GSC”. Já para a variedade “DMII”, foi notado um comportamento cruzado, pois em algumas extrações os maiores rendimentos não foram obtidos com as maiores densidades (possivelmente devido à maior concentração de ambos os canabinoides, CBD e Δ^9 -THC, na variedade “DMII”). Utilizando 2g de amostra e uma vazão de 2,5 mL.min⁻¹, nas Tabelas 3 e 4 é possível observar os maiores rendimentos de canabinoides encontrados nos extratos descarboxilados para a variedade “GSC” e “DMII”, respectivamente.

Tabela 3 – Maior rendimento encontrado dos principais canabinoides nos extratos com descarboxilação da variedade “GSC” (adaptado de Grijó et. al., 2019).

Canabinoide	Temperatura (°C)	Pressão (MPa)	Maior rendimento obtido
-------------	------------------	---------------	-------------------------

CBD	50°C	16,5 MPa	5,08 ± 1,01 %
Δ^9 -THC	50°C	16,5 MPa	87,91 ± 1,10 %
CBN	70°C	24,9 MPa	1,18 ± 0,41 %

Tabela 4 - Maior rendimento encontrado dos principais canabinoides nos extratos com descarboxilação da variedade “DMII” (adaptado de Grijó et. al., 2019).

Canabinoide	Temperatura (°C)	Pressão (MPa)	Maior rendimento obtido
CBD	70°C	12,8 MPa	43,00 ± 3,54 %
Δ^9 -THC	60°C	18,4 MPa	38,72 ± 1,14 %
CBN	70°C	12,8 MPa	0,50 ± 0,29 %

Drinic et al. (2021) realizou um estudo comparativo com diferentes técnicas de extração (extração soxhlet, hidrodestilação, extração subcrítica com água e extração supercrítica com dióxido de carbono seguida de extração convencional) para o isolamento de compostos bioativos das partes aéreas de *C.sativa*. Neste estudo, a extração supercrítica foi realizada em diferentes combinações de pressão (100, 200 e 300 bar) e temperatura (40, 50 e 60°C), partindo de 40g de material vegetal. Além disso, as condições do separador foram 15 bar e 23°C. Após a extração supercrítica, o extrato coletado foi novamente submetido a uma extração, dessa vez uma extração clássica com solvente orgânico etanol. O conteúdo de CBD e THC nos extratos foram analisados por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (GC-MS). Foi observado que a temperatura apresentou influência diferente nas diferentes pressões aplicadas, por isso alguns autores relatam diminuição do rendimento com o aumento da temperatura, enquanto outros relatam aumento no rendimento.

Nos experimentos de Drinic et al. (2021), o maior rendimento de canabinoides foi obtido à pressão de 100 bar e à temperatura de 40°C. O menor conteúdo de CBD foi obtido na mesma pressão, porém na temperatura de 60°C, enquanto o menor teor de THC foi obtido na pressão de 200 bar e na temperatura de 50°C. Isso demonstrou que o aumento da temperatura, em todos os valores de pressão analisados, influenciou negativamente o isolamento dos canabinoides, com exceção do THC a 300 bar, no qual o aumento da temperatura teve influência positiva. Embora o aumento da pressão tenha ocasionado um maior rendimento de extração, o teor de canabinoides nos extratos diminuiu em pressões elevadas. Estes resultados coincidem com o relato de Kitryte et al. (2018), no qual o maior teor de canabinoides foi obtido no extrato produzido na menor pressão testada (faixa de pressão testada: de 100 a 500 bar) e na menor temperatura (faixa de temperatura testada: de 35 a 75°C). Além disso, Drinic et al. observou que o tempo de extração também influencia no teor de CBD e THC nos extratos: em seus experimentos, mais de 70% dos canabinoides foram extraídos nos primeiros 120 minutos.

Para Drinic et al., em relação à eficiência do processo e não à qualidade do extrato, as condições ótimas para a extração supercrítica com CO₂ foi à pressão de 300 bar, temperatura de 40°C e tempo de extração de 120 min. Na Tabela 5, é possível comparar os rendimentos dos canabinoides nas diferentes condições de temperatura e pressão, encontrados no estudo.

Tabela 5 – Rendimento de canabinoides do extrato total de cânhamo, sob diferentes valores de temperatura e pressão, obtido por extração com CO₂ supercrítico (adaptado de Drinic et al., 2021).

Composto	100 barras			200 barras			300 barras		
	40°C	50°C	60°C	40°C	50°C	60°C	40°C	50°C	60°C
Canabinoides	71,17	65,48	74,05	81,95	80,32	77,56	77,96	78,51	76,88

Para Moreno et al. (2020), nos extratos brutos, os principais canabinoides acompanham uma tendência normalmente crescente: pressões mais elevadas favorecem a extração. Nos extratos descarboxilados, a extração de CBD foi favorecida em pressões baixas a médias (200-500 bar), ao passo que a extração dos outros três canabinoides principais (CBDA, THCA e THC) foi mais produtiva em pressões mais elevadas (1000 bar). Neste estudo, nos extratos obtidos a 100 bar, os canabinoides extraídos foram compostos quase totalmente por CBD. Foi possível concluir que na extração supercrítica, a concentração de CBD atingiu 449 mg/g a 200 bar. Além disso, os autores relataram que a descarboxilação prévia do material vegetal proporcionou maior rendimento e maior concentração de canabinoides no extrato.

Nos diversos trabalhos revistos, diferentes métodos de extração foram usados e vários parâmetros foram investigados a fim de otimizar o rendimento da extração de canabinoides de *C. sativa*. Entretanto, o uso de solvente orgânico e a existência de seus resíduos não foram discutidos (Baldino et al., 2020). Um resumo das melhores condições de operação encontradas nos principais trabalhos e patentes presentes na literatura, em relação à extração de canabinoides de *C. sativa*, usando dióxido de carbono supercrítico, está relatado na Tabela 6.

Tabela 6 – Melhores condições de operação encontradas nos principais artigos e patentes presentes na literatura, relacionadas à extração de canabinoides de *C. sativa*, utilizando extração supercrítica com dióxido de carbono (adaptado de Baldino et al., 2020).

Pressão (bar)	Temperatura (°C)	Cossolvente	Taxa de fluxo do CO ₂ supercrítico	Rendimento	Tempo de extração	Referência
180 bar	40 °C	Não	-	3,58 % rendimento de extração	1 hora	Monton et al. (2021)
230 bar	40 °C	Não	100 g/min.	-	4 horas	Perrotin-Brunel et al. (2010)
465 bar	70 °C	Não	-	8,3 %	2 horas	Kitryte et

				rendimento de extração		al. (2017)
340 bar	55 °C	Não	200 g/min.	0,185 ± 0,005 rendimento (g extrato/g ração)	-	Rovetto e Aieta (2017)
350 bar	50 °C	Não	35 g.min ⁻¹	1,87 % rendimento de extração	4 horas	Attard et al. (2017)
330 bar	40 °C	2 % etanol	10 g/min	11,8 ± 0,6 % rendimento de extração	2 horas	Kargili e Aytaç (2021)
80 bar	27 °C	10 % etanol	7 kg/h	0,2 – 6,5 % rendimento de extração	-	Vági et al. (2020)
300 bar	60 – 70 °C	10 % etanol	0,50 L/min	94,8 ± 2,2 % de canabinoides	-	Fernández et al. (2021)
100 bar	40 °C	Não	-	65 % de CBD	6 horas	Baldino et al. (2020)
320 bar	60 °C	Não	150 g/min	7,1 % rendimento de extração	10 horas	Rochfort et al. (2020)

Pela revisão dos trabalhos, é possível concluir que a extração com dióxido de carbono supercrítico resultou na produção do extrato com maior teor de CBD (Drinic et al., 2021), e que a pressão de extração não afeta apenas a composição do extrato, mas também sua cor e aparência visual. Segundo Moreno et al. (2020), a baixa pressão (100 bar), o extrato é um óleo fino, rico em CBD e de cor dourada clara. À medida que a pressão aumenta, a viscosidade do extrato engrossa e sua cor torna-se marrom e cada vez mais escura, principalmente para o extrato de matéria-prima vegetal.

Ainda, as diferentes solubilidades de cada canabinoide em CO₂ supercrítico podem ser usadas para tentar um fracionamento parcial desses compostos durante a extração. Utilizar um processo de extração em duas etapas, em que a pressão é inicialmente baixa para favorecer a extração do CBD e posteriormente aumentada para obter os componentes menos solúveis. Uma estratégia alternativa é um processo de despressurização em estágios, onde dois ou mais separadores são usados em série a pressões decrescentes (ou seja, diminuindo a densidade do solvente) para separar os diferentes componentes. Canabinoides menos solúveis, como THC e CBG, juntamente com compostos mais pesados, como ceras e lipídios, são coletados preferencialmente no primeiro separador, enquanto o CBD e outros compostos mais voláteis são coletados no segundo separador (Moreno et al., 2020).

Para extração de canabinoides de *C. sativa* baixas temperaturas (40-50°) foram mais favoráveis (Vági et al., 2020). Além disso, temperaturas baixas fornecem um teor de THC menor do que temperaturas mais altas. Isso porque a solubilidade do THC aumenta com a pressão e com a temperatura, quando a pressão é superior a aproximadamente 150 bar, que foi relatada como a região de cruzamento (o cruzamento das linhas de solubilidade), ou seja, à pressão constante, em pressões inferiores a 150 bar, a solubilidade diminui com o aumento da temperatura, mas em pressões superiores a 150 bar, observa-se uma tendência reversa (Fernández et al., 2021).

No que diz respeito à aplicação industrial, existem dois processos patenteados para a obtenção de extratos de cânhamo ricos em THC e CBD utilizando extração supercrítica de dióxido de carbono. Os requisitos da patente WO2004066277 incluem procedimentos que aplicam dióxido de carbono sub e supercrítico, entre pressão de 6 a 60 MPa e 10 a 35 °C como faixas de temperatura, e fluxo de massa de CO₂ de 1.000 a 1.500 kg/h (Vági et al., 2020). A partir disso, os demais estudos concluíram que a solubilidade do CBG em CO₂ é semelhante ao de Δ^9 -THC (maior solubilidade em alta temperatura, 70°C), enquanto o CBD mostra semelhanças com o CBN (maior solubilidade em temperatura média, 50 °C), devido à diferenças na estrutura química e no ponto de fusão dos quatro canabinoides (Fernández et al., 2021).

Para Perrotin-Brunel (2011), o maior rendimento foi relatado para a configuração em escala piloto em 40 °C e 23 MPa, com 6 kg/h (100 g/min) de fluxo

de CO₂, usando amostras de 45g, com proporção mínima de solvente para alimentação (S/F) de 400:1.

5. CONCLUSÃO

A tecnologia de extração com CO₂ supercrítico pode representar a solução para diminuir o uso de solventes orgânicos e para a obtenção de uma extração seletiva para canabinoides e óleo essencial. Ela é capaz de fornecer um produto enriquecido com CBD, de pureza média a alta, além de refletir uma estratégia verde e escalável. Esta técnica tem a grande vantagem de evitar o risco de contaminação dos canabinoides e do solvente para o meio ambiente. Perrotin-Brunel (2011) concluiu que o processo de extração com fluido supercrítico é preferível à extração tradicional com solventes orgânicos, tanto do ponto de vista econômico, quanto ecológico. Entretanto, ainda é necessário realizar a extração supercrítica e o processamento de canabinoides de uma forma mais planejada, uma vez que os estudos sobre o assunto não foram explorados satisfatoriamente na literatura. Informações sobre a eficiência do processo de extração deste material vegetal, as condições de extração mais favoráveis e a concentração de canabinoides nos extratos são limitadas (Rovetto; Aieta, 2017; Baldino et al., 2020).

Parte significativa dos experimentos e revisões concluiu que o rendimento global de extração foi aumentado com a adição de um cossolvente (frequentemente o etanol), e que os maiores teores de THC e CBD foram obtidos do material vegetal descarboxilado (Moreno et al., 2020). Além disso, alguns relatórios demonstraram que pressões mais elevadas promovem maiores rendimentos de extração, embora tenha sido observado menor seletividade. Dentro desse contexto, a extração com CO₂ supercrítico tem a flexibilidade da manipulação da pressão e da temperatura do processo e, assim, permitir o ajuste da densidade e do poder solvente, possibilitando extrações seletivas para os compostos de interesse (Valizadehderakhshan et al., 2021; Fernández et al., 2021).

É de extrema importância a seleção criteriosa do método de extração para a preparação de extratos de cannabis quando efeitos terapêuticos específicos são desejados. Dentro desse contexto, a extração com fluido supercrítico tem demonstrado ser uma técnica de extração seletiva, com baixo custo de operação, que requer um curto tempo de processamento, em comparação com a maioria dos

métodos convencionais de extração (especialmente devido ao eficiente processo de remoção do solvente, o que contribui para a obtenção de extratos de maior qualidade), além de ser uma tecnologia sustentável (Qamar et al.; 2021).

É possível concluir também que o comportamento de solubilidade do CBD em dióxido de carbono supercrítico é diferente dos canabinoides psicoativos, como o Δ^9 -THC e o canabinol, que exibem solubilidades mais elevadas em temperaturas mais altas. Por isso, a separação/fracionamento do CBD dos canabinoides psicoativos pela extração supercrítica com CO₂ é relativamente simples, possibilitando a obtenção de um óleo com alto teor de CBD. Pode-se dizer que essa é uma grande vantagem dessa técnica de extração em relação às extrações com solventes convencionais (Attard et al., 2017 e Fernandez et al., 2021). Entretanto, a possibilidade de separação fracionada dos extratos em vários separadores ainda não foi totalmente explorada na literatura (Baldino et al., 2020).

Quase por unanimidade, os estudos demonstraram que a extração supercrítica de canabinoides é facilitada quando empregadas pressões moderadas. De uma maneira geral, o aumento da pressão de operação aumentou o rendimento da extração, mas diminuiu o teor de CBD e THC nos extratos. Isso porque uma pressão mais elevada aumenta a resistência do solvente e diminui a seletividade da extração, uma vez que a co-extração de muitos compostos indesejados é favorecida (Monton et al., 2021).

Todas as técnicas estudadas até agora são capazes de produzir boas quantidades de extrato com alto teor de mistura de canabinoides, mas não conseguem isolar os compostos individuais, devido à semelhança em suas estruturas químicas. Quando há a necessidade da produção de compostos de alta pureza (99% ou mais), pode ser válido aplicar técnicas cromatográficas em escala de produção, como a cromatografia com dióxido de carbono supercrítico (Baldino et al., 2020). Por isso, é de extrema importância a seleção criteriosa do quimiotipo específico de cannabis (a quantidade total de canabinoides extraídos depende da qualidade, ou seja, da concentração de canabinoides do material vegetal utilizado) e do método de extração, na obtenção de extratos de *C. sativa* quando são desejados efeitos terapêuticos específicos. Dentro desse contexto, atualmente, a extração supercrítica com dióxido de carbono provou ser o melhor método para extrair canabinoides na sua forma neutra e farmacologicamente ativa (Fernandez et al., 2021 e Rovetto; Aieta, 2017).

É importante enfatizar que, embora o CBC e o CBG também tenham atividade anticancerígena, antibacteriana e antifúngica, pouca informação está disponível na literatura sobre métodos de extração ou condições ideais da extração supercrítica desses dois canabinoides. Sendo assim, determinar as condições ideais de extração para CBC e CBG pode ser valioso para o seu desenvolvimento como agentes terapêuticos (Fernández et al., 2021).

6. REFERÊNCIAS

- ABBAS, K.A.; MOHAMED, A.; ABDULAMIR, A.S.; ABAS, H.A. A review on supercritical fluid extraction as new analytical method. **American Journal of Biochemistry and Biotechnology**, v. 4, p. 345-353, 2008. <https://doi.org/10.3844/ajbbsp.2008.345.353>
- ALADIC, K.; JARNI, K.; BARBIR, T.; VIDOVIC, S.; VLADIC, J.; BILIC, M.; JOKIC, S. Supercritical CO₂ extraction of hemp (*Cannabis sativa* L.) seed oil. **Industrial Crops and Products**, v. 76, p. 472-478, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.07.016>
- ATALAY, S.; JAROCKA-KARPOWICZ, I.; SKRZYDLEWSKA, E. Antioxidative and anti-inflammatory properties of cannabidiol. **Antioxidants**, v.9, p. 21, 2019. <https://doi.org/10.3390/antiox9010021>
- ATKINS, P.W. **Físico-Química**. 6 ed. Rio de Janeiro: L.T.C. Editora, 1999. v. 1, p. 252.
- ATKINS, P.W. **Físico-Química – Fundamentos**. 3. ed. Rio de Janeiro: L.T.C. Editora, 2003. v. 2, p. 382.
- BALDINO, L.; SCOGNAMIGLIO, M.; REVERCHON, E. Supercritical fluid technologies applied to the extraction of compounds of industrial interest from *Cannabis sativa* L. and to their pharmaceutical formulations: A review. **The Journal Of Supercritical Fluids**, v. 165, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2020.104960>
- BEVAN, C.D.; MARSHALL, P.S. The use of supercritical fluids in the isolation of natural products. **Natural Products Reports**, v. 11, p. 451-466, 1994. <https://doi.org/10.1039/NP9941100451>
- BHARDWAJ, L., SHARMA, P.K.; VISHT, S.; GARG, V.K.; KUMAR, N. A review on methodology and application of supercritical fluid technology in pharmaceutical industry. **Der Pharmacia Sinica**, v. 1, p. 183-194, 2010.
- CANNABIS Extraction by Supercritical Carbon Dioxide – Effects of Extraction Parameters. **Supercritical Fluid Technologies Inc.** Disponível em:

<https://www.supercriticalfluids.com/technical-resources/applications-notes/>. Acesso em: 08 nov. 2023.

CAPUZZO, A.; MAFFEI E. M.; OCCHIPINTI, A. Supercritical Fluid Extraction of Plant Flavors and Fragrances. **Molecules**, v. 18, p. 7194-7238, 2013. <https://doi.org/10.3390/molecules18067194>

CARRILHO, E.; TAVARES, M.C.H.; LANÇAS, F.M. Fluidos Supercríticos em Química Analítica. I. Cromatografia com Fluido Supercrítico: Conceitos Termodinâmicos. **Química Nova**, v. 24, n. 4, p. 509-515, 2001. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422001000400012>.

CASSEL, E.; VARGAS, R.M.F.; BRUN, G.W. Processos de extração supercrítica aplicados a produtos naturais . In: CASSEL, E.; ROCHA, L.M. (Org.). **Fundamentos de Tecnología de Productos Fitoterapéuticos**. 2 ed. Porto Alegre: EDIPUCRS, 2008. p. 213-228.

COSTA, A.; BENATHAR BALLOD TAVARES, L. **Processos industriais - Unidade de extração supercrítica**. Curitiba: Appris editora, 2018.

CUNHA, V.M.B.; DA SILVA, M.P.; DA COSTA, W.A.; DE OLIVEIRA, M.S.; BEZERRA, F.W.F.; DE MELO, A.C.; PINTO, R.H.; MACHADO, N.T.; ARAÚJO, M.E.; DE JUNIOR, R.N.C. **Carbon Dioxide Use in High-Pressure Extraction Processes**. Londres: IntechOpen, 2018. *E-book*. DOI: <https://doi.org/10.5772/intechopen.68466>. Disponível em: <https://www.intechopen.com/books/6186>. Acesso em: 05 fev. 2024.

DRINIC, Z.; VLADIC, J.; KOREN, A.; ZEREMSKI, T.; STOJANOV, N.; TOMIC, M.; VIDOVIC, S. Application of conventional and high-pressure extraction techniques for the isolation of bioactive compounds from the aerial part of hemp (*Cannabis sativa* L.) assortment Helena. **Industrial Crops and Products**, v. 171, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2021.113908>

FERNÁNDEZ, S.; CARRERAS, T.; CASTRO, R.; PERELMUTER, K.; GIORGI, V.; VILA, A.; ROSALES, A.; PAZOS, M.; MOYNA, G.; CARREIRA, I.; BOLLATI-FOGOLÍN, M.; GARCIA-CARNELLI, C.; CARRERA, I.; VIEITEZ, I. A comparative study of supercritical fluid and ethanol extracts of cannabis inflorescences: Chemical

profile and biological activity. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 179, 2021.

<https://doi.org/10.1016/j.supflu.2021.105385>

GRIJÓ, D.R.; OSORIO, I.A.V.; CARDOZO-FILHO, L. Supercritical Extraction Strategies Using CO₂ and Ethanol to Obtain Cannabinoid Compounds from Cannabis Hybrid Flowers. **Journal of CO₂ Utilization**, v. 30, p. 241-248, 2019.

<https://doi.org/10.1016/j.jcou.2018.12.014>

HAMBURGER, M.; BAUMANN, D.; ADLER, S. Supercritical carbon dioxide extraction of selected medicinal plants – effects of high pressure and added ethanol on yield of extracted substances. **Phytochemical Analysis**, v. 15, p. 46-54, 2004.

<https://doi.org/10.1002/pca.743>

HELMUELLER, S. C. Mass Balance Analysis for Batch CO₂ Extraction of Hemp (*Cannabis sativa*). **Chromatography Today**, p. 52-56, 2018.

HERRERO, M.; MENDIOLA, J.A.; CIFUENTES, A.; IBÁÑEZ, E. Supercritical fluid extration: recent advances and applications. **Journal Of Chromatography A**, v. 1217, p. 2495-2511, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2009.12.019>

JARVIS, A.P.; MORGAN, E.D. Isolation of plant products by supercritical-fluid extraction. **Phytochemical analysis**, v. 8, p. 217-222, 1997.

[https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1099-1565\(199709/10\)8:5<217::AID-PCA366>3.0.CO;2-J](https://doi.org/10.1002/(SICI)1099-1565(199709/10)8:5<217::AID-PCA366>3.0.CO;2-J)

JOHNSON, R. **Hemp as an agricultural commodity**. Washington, DC, EUA: Congressional Research Service, 2018. 48 p. Disponível em: <https://www.nationalaglawcenter.org/wp-content/uploads/assets/crs/RL32725.pdf>.

Acesso em: 05 fev. 2024.

KARGILI, U.; AYTAÇ, E. Supercritical fluid extraction of cannabinoids (THC and CBD) from four different strains of cannabis grown in different regions. **The Journal Of Supercritical Fluids**, v. 179, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2021.105410>

KITRYTÉ, V.; BAGDONAITÉ, D.; VENSKUTONIS, P.R. Biorefining of industrial hemp (*Cannabis sativa* L.) threshing residues into cannabinoid and antioxidant fractions by supercritical carbon dioxide, pressurized liquid and enzyme-assisted extractions. **Food Chemistry**, v. 267, p. 420-429, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.09.080>

KREPP, A. Por que a legislação sobre cannabis não avança no Brasil? Como é em outros países. **Estadão**, 11 ago. 2022. Disponível em: <https://www.estadao.com.br/politica/por-que-a-legislacao-sobre-cannabis-nao-avanca-no-brasil-como-e-em-outros-paises/#:~:text=O%20Projeto%20de%20Lei%202899,para%20fins%20medicinais%20e%20cientificos>. Acesso em: 2 set. 2023.

LUQUE DE CASTRO, M.D.; JURADO-LÓPEZ, A.; LUQUE-GARCIA, J.L. Drug extration. IN: YORK, P.; KOMPELLA, U.B.; SHEKUNOV, B.Y. **Supercritical Fluid Technology for Drug Product Development**. New York: Marcel Dekker, 2004. p.498-531.

MARZORATI, S.; FRISCIONE, D.; PICCHI, E.; VEROTTA, L. Cannabidiol from inflorescences of *Cannabis sativa* L.: Green extraction and purification processes. **Industrial Crops & Products**, v. 155, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112816>

MARTÍNEZ, J. **Extração de óleos voláteis e outros compostos com CO2 supercrítico: desenvolvimento de uma metodologia de aumento de escala a partir da modelagem matemática do processo e avaliação dos extratos obtidos**. 2005. 190f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2005.

MAUL, A.A.; WASICKY, R.; BACCHI, E.M. Extração por fluido supercrítico. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 5, n.2, p. 185-200, 1996. <https://doi.org/10.1590/S0102-695X1996000200006>

MITIDIERI, F. **PL 399/2015 – Projeto de Lei**. Portal da Câmara dos Deputados, 23 fev. 2015. Disponível

em: <https://www.camara.leg.br/proposicoesWeb/fichadetramitacao?idProposicao=947642>. Acesso em: 10 set. 2023.

MORENO, T.; MONTANES, F.; TALLON, S.J.; FENTON, T.; KING, J.W. Extraction of cannabinoids from hemp (*Cannabis sativa* L.) using high pressure solvents: An overview of different processing options. **The Journal Of Supercritical Fluids**, v. 161, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2020.104850>

MOSKOWITZ, M. **Cannabis Medicinal: um guia para pacientes e profissionais da saúde**. Belo Horizonte: Laszlo, 2021.

MUKHOPADHYAY, M. **Natural Extracts Using Supercritical Carbon Dioxide**. Boca Raton: CRC Press, 2000.

NETZ, P.A.; ORTEGA, G.G. **Fundamentos de Físico-Química: Uma Abordagem Conceitual para as Ciências Farmacêuticas**. Porto Alegre: Artmed, 2002.

PACHER, P.; KUNOS, G. Modulating the endocannabinoid system in human health and disease - successes and failures. **FEBS Journal**, v. 280, 22 abr. 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/febs.12260>. Acesso em: 20 set. 2023.

PEREIRA, C.G.; MEIRELES, M.A.A. Supercritical fluid extraction of bioactive compounds: Fundamentals, applications and economic perspectives. **Food and Bioprocess Technology**, v. 3, p. 340-372, 2010. <https://doi.org/10.1007/s11947-009-0263-2>

PERROTIN-BRUNEL, H.; KROON, M.C.; VAN ROOSMALEN, M.J.E.; VAN SPRONSEN, J.; PETER, C.J.; WITKAMP, G.-J. Solubility of non-psychoactive cannabinoids in supercritical carbon dioxide and comparison with psychoactive cannabinoids. **The Journal of Supercritical Fluid**, v. 55, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2010.09.011>

PERROTIN-BRUNEL, H. Sustainable Production of Cannabinoids with Supercritical Carbon Dioxide Technologies. **Technische Universiteit**, 2011. ISBN: 978-90-8570-730-1

QAMAR, S.; TORRES, Y.J.M.; PAREKH, H.S.; FALCONER, J.R. Effects of Ethanol on the Supercritical Carbon Dioxide Extraction of Cannabinoids from Near Equimolar

(THC and CBD Balanced) Cannabis Flower. **Journal Of Cromatography B**, v. 1167, 2021. <https://doi.org/10.3390/separations8090154>

RECOMMENDED methods for the identification and analysis of Cannabis and Cannabis products., Vienna, mar. 2022. Disponível em: https://www.unodc.org/documents/scientific/Recommended_methods_for_the_identification_and_analysis_of_cannabis_and_cannabis_products.pdf. Acesso em: 14 out. 2023.

ROSA, P.T.V.; PARAJO, J.C.; DOMÍNGUEZ, H.; MOURE, A.; DÍAZ-REINOSO, B.; SMITH JR., R.L.; TOYOMIZU, M.; FLORUSSE, L.J.; PETER, C.J.; GOTO, M.; LUCAS, S.; MEIRELES, M.A.A. Supercritical and pressurized fluid extraction applied to the food industry. In: MEIRELES, M.A.A. (Ed.). **Extracting Bioactive Compounds for Food Products: Theory and Applications**. Boca Raton: CRC Press, 2009. p. 269-401.

ROVETTO, L.J.; AIETA, N.V. Supercritical carbon dioxide extraction of cannabinoids from Cannabis sativa L. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 129, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2017.03.014>

SHARIF, K.M.; RAHMAN, M.M.; AZMIR, J.; MOHAMMED, A.; JAHURUL, M.H.A.; SAHENA, F.; ZAIDUL, I.S.M. Experimental design of supercritical fluid extraction – A review. **Journal of Food Engineering**, v. 124, p. 105-116, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2013.10.003>

SILVA, C.S.P.; MOTA, F.O.; SEIKI, J.; SHIBATA, L.Y.; DOS SANTOS, L.M.; DA SILVA, M.A.; GERIBELLO, R.S.; AMARANTE, M.S. Gases industriais: transporte, manuseio, cuidados e análise de risco. **Pesquisa e Ação**, v. 5, n. 2, p. 135-160, 2019. Disponível em: <https://revistas.brazcubas.edu.br/index.php/pesquisa/article/view/680>. Acesso em: 05 fev. 2014.

TAYLOR, L.T. **Supercritical Fluid Extration**. New York: John Wiley & Sons, 1996.

TERÄSVALLI, H. **Extraction and Purification of Cannabidiol**. 2020. Tese (Doutorado em Engenharia Química) – Escola de Ciências da Engenharia, Lappeenranta University of Technology, Lappeenranta, Finlândia, 2020.

THOMAS B.F.; ELSOHL, M.A. **Biosynthesis and pharmacology of phytocannabinoids and related chemical constituents**: The Analytical Chemistry of Cannabis. Amsterdam, The Netherlands: Elsevier, 2016. p. 27-41.

TORRES, A.B. Resolução RDC nº 660, de 30 de março de 2022. **Imprensa Nacional do Brasil**, 2022. Disponível em: https://www.google.com/search?q=DI%C3%81RIO+OFICIAL+DA+UNI%C3%83O&og=DI%C3%81RIO+OFICIAL+DA+UNI%C3%83O&gs_lcrp=EgZjaHJvbWUyDAgAEEUYORixAxiABDIGCAEQRRhAMgYIAhAAGAMyBggDEAAyAzIHCAQQABiABDIHCAUQABiABDIHCAYQABiABDIHCAcQABiABKgCALACAA&sourceid=chrome&ie=UTF-8. Acesso em: 2 jan 2024.

TOUW, M. The religious and medicinal uses of Cannabis in China, India and Tibet. **J. Psychoact Drugs**, v. 13, p. 23-34, 1981. <https://doi.org/10.1080/02791072.1981.10471447>

UPTON, R. et al. Cannabis Inflorescence: Cannabis spp. Standards of Identity, Analysis, and Quality Control. In: **American Herbal Pharmacopoeia**, 2014.

VAGI, E.; BALÁZS, M.; KOMOCZI, A.; MIHALOVITS, M.; SZÉKELY, E. Fractionation of phytocannabinoids from industrial hemp residues with high-pressure technologies. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 164, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2020.104898>

VALIZADEHDERAKHSHAN, M.; SHAHBAZI, A.; KAZEM-ROSTAMI, M.; TODD, M.S.; BHOWMIK, A.; WANG, L. Extraction of Cannabinoids from Cannabis sativa L. (Hemp)—Review. **Agriculture**, v. 11, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/agriculture11050384>

YAMINI, Y.; ASGHARI-KHIAVI, M.; BAHRAMIFAR, N. Effects of different parameters on supercritical fluid extraction of steroid drugs, from spiked matrices and tablets. **The Internacional Journal of Pure and Applied Analytical Chemistry**, v. 58, 2002. [https://doi.org/10.1016/S0039-9140\(02\)00455-1](https://doi.org/10.1016/S0039-9140(02)00455-1).