

EXTRAÇÃO COM FLUIDO SUPERCRÍTICO: QUO VADIS?

► Resumo

Este trabalho apresenta uma discussão crítica a respeito da Extração com Fluido Supercrítico (SFE), envolvendo sua conceituação frente a outras técnicas análogas de extração. A seguir, discute-se as vantagens e limitações da técnica, com indicações de suas principais aplicações. A evolução da instrumentação para SFE, vista pelo autor como um dos envolvidos em seu desenvolvimento, é apresentada e discutida criticamente. Na conclusão, o autor sugere que os interessados em iniciar trabalhos nesta área devem avaliar cuidadosamente as vantagens e limitações da técnica SFE, assim como inteirar-se de outras técnicas instrumentais alternativas de extração incluindo a Microextração em Fase Sólida (SPME), Extração Acelerada com Solventes (ASE), Extração com Água no Estado Subcrítico (SWE), particularmente se a aquisição de um equipamento for necessária.

► Summary

This work describes a critical review on Supercritical Fluid Extraction (SFE), involving its concept in face of alternative extraction techniques. Following, the major advantages and limitations of SFE are discussed, as well as its major applications. The evolution of instruments to be used for SFE are critically discussed from the author's point-of-view, himself involved with this development. In the conclusion the author suggests that those users interested in entering this field should carefully evaluate the advantages and limitations of SFE, as well as consider similar instrumental extraction techniques such as Solid Phase Microextraction (SPME), Accelerated Solvent Extraction (ASE), Subcritical Water Extraction (SWE) and others, particularly if planning the acquisition of a new instrument.

■ Introdução

Apesar de ainda estar sendo tratada como uma descoberta recente, particularmente no Brasil, as propriedades fundamentais dos fluidos supercríticos são conhecidas há mais de um século. Seu uso como uma ferramenta analítica e preparativa somente ganhou popularidade nos últimos 20 anos, particularmente devido às restrições quanto ao uso de solventes orgânicos na produção de alimentos (escala preparativa) e à maior consciência ecológica quanto ao uso de solventes orgânicos em métodos de análise envolvendo extração (escala analítica).

Atribui-se a Hannay e Hogard (1879) a descoberta de

que o aumento simultâneo na pressão e na temperatura de certas substâncias químicas aumentava sua solubilidade, experimentos estes ampliados e melhor sistematizados por Buchner em 1906 (1). Entretanto, o uso em larga escala desta propriedade somente consolidou-se a partir da segunda metade do século XX, inicialmente com o nome de gases densos, fluidos pressurizados e, finalmente, fluidos supercríticos (2). Um dos principais fatores a retardar a difusão desta tecnologia foi a dificuldade em projetar-se equipamentos seguros para operar-se em temperaturas e, principalmente, pressões elevadas, muitas vezes superiores a 1000 atm.

Fernando Mauro Lanças

Universidade de São Paulo
Instituto de Química de São Carlos
Laboratório de Cromatografia
(CROMA)

Correspondência:
Universidade de São Paulo
Instituto de Química de São Carlos
Laboratório de Cromatografia
(CROMA)

Cep: 13560-970. São Carlos. SP

Fone: (16) 273-9983

Fax: (16) 273-9984

E-mail: flancas@iqsc.sc.usp.br

Conceituando um Fluido Supercrítico

Formalmente, um fluido supercrítico é definido como qualquer substância cuja temperatura e pressão (ambos, simultaneamente) estejam acima do ponto crítico, usualmente definido a partir do diagrama de fases de uma substância pura (Figura 1). Entretanto, este conceito é de pouca utilidade prática, uma vez que a mudança de fase de uma substância do estado líquido ou gasoso para o supercrítico ocorre de forma contínua, e não como usualmente sugerido pelo diagrama de fases da Figura 1 (ou seja, de forma descontínua). Na prática, o estado supercrítico é obtido através de um aumento simultâneo da temperatura e da pressão de uma substância (ou mistura de substâncias) de forma a modificar o estado de agregação entre suas moléculas. Esta alteração produz uma modificação na densidade da substância (ou mistura) e, como consequência, de seu poder de solvatação, modificando o comportamento químico da mesma. Dentre as várias propriedades de uma substância, as quais são alteradas por este procedimento, uma das mais úteis foi a observação experimental da mudança na constante dielétrica. Assim, o dióxido de carbono, por exemplo, substância cuja constante dielétrica em condições normais de temperatura e pressão faz com que tenha comportamento similar a solventes apolares como o pentano, em elevadas pressões possui constante dielétrica similar a de solventes polares em condições normais.

Em contrapartida, a água, solvente considerado como polar em condições normais devido a sua elevada constante dielétrica, em pressões e temperaturas elevadas possui constante dielétrica próxima de zero e comportamento similar a solventes apolares como o pentano. Portanto, a aplicabilidade da classificação tradicional em substâncias “polares” e “apolares” ou, melhor ainda, de constante dielétrica baixa e elevada, depende de fixar-se as condições experimentais de temperatura e pressão, uma vez que uma alteração nestas propriedades causa grande efeito nestas classificações. Desta forma, a substância dióxido de carbono, tida como substância apolar, pode ter sua “polaridade” progressivamente alterada com aumento da pressão, até tornar-se uma substância cujas propriedades permitiriam com que fosse classificada como “polar” nos sistemas clássicos de polaridade. De forma similar a água, solvente amplamente empregado na solubilização da maioria das substâncias inorgânicas devido ao seu caráter “polar”, pode ter este comportamento alterado por mudanças na pressão e temperatura, de forma a ter comportamento de uma substância classificada normalmente como “apolar”. Estas alterações na constante dielétrica fazem com que o poder de solvatação e, como consequência, o poder de solubilização sejam alterados, propriedade esta a qual torna-se uma importante ferramenta analítica ainda não explorada.

Estado Supercrítico versus Estados Subcríticos

Na prática, um fluido supercrítico pode ser visto como um caso particular de estado de agregação de uma substância entre os dois extremos: estados gasoso e líquido (Figura 2). Nesta figura, observa-se que o aumento da temperatura de uma substância líquida, mantendo-se a pressão suficiente para não deixá-la ir ao estado gasoso, conduz a um estado intermediário (fluido supercrítico) similar ao obtido, partindo-se de um gás e aumentando sua pressão a uma temperatura suficientemente elevada para não permitir sua liquefação.

Iniciando-se um processo com uma substância no estado líquido e aumentando sua temperatura a uma pressão constante, diminui-se – de forma contínua – sua densidade, tendendo a atingir o estado gasoso. Entretanto, se a pressão aplicada for suficientemente elevada de forma a não permitir a substância atingir o estado gasoso, a mesma estará em um estado intermediário entre o líquido e o gasoso. Se nestas condições sua pressão e temperatura estiverem acima dos valores críticos, a substância é dita estar no estado supercrítico e seu emprego como solvente de extração confere à técnica o nome de Extração com Fluido Supercrítico (SFE, Supercritical Fluid Extraction). Caso uma delas (pressão ou temperatura) não esteja acima do valor crítico, a substância usualmente é referida como um fluido subcrítico possuindo, também, várias aplicações analíticas interessantes (3). Uma das vertentes melhor desenvolvida no momento empregando líquidos pressurizados, mas no estado subcrítico, tem sido a denominada extração acelerada com solventes (ASE – “Accelerated Solvent Extraction”). Esta técnica, bastante similar a extração com fluido supercrítico, tem sido empregada com sucesso na análise de substâncias sólidas e semi-sólidas (4-6), incluindo alimentos e solos/sedimentos.

De maneira análoga, um aumento na pressão de um gás a uma temperatura constante tende a aumentar sua densidade em direção a do estado líquido. Vários estados intermediários irão existir entre os dois extremos (gás e líquido), incluindo o estado supercrítico se a pressão e temperatura estiverem, ambos, acima do estado crítico. Outros estados intermediários serão obtidos se esta condição não for obedecida, sendo o gás denso (gás cuja densidade foi modificada pela pressão mas não se encontra no estado supercrítico) um caso particular de estado subcrítico.

Um nome mais genérico, que englobaria todas estas técnicas descritas nesta introdução seria a Extração Pressurizada com Solventes (PSE, “Pressurized Solvent Extraction”), a qual seria independente do estado físico formal da substância (7,8). Apesar do Laboratório de Cromatografia (CROMA) do IQSC-USP trabalhar com todas estas técnicas, incluindo desenvolvimento de teoria, instrumentação, metodologia e aplicações, neste trabalho o enfoque será direcionado à Extração com Fluido Supercrítico (SFE).

Extração Com Fluido Supercrítico (SFE)

A Extração com Fluido Supercrítico (SFE) consiste em uma técnica analítica que emprega como solvente extrator um fluido no estado supercrítico. Apesar de similar, conceitualmente e na prática, a outras técnicas descritas na sessão anterior, como a ASE e Sub-SFE, ela possui características próprias e escopo de aplicações diferenciado.

Instrumentação

A instrumentação básica empregada em SFE é simples (Figura 3). Consiste em um sistema de pressurização para elevar a pressão do fluido a valores acima do crítico; um forno capaz de atingir e manter a temperatura desejada na cela de extração; um sistema de restrição para garantir a pressão desejada e controle da vazão do fluido de extração; um sistema para coletar o extrato. Dependendo do intuito do experimento, vários acessórios podem ser adicionados, tais como um amostrador automático, coletor de frações, computador com software apropriado para controlar e monitorar o processo de extração, dentre outros. Nossa experiência com SFE remonta a meados da década de 80 (quase 20 anos), quando a técnica estava iniciando seu desenvolvimento internacional como uma nova ferramenta analítica. Naquela oportunidade, a escolha internacional era o uso de gases pressurizados até o estado supercrítico, destacando-se o uso de dióxido de carbono, alcanos leves, gases nobres e olefinas. Grande parte destes fluidos (como o dióxido de carbono, o solvente mais empregado em SFE) exigem valores de pressão relativamente elevados para se atingir o estado supercrítico, o que demandava bombas de pressurização não disponíveis em nosso laboratório, na época. Nossa opção então, com base em trabalhos anteriores envolvendo o desenvolvimento de projetos de equipamentos para processos de obtenção de combustíveis alternativos a partir de processos de pirólise e liquefação, a temperaturas elevadas, foi o uso de fluidos os quais eram líquidos em condições normais. Assim, poderíamos trabalhar em pressões mais baixas (e temperaturas mais elevadas) dispensando o uso de bombas especiais de pressurização. A pressurização do fluido (por exemplo pentano-C5) neste caso, era realizada com auxílio de um gás como nitrogênio com um regulador especial de pressão instalado no cilindro de forma a permitir atingir-se as pressões desejadas (Figura 4). Este sistema, apesar de simples e integralmente projetado e construído em nosso laboratório, serviu para várias teses e publicações (9-20), contribuiu para o posterior desenvolvimento da extração acelerada com solventes (ASE) e extração pressurizada com solventes (PSE), as quais empregam solventes em elevadas pressões em sistemas similares àqueles por nós construídos na época. Uma ampliação natural do sistema (Figura 5) permitiu o uso de mais um fluido a ser misturado

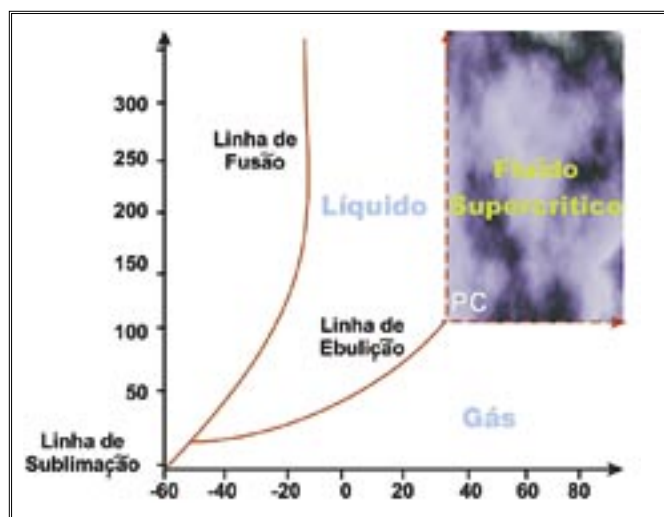


Figura 1. Diagrama de fases de uma substância pura evidenciando o estado supercrítico.

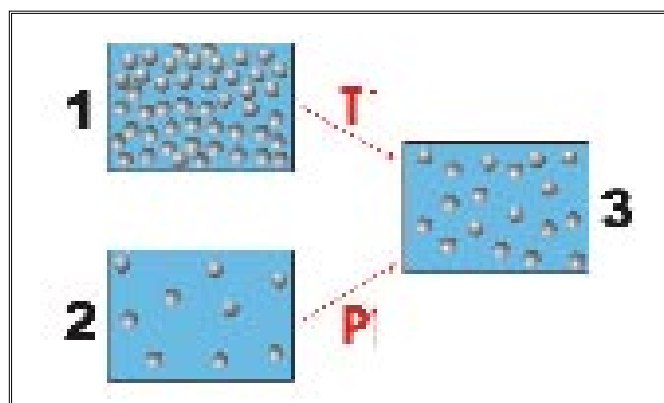


Figura 2. Diagrama de blocos ilustrando o estado físico de solventes empregados em técnicas de extração, evidenciando o estado supercrítico T= temperatura; P= pressão; 1= estado líquido; 2= estado gasoso; 3= estado supercrítico.

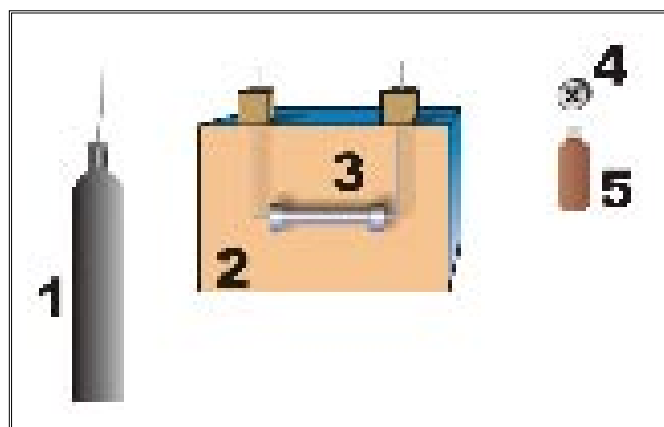


Figura 3. Esquema das principais partes de um sistema para extração com fluido supercrítico. 1= sistema controlador de pressão; 2= sistema controlador de temperatura; 3= cela de extração; 4= restritor; 5= frasco coletor.

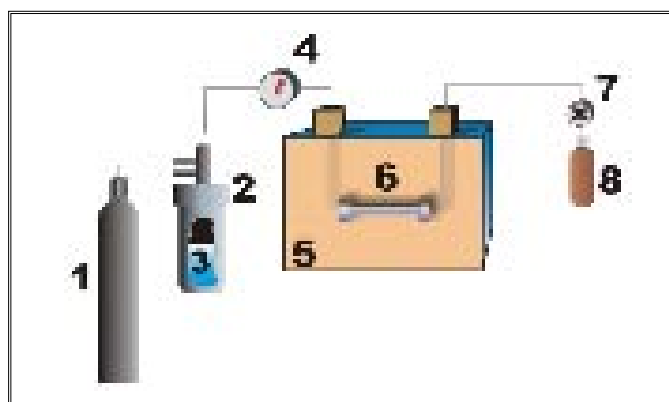


Figura 4. Esquema de um equipamento simples, desenvolvido para SFE pelo Laboratório de Cromatografia (CROMA) do IQSC/USP na década de 80. 1= gás de pressurização (N₂); 2= vaso pressurizador; 3= solvente (CS); 4= manômetro; 5= forno; 6= cela de extração; 7= restritor; 8= frasco coletor.

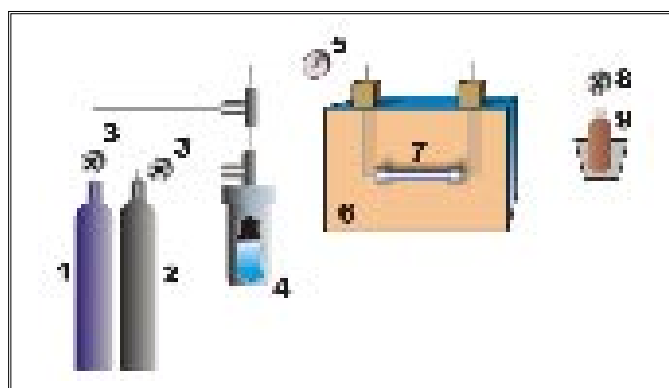


Figura 5. Esquema de um equipamento para SFE desenvolvido pelo CROMA que admite o uso de solventes líquidos, gasosos, ou mistura de ambos. 1= CO₂; 2= N₂; 3= vaso de pressurização; 4= manômetro; 5= forno; 6= cela de extração; 7= vaso coletor; 8= válvulas para controle da pressão dos gases.

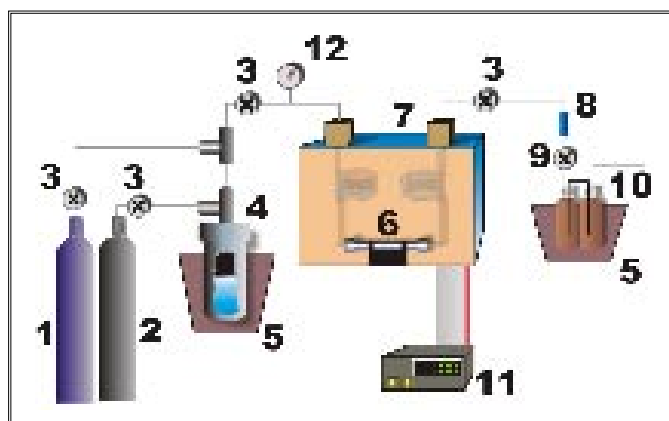


Figura 6. Sistema SFE para trabalhos em escala analítica e semi-preparativa, desenvolvido pelo CROMA. 1= vaso pressurizador; 2= criogenia; 3= CO₂; 4= N₂; 5= válvulas; 6= manômetro; 7= cela de extração; 8= forno; 9= controlador de temperatura; 10= filtro; 11= restritor; 12= vasos coletores.

com o principal solvente, de forma a modificar suas propriedades (principalmente a polaridade) de maneira a permitir a extração de analitos mais polares. A estratégia comum neste caso envolve o uso de CO₂ como solvente principal e a adição de um solvente líquido em condições normais, sendo o metanol o mais empregado. O desenvolvimento de um sistema novo no início da década de 90 para uso em escala semipreparativa, trouxe grande flexibilidade à técnica, permitindo o uso de celas de extração de diferentes volumes (Figura 6). A introdução de válvulas, antes e depois do forno contendo a cela de extração, ampliou as possibilidades de se introduzir planejamentos mais sofisticados para a extração, incluindo a extração estática na qual a cela de extração é lacrada, após a introdução da amostra cheia com o solvente extrator, e a extração procede somente com o solvente já existente na cela. Outra maneira de proceder-se à extração é com um fluxo contínuo de solvente passando sobre a cela contendo a amostra. O novo sistema projetado possibilita também o uso de modos combinados de extração, tais como a extração por um certo tempo no modo estático, seguida de outro tempo no modo dinâmico e melhorando, assim, o rendimento do processo. Com a evolução da técnica, tornou-se interessante explorar a extração de compostos mais polares empregando-se CO₂ puro, o que exige o uso de pressões maiores e o auxílio de uma bomba de pressurização. O sistema foi então modificado de forma a usar-se uma bomba antiga de cromatografia líquida para pressurizar o CO₂, e um forno antigo de cromatografia gasosa de forma a permitir melhor controle da temperatura de extração (Figura 7). Além destas vantagens, o sistema, tendo maior nível de automação, permitiu o acoplamento on line com um sistema de eletroforese capilar (SFE-CE), acoplamento pioneiro em todo o mundo (21). Este sistema (Figura 8) permite a extração, clean up, concentração e análise das substâncias de interesse, em uma única etapa e de forma automatizada – sem a interferência do analista, eliminando problemas decorrentes de perdas devido à manipulação de amostras nas várias etapas de um método analítico. Dentre outros equipamentos desenvolvidos com sucesso em nosso laboratório está o acoplamento on line entre extração com fluido supercrítico, extração em fase sólida e cromatografia gasosa. (SFE-SPE-HRGC). Este sistema, cujo esquema está mostrado na Figura 9, permite a extração com fluido supercrítico de amostras complexas como produtos naturais, alimentos (sucos de frutas), águas para consumo humano (subterrâneas, superficiais e após tratamento) e outros, seguida do clean-up on line executado pela extração em fase sólida (SPE). O extrato já limpo é, então, remetido ao cromatógrafo a gás através de uma interface apropriada desenvolvida em nosso laboratório e analisado. (22).

A partir destas experiências desenvolvidas no CROMA,

vários outros equipamentos foram projetados, construídos e utilizados servindo para o treinamento de inúmeros pesquisadores brasileiros, de outros países da América do Sul (especialmente Argentina, Peru, Bolívia, Chile e Venezuela) e Europa (principalmente Holanda e Itália), e o estabelecimento de programas de intercâmbio com vários pesquisadores brasileiros e estrangeiros em diferentes áreas da Ciência e Tecnologia.

Vantagens da SFE sobre métodos convencionais de extração

A SFE possui vantagens e limitações quando comparada a técnicas de extração denominadas hoje de clássica, tais como a extração líquido-líquido, maceração e extração em equipamento Soxhlet (23-25). Uma das principais vantagens é decorrente do uso do dióxido de carbono como agente extrator, substância esta, que possui propriedades bastante superiores a maioria dos solventes orgânicos. Dentre estas propriedades, está o fato de ser praticamente atóxico nas condições de uso, não é inflamável, é fácil de ser obtido e purificado, possui custo inferior aos solventes orgânicos, de fácil reciclo após o uso e depressurização, e atinge o estado supercrítico em condições relativamente amenas (31°C e 73 atm). Sendo um gás nas condições normais, é fácil de ser eliminado ou reaproveitado ao concluir-se a extração, fazendo com que o extrato já esteja pronto para a análise. Este fato é de grande relevância analítica por permitir a concentração do analito durante a etapa de extração, evitando posteriores manipulações com a amostra para eliminar parte (ou no todo) do solvente de forma a obter-se concentrações analíticas adequadas. Outra grande vantagem da SFE é que permite análises rápidas mesmo em amostras complexas como alimentos e fumo, conforme trabalhos pioneiros comparativos desenvolvidos em nosso laboratório (26). De forma análoga, comprovamos que o uso de fluidos no estado supercrítico permite uma melhor extração de resíduos de pesticidas presentes em amostras complexas como alimentos, com maior rendimento. Isto deve-se principalmente ao fato de que o CO₂ no estado supercrítico possui propriedades de difusão similares aos gases (permitindo melhor penetração na matriz) e poder de solvatação similar aos líquidos (permitindo melhor solubilização do analito de interesse). Se corretamente planejada, a extração com fluidos supercríticos permite o isolamento seletivo de classes de compostos (por exemplo, pesticidas organoclorados) dos compostos da matriz (exemplo ácidos húmicos em sedimentos), evitando a necessidade de etapas adicionais de purificação dos extratos (27). Todas estas características são aliadas ao fato de ser uma técnica de grande simplicidade, envolvendo poucas etapas e com um rendimento superior às técnicas clássicas em tempo inferior de extração (27).

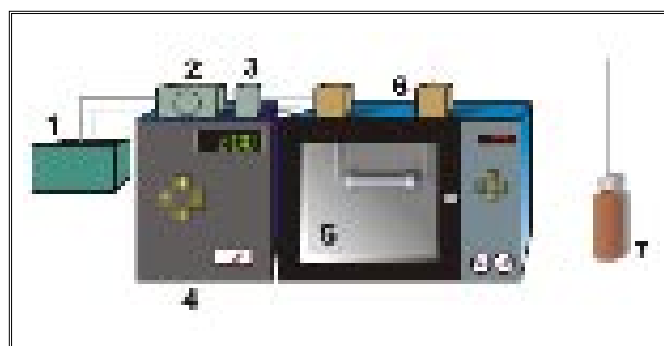


Figura 7. Sistema desenvolvido pelo CROMA para SFE a altas pressões.

1= líquido refrigerante; 2= bomba para refrigeração; 3= cabeça da bomba; 4= bomba seringa para alta pressão; 5= sistema de aquecimento; 6= cela de extração; 7= frasco coletor.

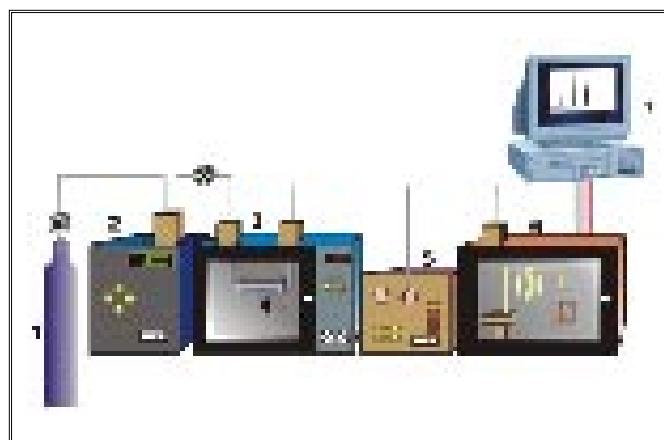


Figura 8. Acoplamento on line entre SFE e eletroforese capilar (SFE-CE) desenvolvido pelo CROMA.

1= CO₂; 2= bomba; 3= forno; 4= cela de extração; 5= interface; 6= eletroforese capilar; 7= eletroferograma.

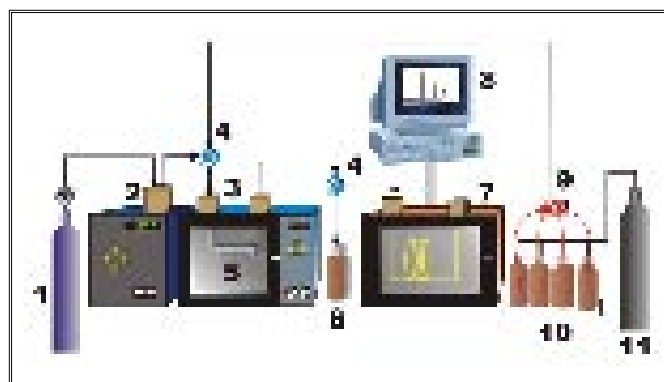


Figura 9. Acoplamento on line entre extração em fase sólida, extração com fluido supercrítico e cromatografia gasosa capilar (SFE-SPE-HRGC).

1= CO₂; 2= bomba de alta pressão; cromatógrafo a gás; 4= válvula de 3 vias; 5= forno; 6= cela de extração; 7= descarte; 8= válvula de 10 vias; 9,10= solventes de condicionamento; 11= solvente de lavagem; 12= amostra; 13= N₂.

Limitações da SFE

Uma das principais limitações do uso da SFE, particularmente no Brasil, é o elevado custo dos equipamentos disponíveis comercialmente quando comparados a sistemas do tipo Sohlet e extração líquido-líquido. A solução que encontramos para contornar este problema foi o desenvolvimento de nossos próprios equipamentos a partir das necessidades analíticas apresentadas. Inicialmente, projetando apenas equipamentos bastante simples, a evolução dos mesmos conduziu a instrumentos mais automatizados e melhor controlados, passíveis de acoplamento com outros equipamentos de análise (28). Outra dificuldade comumente encontrada em SFE envolve a extração de analitos de polaridade intermediária e elevada. Empregando-se CO₂ puro, solvente de longe o mais empregado nesta técnica, torna-se difícil a extração de compostos polares, mesmo em matrizes menos complexas. Em alguns casos mais simples, uma alteração pronunciada na densidade do CO₂, através de aumento considerável da pressão, poderá conduzir a resultados satisfatórios. Entretanto, na maioria dos casos a extração ocorrerá com rendimento bastante aquém do satisfatório. Uma maneira de melhorar este quadro é a adição de solventes, usualmente líquidos em condições normais, os quais irão agir como modificadores das características do CO₂, principalmente a polaridade. Entretanto, este enfoque faz com que os atrativos do uso do CO₂ sejam perdidos com a adição de solventes como metanol, acetona, THF e outros. Em muitos casos, o uso de fluidos polares (usualmente solventes líquidos em condições normais) é preferível (29,30).

Conclusões

A Extração com Fluido Supercrítico (SFE) é hoje uma técnica madura de extração cujas principais vantagens e limitações são bem conhecidas. Passada a euforia inicial, ocasionada durante o início do desenvolvimento da técnica, supervalorizada pelos fabricantes de equipamentos, a técnica encontrou seu nicho próprio de aplicações. Entre as principais áreas nas quais a SFE continua em desenvolvimento, encontram-se a farmacêutica, de alimentos, ambiental e polímeros. Por outro lado, a expectativa inicial que a técnica viria a ser a panacéia para todos os problemas analíticos não se confirmou. Um dos fatores é a competição que a mesma vem sofrendo de outras técnicas, tais como a extração acelerada com solventes (ASE) e extração com água no estado subcrítico (SWE), na análise de amostras sólidas e semi-sólidas, e da microextração em fase sólida (SPME) na análise de amostras líquidas, técnicas estas consolidadas na última década como excelentes alternativas à SFE em muitas aplicações. Assim, aconselhamos os interessados em iniciar estudos na área, particularmente envolvendo a aquisição de equipamentos caros, que avaliem bem as vantagens e limitações de cada técnica face a suas necessidades e aplicações.

Referências Bibliográficas

1. Lanças FM. (2001). *Supercritical Fluids*, (Chapter of the Book "Multidimensional Chromatography"). In Mondelli, L. and Bartle, K. (Eds.), **J. Wiley & Sons (USA)**.
2. Lanças FM, Galhiane MS, Rissato SR. *Supercritical Fluid Extraction of Flumetralin from Tobacco Samples*. (2000). *Supercritical Fluid Methods and Protocols*; J. Willians and P. Clifford (Ed.) **Humana Press**, London Vol.13, 75-81.
3. Lanças FM, Tavares MCH (2000). *An overview of SFC*. **Dekker Encyclopedia of Chromatography**, J. Cazes (Ed.), Marcel Dekker, NY.
4. Pinto JSS, Assis LM, Lanças F. (2002). *Off-line ASE-HRGC. Extraction and characterization of coal-derived Products*, **J. Sep. Sci.**, in press.
5. Pinto JSS. (2002) Tese de Doutorado defendida em outubro de 2002 no Instituto de Química de São Carlos - USP, sob orientação do Prof. Dr. Fernando M. Lanças.
6. Assis LM, Pinto PJS, Lanças FM. (2000). *Comparison Among Different Extraction Methods (PSE, SFE, Sonication, Soxhlet) for the Isolation of Organic Compounds from Coal*. **J. of Microcolumn Separation**. Vol. 12 (5) 292-301.
7. Pinto JS, Lanças FM. (2002). Instrumentação para ASE, a ser submetido à Quim.Nova.
8. Pinto JS, Lanças FM. (2002) *Pressurized Solvent Extraction of Triglycerides*. **J.Sep. Sci.**, em preparação.
9. Lanças FM, Galhiane MS, Barbirato MA. (1994). *Supercritical fluid extraction of oxadixyl from food crops*. **Chromatographia**, 39, 11-14 .
10. Lanças FM, Queiroz MEC, Silva ICE. (1994). *Seed oil extraction with supercritical carbon dioxide modified with pentane*. **Chromatographia**, 39, 687-692.
11. Lanças FM, Barbirato MA, Galhiane MS. (1995). *Extraction of orflurazon residues in cotton seeds with supercritical CO₂*. **Chromatographia**, 40, 432-434.
12. Lanças FM, Barbirato MA, Galhiane MS. (1996). *Simultaneous extraction of norflurazon and oxadixyl residues from food crops with supercritical dioxide*. **Chromatographia**, 42, 147-150.
13. Lanças FM, Barbirato MA., Galhiane MS. (1996). *Extraction of atabron residues from cabbage with supercritical carbon dioxide*. **Chromatographia**, 42, 213-216.
14. Lanças FM, Rissato SR, Galhiane MS. (1996). *Off-line SFE-CZE analysis of carbamates residues in tobacco samples*. **Chromatographia**, 42, 323-328.
15. Lanças FM, Rissato SR, Galhiane MS. (1996). *Analysis of Carbaryl and carbofuran in tobacco samples by HRGC, HPLC and CZE*. **J. High Resol. Chromatogr.**, 19, 200-206.
16. Lanças FM, Barbirato MA, Galhiane MS, Rissato SR. (1996). *Supercritical fluid extraction of chlorothalonil residues from apples*. **Chromatographia**, 42, 547-550.

17. Lanças FM, Sargenti SR. (1997). Supercritical fluid extraction of *Peumus boldus* (Molina). HRC. 511-515 – Vol.20.
18. Lanças FM, Rissato SR, Mozeto AA. (1996). Off-line SFE-CGC-ECD analysis of 2,4-d and dicamba residues in real sugar cane, rice and corn samples. *J. High Resol. Chromatogr.*, Vol.19, 564-568.
19. Lanças FM, Galhiane MS, Rissato SR, Barbirato MA. (1997). *Effect of temperature, collection mode and modifier on the supercritical CO₂ extraction of dicofol residues from fish samples.* *J. High Resol. Chromatogr.*, Vol.20., 369-374.
20. Sargenti SR, Lanças FM. (1998). *Influence of extraction mode and temperature in the supercritical fluid extraction of Citrus sinensis (Osbeck).* *J. Chromatogr. Sci.*, Vol.36 169-174.
21. Lanças FM, Ruggiero MA (2000). *On Line Coupling of Supercritical Fluid Extraction to Capillary Column Electrodriven Separation Techniques.* *J. of Microcolumn Separations* Vol.12 (2) 61-67.
22. Sargenti SR, Lanças FM. (1998). *Influence of extraction mode and temperature in the supercritical fluid extraction of Tangor murcote (Blanco) x Citrus sinensis (Osbeck).* *J. Microcolumn Separations.* Vol. 10, n 2, p. 213-223.
23. Assis LM, Lanças FM. (1999). *HRGC and HRGC/MS Study of the Volatile Fraction Obtained from High-Inertite Brazilian Coal by Supercritical Fluid Extraction.* *J. of Microcolumn Separations* –11 (7) 501-512.
24. Lanças FM, Sargenti SR. (1997). *Supercritical fluid extraction Cymbopogon citratus (DC.)* *Stapf. Chromatographia* – 285 –290 – Vol.46, No5/6.
25. Sargenti SR, Lanças FM. (1994). *Design and construction of a simple supercritical fluid extraction (SFE) system with preparative and semi-preparative capabilities for application to natural products.* *J. Chromatogr. A*, 667, 213-218
26. Lanças FM, Rissato SR, Galhiane MS. (1996). *Supercritical fluid extraction of flumetralin in tobacco.* *Chromatographia*, 42 (7/8), 416-420.
27. Lanças FM, Barbirato MA, Galhiane MS, Rissato SR. (1997). *Extraction of Fluazinan Residue from Fruits by CO₂ in the Supercritical State.* *J. High Resol. Chromatogr.* 20, 569-571.
28. Lanças FM, Dórea HS, Muller RA, Facundes CB. (1997) *Novas Aplicações de sistemas SFE "Home-Made". IV. Qualidade de alimentos.* *Bol. Soc. Bras. Cienc. Tecnol. Alim.*, 17, 432-436
29. Lanças FM, Martinis MS, *An Alternative Supercritical Extraction System for Aqueous Matrices and its Application in Pesticide Residues Analysis.* *J. Environ. Sci. Health*, B35, 539-547.
30. Lanças FM, Pereira DM. (1999). *Supercritical fluid extraction of Brazilian coal with alcohols.* *Energy Sources*, Vol (21) 355-365.