



PHILIPPE DOS SANTOS

**EXTRAÇÃO DE CAPSAICINOIDES DA PIMENTA MALAGUETA
(*Capsicum frutescens* L.) USANDO CO₂ SUPERCRÍTICO E
ULTRASSOM**

CAMPINAS

2013



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS**

PHILIFE DOS SANTOS

**“EXTRAÇÃO DE CAPSAICINÓIDES DA PIMENTA MALAGUETA
(*Capsicum frutescens* L.) USANDO CO₂ SUPERCRÍTICO E
ULTRASSOM”**

Orientador: Prof. Dr. Julian Martínez

Coorientadora: Prof^a. Dr^a. Camila Alves de Rezende

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós Graduação em Engenharia de Alimentos da Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas para obtenção do título de Mestre em Engenharia de Alimentos.

ESTE EXEMPLAR CORRESPONDE À VERSÃO FINAL DA DISSERTAÇÃO DEFENDIDA PELO ALUNO PHILIFE DOS SANTOS E ORIENTADO PELO PROF. DR. JULIAN MARÍNEZ

Assinatura do Orientador

CAMPINAS

2013

Ficha catalográfica
Universidade Estadual de Campinas
Biblioteca da Faculdade de Engenharia de Alimentos
Márcia Regina Garbelini Sevillano - CRB 8/3647

Santos, Philipe dos, 1987-
Sa59e Extração de capsaicinoides da pimenta malagueta (*Capsicum frutescens* L.)
usando CO₂ supercrítico e ultrassom / Philipe dos Santos. – Campinas, SP :
[s.n.], 2013.

Orientador: Julian Martínez.
Coorientador: Camila Alves de Rezende.
Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de
Engenharia de Alimentos.

1. Pimenta malagueta. 2. Extração supercrítica. 3. Capsaicinoides. 4.
Microscopia. 5. Modelagem. I. Martínez, Julian. II. Rezende, Camila Alves de. III.
Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia de Alimentos. IV.
Título.

Informações para Biblioteca Digital

Título em inglês: Extraction of capsaicinoids from malagueta pepper (*Capsicum frutescens* L.)
using supercritical CO₂ and ultrasound.

Palavras-chave em inglês:

Malagueta pepper

Supercritical extraction

Microscopy

Capsaicinoids

Mathematical modeling

Área de concentração: Engenharia de Alimentos

Titulação: Mestre em Engenharia de Alimentos

Banca examinadora:

Julian Martínez [Orientador]

Carolina Lima Cavalcanti de Albuquerque

Gerardo Fernández Barbero

Data de defesa: 30-08-2013

Programa de Pós-Graduação: Engenharia de Alimentos

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Julian Martínez

Orientador

Faculdade de Engenharia de Alimentos – UNICAMP/SP

Profª. Drª. Carolina Lima Cavalcanti de Albuquerque

Membro Titular

Universidade Federal da Paraíba-UFF/PB

Prof. Dr. Gerardo Fernández Barbero

Membro Titular

Universidade de Cádiz-UCA/Espanha

Prof. Dr. Eduardo Augusto Caldas Batista

Membro Suplente

Faculdade de Engenharia de Alimentos – UNICAMP/SP

Dr. Maurício Ariel Rostagno

Membro Suplente

POS-DOC Faculdade de Engenharia de Alimentos – UNICAMP/SP

Dedico esse trabalho a todas as pessoas que acreditaram na minha capacidade e me incentivaram durante o desenvolvimento do mesmo. Em especial à minha família, meu pai, minha mãe, meu irmão e a minha eterna amiga e noiva.

AGRADECIMENTOS

Ao professor Dr. Julian Martínez pela atenção, incentivo e todas as ideias e correções do trabalho. Muito obrigado.

À professora Dr^a Camila Alves de Rezende pela paciência, ideias e o apoio no desenvolvimento do trabalho, especificamente nos experimentos de microscopia. Muito obrigado.

Ao professor Dr. Gerardo Barbero pelo apoio com os experimentos de cromatografia. Muito obrigado.

Ao Laboratório Nacional de Nanotecnologia (LNNano), vinculado ao Centro Nacional de Pesquisa em Energia e Materiais (CNPEM), pelo apoio nos experimentos de microscopia eletrônica de varredura, que foram realizados no microscópio FESEM Quanta 650F (FEI). Em especial, agradeço ao técnico Fabiano pelo auxílio experimental.

À Ana Carolina de Aguiar pela amizade, auxílio e apoio durante a realização dos experimentos.

Ao Dr. Maurício A. Rostagno pela ajuda na montagem do sistema de extração assistido por ultrassom.

Ao Ari pela amizade, atenção e ajuda com os equipamentos de extração supercrítica.

À FAEPEX e FAPESP pelo financiamento do trabalho.

À minha família por todo amor e incentivo durante curso.

À minha noiva Renata Grotto por toda a compreensão e incentivo.

Aos colegas e amigos do Departamento de Engenharia de Alimentos, em especial Giovanni, Moyses, Mariano, Emilio e Guilherme.

“Todos começamos com o “realismo ingênuo”, isto é, a doutrina de que as coisas são aquilo que parecem ser. Achamos que a grama é verde, que as pedras são duras e que a neve é fria. Mas a física nos assegura que o verdejar da grama, a dureza das pedras e a frieza da neve não são o verdejar da grama, a dureza das pedras e a frieza da neve que conhecemos em nossa experiência própria, e sim algo muito diferente.”

O filósofo e matemático britânico Bertrand Russell *apud* MLODINOW, L. O Andar do Bêbado: como o acaso determina nossas vidas; [tradução Alvaro D.; consultoria Jurkiewicz, S.] – Rio de Janeiro: Zahar, 2009.

EXTRAÇÃO DE CAPSAICINOIDES DA PIMENTA MALAGUETA (*Capsicum frutescens* L.) USANDO CO₂ SUPERCRÍTICO E ULTRASSOM

Autor: Philipe dos Santos; Orientador: Julian Martínez; Coorientadora: Camila Alves de Rezende.

RESUMO

A tecnologia de extração com fluido supercrítico surgiu como uma alternativa frente aos métodos tradicionais de extração e fracionamento de compostos ativos. Geralmente, uma unidade de extração com fluido supercrítico tem sua capacidade extrativa alterada com a utilização de técnicas em conjunto, como por exemplo, o emprego de diferentes cossolventes e a utilização de ondas ultrassônicas. A técnica de ultrassom baseia-se na formação de ondas ultrassônicas de alta frequência, capazes de provocar cavitação e causar ruptura na parede celular da matriz vegetal. Isto favorece a penetração do solvente e a transferência de massa e, conseqüentemente, o aumento do rendimento de extrato. O objetivo do presente trabalho foi obter extratos de pimenta malagueta através da utilização do processo de extração com fluido supercrítico (SFE) assistido por ultrassom. A matéria-prima utilizada foi a pimenta malagueta desidratada (5% em b.u.) e triturada. Para estudar a influencia das ondas ultrassônicas na taxa de extração, foram realizadas extrações com e sem ultrassom, nas potências e tempos de radiação variando de 150 a 360 W e 60 a 280 minutos, respectivamente. As condições de temperatura e pressão do dióxido de carbono supercrítico foram 40 ± 3 °C e $15 \pm 0,5$ MPa, respectivamente. A vazão mássica de CO₂ foi fixada em $0,5 \pm 0,1$ kg/h. As cinéticas de extração foram realizadas na melhor condição de ultrassom em diferentes diâmetros de partícula. Os resultados obtidos indicaram um aumento de 77% no rendimento de extrato quando aplicadas ondas ultrassônicas. Não foi verificada influência significativa da aplicação de ondas ultrassônicas sobre o perfil de capsaicínoides e fenólicos totais. A melhor condição de extração assistida por ultrassom foi a 360 W de potência durante 60 minutos. Verificou-se uma influência do ultrassom sobre a

taxa de extração, bem como nos coeficientes de transferência de massa na fase fluída e na fase sólida. O modelo de Sovová (1994) mostrou-se adequado para prever as cinéticas de extração, porém os valores de rendimento global (X_0), obtidos em experimentos assistidos por ultrassom, devem ser utilizados. As imagens obtidas por microscopia eletrônica de varredura com fonte de emissão de campo (FESEM) demonstraram uma perturbação na matriz vegetal quando se aplicou ondas ultrassônicas.

Palavras-chave: pimenta malagueta; extração supercrítica; capsaicinoides; microscopia, modelagem.

EXTRACTION OF CAPSAICINOIDS FROM MALAGUETA PEPPER (*Capsicum frutescens* L.) USING SUPERCRITICAL CO₂ AND ULTRASOUND

Author: Philipe dos Santos; Adviser: Julian Martínez; Co-adviser: Camila Alves de Rezende.

ABSTRACT

The supercritical fluid extraction technology came as an alternative to traditional methods of extraction and fractionation of active compounds. The capacity of a supercritical fluid extraction unit is changed with the application of combined techniques, for example, using different co-solvents and ultrasonic waves. The ultrasonic technology is based on high frequency ultrasonic waves formation capable of causing cavitations and disrupting the cell walls of vegetable matrix, favoring the penetration of solvent and enhancing mass transfer, thus increasing the extraction yield. The objective of this study was to obtain extracts of malagueta pepper (*Capsicum frutescens* L.) using supercritical fluid extraction (SFE) assisted by ultrasound. The raw material used was dried (5% w. b.) and triturated malagueta pepper. To study the influence of ultrasonic waves in the extraction rate, SFE experiments were performed with and without ultrasound, with powers and irradiations times from 150 to 360 W, and from 60 to 280 minutes, respectively. The conditions of temperature and pressure of supercritical carbon dioxide were $40 \pm 3^\circ\text{C}$ and 15 ± 0.5 MPa, respectively. The CO₂ mass flow rate was fixed at 0.5 ± 0.1 kg/h. The extraction kinetics was performed in the best conditions of ultrasonic power ultrasonic in different particle diameters. The results indicated that the yield of oleoresin increased 77% when ultrasound waves were applied. The influence of the application of ultrasonic waves was not significant in the capsaicinoids and phenolics profiles. The best ultrasound-assisted extraction conditions were at 360 W (power) for 60 minutes (irradiation). The effect of ultrasound was verified on extraction rate and the solid and fluid phase mass transfer coefficient. The Sovová (1994) model was adequate to predict the extraction kinetics, but overall extraction yield values obtained in

experiments assisted by ultrasound must be used. The images obtained by field emission scanning electron microscopy (FESEM) showed a disturbance in the vegetable matrix when ultrasound waves were applied.

Key-words: malagueta pepper; supercritical extraction; capsaicinoids; microscopy; mathematical modeling.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Pimenta malagueta (<i>Capsicum frutescens</i> L) e a estrutura do fruto.	4
Figura 2 – Estrutura base dos capsaicinoides.	6
Figura 3 – Diagrama de fases para uma substância pura. Fonte: adaptado de Brunner (2005).....	9
Figura 4 – Representação do processo de extração com fluido supercrítico. Fonte: adaptado de (ROSA <i>et al.</i> , 2008).	11
Figura 5 – Curva de extração do processo supercrítico: etapa de taxa de extração constante (CER); etapa de taxa de extração decrescente (FER) e período difusional (DC).	12
Figura 6 – Fenômeno de compressão e rarefação durante a transmissão de uma onda sonora. Adaptado de: McClements (1995).	16
Figura 7 – Intervalos de frequência das ondas sonoras. Fonte: Adaptado de: Povey e Mason (1998).....	17
Figura 8 - Representação esquemática dos efeitos do processo de ultrassom sobre a matriz vegetal. Fonte: adaptado de Esclapez <i>et al.</i> , (2011) e Castro e Capote (2007).	19
Figura 9 – Configurações típicas de extratores: (a) transdutor acoplado a um vaso; transdutor (sonda) imerso no meio solvente/matriz vegetal, (b) em batelada e em modo contínuo (considerando o fluido/solvente) (c). Fonte: adaptado de Esclapez <i>et al.</i> , (ESCLAPEZ <i>et al.</i> , 2011).....	21
Figura 10- Diagrama com as atividades do projeto.....	25
Figura 11 – Etapas de pré-processamento da matéria-prima até a obtenção da matriz vegetal utilizada nos ensaios de extração.	27
Figura 12 - Diagrama esquemático da unidade de extração supercrítica com dióxido de carbono assistida por ultrassom; V-1, V-2, V-3, V-4 e V-5 – Válvulas de bloqueio; V-6 – Válvula micrométrica; C- Compressor; F-Filtro de ar comprimido; BR – Banho de refrigeração; B- Bomba (<i>Booster</i>); BA – Banho de aquecimento; I-1 e I-2 – Indicadores de pressão e temperatura, respectivamente;	

IC-1, IC-2 e IC-3 – Controladores de potência ultrassônica, temperatura da célula de extração e da temperatura da válvula micrométrica, respectivamente; CE – Célula de extração (300 mL); S – Sonda ultrassônica.....	30
Figura 13 – Unidade de extração com dióxido de carbono supercrítico assistido por ultrassom.....	31
Figura 14 – Aparato experimental utilizado nos experimentos de extração a baixa pressão (Soxhlet).	35
Figura 15 – Configuração do leito de extração utilizado nos ensaios cinéticos de SFE assistida por ultrassom.....	37
Figura 16 - Distribuição granulométrica da matriz vegetal: pimenta variedade malagueta submetida ao processo de secagem em estufa e moagem em moinho de facas, com o respectivo desvio-padrão.	42
Figura 17 – Cinética de extração supercrítica de pimenta malagueta a 15 MPa, 40 °C e uma vazão de solvente de $1,673 \times 10^{-4}$ kg/s.	43
Figura 18 - Efeito da potência de ultrassom em função do tempo de radiação para o rendimento global de oleorresina de pimenta malagueta.	47
Figura 19 - Efeito do tempo de radiação de extração em função das potências de ultrassom para o rendimento global de oleorresina de pimenta malagueta.....	47
Figura 20 - Cinética de extração supercrítica de pimenta malagueta a 15 MPa, 40 °C e uma vazão de solvente de $1,673 \times 10^{-4}$ kg/s, sem e com ultrassom (360 W por 60 minutos) para o diâmetro médio de partícula ($0,94 \pm 0,03$ mm).	49
Figura 21 - Cinética de extração supercrítica de capsaicinoides totais (Total), capsaicina (C), dihidrocapsaicina (DHC), nordihidrocapsaicina (n-DHC) e homohidrocapsaicina (h – DHC) de pimenta malagueta a 15 MPa, 40 °C e uma vazão de solvente de $1,673 \times 10^{-4}$ kg/s, sem ultrassom para o diâmetro médio de partícula.	54
Figura 22 - Cinética de extração supercrítica de capsaicinoides totais (Total), capsaicina (C), dihidrocapsaicina (DHC), nordihidrocapsaicina (n-DHC) e homohidrocapsaicina (h – DHC) de pimenta malagueta a 15 MPa, 40 °C e uma	

	vazão de solvente de $1,673 \times 10^{-4}$ kg/s, com ultrassom (360 W a 60 minutos) para o diâmetro médio de partícula.	54
Figura 23	- Efeito da potência de ultrassom em função do tempo de radiação para a concentração de compostos fenólicos totais em oleoresina de pimenta malagueta obtida por SFE+US.	57
Figura 24	- Efeito do tempo de radiação do ultrassom em função da potência para a concentração de compostos fenólicos totais em oleoresina de pimenta malagueta obtida por SFE+US.	58
Figura 25	- Extrato de pimenta variedade malagueta obtido com dióxido de carbono supercrítico a 15 MPa, 40 °C e uma vazão de solvente de $1,673 \times 10^{-4}$ kg/s, com ultrassom (360 W a 60 minutos) para o diâmetro médio de partícula.	60
Figura 26	- Estrutura de um fruto de pimenta malagueta (<i>Capsicum frutesces</i> L.) evidenciando o pericarpo e as perturbações causadas pelos processos de moagem e extração supercrítica assistida por ultrassom.	62
Figura 27	- Imagens de microscopia eletrônica de varredura (FESEM) para as amostras de pericarpo de pimenta malagueta com diâmetro de partícula médio com aumento de 1.000 vezes. (A) Matéria-prima dos experimentos de extração; (B) Amostra extraída com SFE; (C) Amostra extraída com SFE+US. Barra de escala de 100 μm	63
Figura 28	- Imagens de microscopia eletrônica de varredura (FESEM) para as amostras de pericarpo de pimenta malagueta com diâmetro de partícula médio com aumento de 10.000 vezes. (A) Matéria-prima dos experimentos de extração; (B) Amostra extraída com SFE; (C) Amostra extraída com SFE+US. Barra de escala de 10 μm	64
Figura 29	- Curvas experimentais (•) e preditas (-) pelo modelo de Sovová (1994) para o diâmetro de partícula entre 1,18 e 1,68 mm, com e sem ultrassom.	66
Figura 30	- Curvas experimentais (•) e preditas (-) pelo modelo de Sovová (1994) para o maior diâmetro de partícula entre 0,177 e 0,342 mm, com e sem ultrassom. ...	67

Figura 31 – Valores experimentais (•) e valores preditos (-) de rendimento global pelo modelo de Sovová (1994) para a extração supercrítica assistida por ultrassom para o maior diâmetro de partícula.	68
Figura 32 - Valores experimentais (•) e valores preditos (-) de rendimento global pelo modelo de Sovová (1994) para a extração supercrítica assistida por ultrassom para o menor diâmetro de partícula.	68
Figura 33 - Valores experimentais (•) e preditos (-) pelo modelo de Sovová (1994) para o diâmetro de partícula entre 1,18 e 1,68 mm, com e sem ultrassom.....	69
Figura 34 - Valores experimentais (•) e preditos (-) pelo modelo de Sovová (1994) para o diâmetro de partícula entre 0,177 e 0,342 mm, com e sem ultrassom.....	70
Figura 35 – Imagens de microscopia eletrônica de varredura (FESEM) para as amostras de pericarpo de pimenta malagueta com partículas de maior diâmetro (1.18 a 1.68 mm): (A) Matriz vegetal antes da extração; (B) Matriz vegetal extraída com SFE e (C) Matriz vegetal extraída com SFE+US. Barra de escala de 100 µm. 73	73
Figura 36 - Imagens de microscopia eletrônica de varredura (FESEM) para as amostras de pericarpo de pimenta malagueta com partículas de menor diâmetro (0.177 a 0.342 mm): (A) Matriz vegetal antes da extração; (B) Matriz vegetal extraída com SFE e (C) Matriz vegetal extraída com SFE+US. Barra de escala de 100 µm.....	74
Figura 37 - Imagens de microscopia eletrônica de varredura (FESEM) para as amostras de pericarpo de pimenta malagueta extraídas com SFE+US: (A) partículas de maior diâmetro e (B) partículas de menor diâmetro. Barra de escala de 3 µm. 75	75
Figura 38 – Curva padrão de capsaicina (C)	89
Figura 39 – Curva padrão de dihidrocapsaicina (DHC).....	90
Figura 40 – Cromatograma com o perfil de capsaicinoides, capsaicina (C), dihidrocapsaicina (DHC), nordihidrocapsaicina (n-DHC) e homohidrocapsaicina (h – DHC) para o extrato obtido via SFE (40°C e 15 MPa).	91
Figura 41 – Curva padrão de ácido gálico.....	92

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Produção de pimentas frescas (toneladas) por continente em 2010.	3
Tabela 2 – Cadeias laterais (radicais-R) dos principais capsaicinoides encontrados em diversas variedades de pimentas.	6
Tabela 3 – Valores de densidade e viscosidade para o dióxido de carbono (CO ₂).	10
Tabela 4 – Condições operacionais de extração supercrítica com dióxido de carbono assistida por ultrassom de matérias-primas de origem vegetal.	23
Tabela 5 – Planejamento experimental completamente aleatorizado, com as variáveis: método, solvente, potência e tempo de radiação do ultrassom.	34
Tabela 6 – Características da matéria-prima (pimenta malagueta (<i>Capsicum frutescens</i> L.) utilizada no presente trabalho.	41
Tabela 7 - Rendimento global para oleorresina de pimenta malagueta obtida através de extrações a baixa pressão e com fluido supercrítico, sem e com ultrassom, a 15 MPa, 40 °C e uma vazão de solvente de $1,673 \times 10^{-4}$ kg/s.	45
Tabela 8 - Análise de variância (ANOVA) dos efeitos do tempo de radiação de ultrassom e a potência ultrassônica aplicada para o rendimento global de oleorresina de pimenta malagueta.	48
Tabela 9 - Rendimento de capsaicinoides para oleorresina de pimenta malagueta obtida através de extrações à baixa pressão e com fluido supercrítico (15 MPa e 40 °C), sem e com ultrassom.	51
Tabela 10 - Análise de variância (ANOVA) dos efeitos do tempo de radiação de ultrassom e da potência ultrassônica aplicada para o teor de capsaicinoides totais em oleorresina de pimenta malagueta.	53
Tabela 11 – Concentração de fenólicos totais para oleorresina de pimenta malagueta obtida através de extrações a baixa pressão e com fluido supercrítico, sem e com ultrassom.	56
Tabela 12 - Análise de variância (ANOVA) dos efeitos do tempo de radiação de ultrassom e a potência ultrassônica aplicada para a concentração de fenólicos em oleorresina de pimenta malagueta.	58

Tabela 13 – Aumento do rendimento global na extração supercrítica de diversas matrizes vegetais, causado pela aplicação de ondas ultrassônicas.....	59
Tabela 14 - Parâmetros do processo de extração supercrítica não assistida e assistida por ultrassom de óleo-resina de pimenta malagueta.	65
Tabela 15 – Parâmetros ajustados e a função objetivo para o modelo de Sovová (1994) aplicada a extração com dióxido de carbono supercrítico de pimenta malagueta a 15 MPa e 40 °C para o menor e maior diâmetro de partícula, com e sem ultrassom.....	71
Tabela 16 – Dados experimentais de extrato acumulado (g) de oleoresina de pimenta malagueta (<i>Capsicum frutescens</i> L.) obtida via extração supercrítica não assistida e assistida por ultrassom (360 W), nas condições operacionais de 15 MPa, 40 °C e uma vazão de solvente de $1,673 \times 10^{-4}$ kg/s, para o menor e o maior diâmetro de partícula.	93

LISTA DE SÍMBOLOS

d_{mg}	Diâmetro médio das partículas (L);
d_i	Abertura da i-ésima peneira (L);
d_{i+1}	Abertura nominal da peneira maior que a i-ésima peneira (L)
F	Massa de matéria-prima alimentada no extrator (M)
H	Comprimento total do leito (L);
J (X,Y)	Fluxo de transferência de massa interfacial (T^{-1});
k_{YA}	Coefficiente de transferência de massa na fase fluida (T^{-1});
k_{XA}	Coefficiente de transferência de massa na fase sólida (T^{-1});
M	Massa total de amostra (M);
m_{ext}	Massa de extrato (M);
m_{ecalc}	Massa de extrato calculada (M);
m_{eexp}	Massa de extrato experimental (M);
w_i	Massa de amostra retida na i-ésima peneira (M);
m_{SI}	Massa do material não extraível (M);
n	Número total de frações (ad.)
Q_{CO_2}	Vazão de solvente (L/T);
S	Massa de solvente utilizada no processo de extração (M)
t	Tempo (T);
t_{CER}	Período de taxa de extração constante (T);
t_{FER}	Período de taxa extração decrescente (T);
v_z	Componente axial da velocidade do solvente (L/T)
X_0	Rendimento global (M/M);
X_P	Concentração de soluto de fácil acesso (M/M);
X_k	Concentração de soluto no interior da partícula (M/M);
Y	Concentração de soluto na fase fluída (M/M);
Y^*	Concentração de equilíbrio (M/M);
ρ	Massa específica real (M/L ³);

ρ_a	Massa específica aparente (M/L ³);
ρ_r	Massa específica real (M/L ³);
ρ_s	Massa específica do CO ₂ supercrítico (M/L ³);
ε	Porosidade do leito;
λ	Comprimento de onda (L)

SUMÁRIO

RESUMO	xiii
ABSTRACT	xvii
LISTA DE FIGURAS	xxi
LISTA DE TABELAS	xxix
LISTA DE SÍMBOLOS	xxxiii
INTRODUÇÃO	1
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	3
2.1 Matéria-Prima	3
2.1.1 Pimenta (Capsicum sp.)	3
2.1.2 Capsaicinoides	5
2.2 Extração	7
2.2.1 Extração com fluidos supercríticos (SFE)	8
2.2.2 Modelos cinéticos das curvas de extração	13
2.3.1 Modelo de Sovová (1994)	13
2.3 Ondas Ultrassônicas.....	16
2.3.1 Fundamentos	16
2.3.2 Processo de extração assistido por ultrassom	19
2.3.2.1 Extração supercrítica assistida por ultrassom	22
3 MATERIAL E MÉTODOS	25
3.1 Matéria-prima	26
3.1.1 Pré-tratamento.....	26
3.1.2 Caracterização físico-química.....	27

3.2 Caracterização da matriz vegetal	28
3.2.1 Caracterização do leito de partículas	28
3.2.2 Microscopia eletrônica de varredura com fonte de emissão de campo (FESEM).....	29
3.3 Unidade de extração supercrítica.....	29
3.4 Planejamento dos experimentos	33
3.4.1 Experimentos de rendimento global	33
3.4.2 Extração a baixa pressão - Soxhlet	35
3.4.3 Experimentos cinéticos.....	36
3.5 Caracterização dos extratos	37
3.5.1 Teor de capsaicinoides.....	37
3.5.2 Teor de Fenólicos Totais	39
3.6 Caracterização da matriz vegetal pós-extração.....	39
3.7 Modelagem matemática.....	39
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	41
4.1 Caracterização da matriz vegetal	41
4.2 Avaliação do rendimento global	43
4.2.1 Análise química dos extratos	50
4.2.1.1 Análise de capsaicinoides	50
4.2.1.2 Análise de fenólicos totais	55
4.2.2 Microscopia eletrônica de varredura com fonte de emissão de campo (FESEM).....	61
4.3 Experimentos cinéticos.....	65

4.3.1 Microscopia eletrônica de varredura com fonte de emissão de campo (FESEM).....	72
CONCLUSÕES	77
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	79
APÊNDICE	89

INTRODUÇÃO

As pimentas vermelhas (*Capsicum* sp.) são vegetais ricos em capsaicinoides, substâncias responsáveis pela pungência dos frutos, tendo a capsaicina como sua maior representante (DAMODARAN, PARKIN e FENNEMA, 2010). Atualmente a capsaicina é empregada no desenvolvimento de novos fármacos por possuir várias propriedades benéficas, tais como poder antioxidante, antimicrobiano, anti-inflamatório e antitumoral, além de contribuir com o controle de diabetes e alívio de dores (REYES-ESCOGIDO, GONZALEZ-MONDRAGON e VAZQUEZ-TZOMPANTZI, 2011). Tendo em vista o poder benéfico da capsaicina, existe um grande interesse no desenvolvimento de novas tecnologias para a obtenção de extratos concentrados dessa substância.

A extração de compostos ativos de matérias-primas de origem vegetal é um campo promissor na indústria de alimentos. Por outro lado, é uma tarefa complexa, pois, na maioria das vezes, esses compostos são substâncias termolábeis e oxidativas. Além disso, graves restrições legislativas estão propondo a eliminação do uso geral de solventes orgânicos em plantas industriais de extração. Portanto, há um interesse considerável em substituir processos como destilação a vapor e extrações com solventes orgânicos, tradicionalmente utilizados para obter estes compostos ativos (MARTINEZ, 2008).

A tecnologia de extração com fluido supercrítico (*supercritical fluid extraction* – SFE) surgiu como alternativa frente aos métodos tradicionais para a extração e fracionamento de compostos ativos. Dentre os fluidos supercríticos mais utilizados está o dióxido de carbono (CO₂), cujas vantagens em processos de extração são: o baixo custo, seu caráter atóxico, não inflamável, inerte e boa capacidade de extração (BRUNNER, 1994).

Geralmente, em uma unidade de extração supercrítica observam-se as influências de temperatura, pressão, tamanho de leito de extração, vazão de solvente, diâmetro de partícula, entre outras, a fim de maximizar o rendimento do composto alvo (PERVA-UZUNALIĆ *et al.*, 2004). Além disso, uma unidade de extração com fluido supercrítico

tem sua capacidade extrativa alterada com a utilização de técnicas em conjunto, como por exemplo, o emprego de ondas ultrassônicas (GAO *et al.*, 2009)

A técnica de ultrassom baseia-se na formação de ondas ultrassônicas de alta frequência capazes de provocar cavitação devido aos ciclos de expansão e contração sofridos pela matéria. Tais ciclos causam ruptura na parede celular da matriz vegetal, favorecendo a penetração do solvente e a transferência de massa, conseqüentemente, o aumento do rendimento de extrato (TOMA *et al.*, 2001). Porém, a utilização da técnica de ultrassom resulta em um novo arranjo na microestrutura da matéria. Por isso, é de grande interesse verificar as características microestruturais da matriz vegetal (UQUICHE, VALLE e ORTIZ, 2004).

Devido ao exposto acima, o objetivo principal do trabalho consistiu em obter extratos de pimenta vermelha, visando a capsaicina, através da extração com fluidos supercríticos (SFE) assistida por ultrassom. Adicionalmente, pretendeu-se analisar a estrutura das partículas da matriz vegetal, após a extração supercrítica e a técnica de ultrassom, através de microscopia eletrônica de varredura.

Para alcançar o objetivo geral proposto, os objetivos específicos foram:

- Caracterizar as amostras de pimenta malagueta (*Capsicum frutescens* L.);
- Realizar extrações por métodos convencionais para detectar o teor total de capsaicinoides nas amostras;
- Realizar extrações com dióxido de carbono supercrítico assistidas e não assistidas por ultrassom;
- Construir e analisar as curvas de cinética de extração;
- Caracterizar quimicamente os extratos obtidos em relação ao teor de capsaicinoides e fenólicos totais;
- Comparar rendimento, cinética de SFE e composição dos extratos obtidos com e sem ultrassom;
- Analisar a morfologia da matriz vegetal antes e depois do processo.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Matéria-Prima

2.1.1 Pimenta (*Capsicum sp.*)

As pimentas são plantas utilizadas na alimentação humana, capazes de estimular as papilas gustativas da boca e produzir uma sensação picante/calor devido aos seus componentes químicos. Basicamente, há dois gêneros de pimentas mais conhecidos, o *Piper* e o *Capsicum* (BONTEMPO, 2007).

O gênero *Piper* é representado pelas sementes de plantas da família das piperáceas, sendo a pimenta-do-reino (*Piper nigrum*) sua representante mais conhecida. Já o gênero *Capsicum*, nativo dos trópicos americanos, inclui um conjunto de cerca de 20 a 30 espécies. A classificação taxonômica mais correta para a descrição do gênero *Capsicum*, segundo Cronquist (1988), é: Reino: *Plantae*; Divisão: *Spermatophyta*; Classe: *Magnoliopsida*; Ordem: *Solanales*; Família: *Solanaceae* e Gênero: *Capsicum*. As pimentas (*Capsicum sp.*) são consumidas como frutos frescos, em conservas, como constituintes de condimentos, pastas ou desidratadas (páprica) (GOVINDARAJAN e SATHYANARAYANA, 1991).

A produção de pimentas ocorre em grande parte no continente asiático, com mais de 50% da produção mundial, seguido das Américas, Europa, África e a Oceania, sendo a China o país com a maior produção, conforme os dados demonstrados na Tabela 1.

Tabela 1 – Produção de pimentas frescas (toneladas) por continente em 2010.

Continente	Produção em 2010 (ton.)
África	2.684.458,00
Américas	3.897.148,30
Ásia	19.913.000,00
Europa	2.870.269,00
Oceania	56.452,00
Mundial	29.421.327,30

Fonte: (F.A.O., 2010)

No Brasil o cultivo de pimentas (*Capsicum* sp.) ocorre praticamente em todas as regiões e é um dos melhores exemplos de agricultura familiar e de integração entre o pequeno agricultor e a agroindústria. A crescente demanda do mercado tem impulsionado o aumento da área cultivada e os estabelecimentos de agroindústrias. Além do mercado interno, parte da produção brasileira de pimentas é exportada em diferentes formas, como páprica, pasta e conservas ornamentais (EMBRAPA, 2006). Entre o gênero *Capsicum*, destacam-se as espécies *Capsicum annuum* L., *Capsicum chinense* Jacq., *Capsicum pubescens* L., *Capsicum baccatum* e *Capsicum frutescens* L. (MEDINA, LOBO e GÓMEZ, 2006; SOUZA, 2008; WAHYUNI *et al.*, 2011)

A espécie *Capsicum frutescens* L. é vulgarmente conhecida como pimenta vermelha ou pimenta malagueta na América Latina (PICKERSGILL, 2003). O fruto é geralmente vermelho, quando maduro, lanceolado, oblongo e com comprimento variando entre 1,5 a 2,5 centímetros. As sementes são numerosas e discoides (VILLASEÑOR e DE OCAMPO, 1994; SAIKAT KUMAR e AMIT KRISHNA, 2003). A Figura 1 ilustra os frutos de pimenta malagueta (*Capsicum frutescens* L).

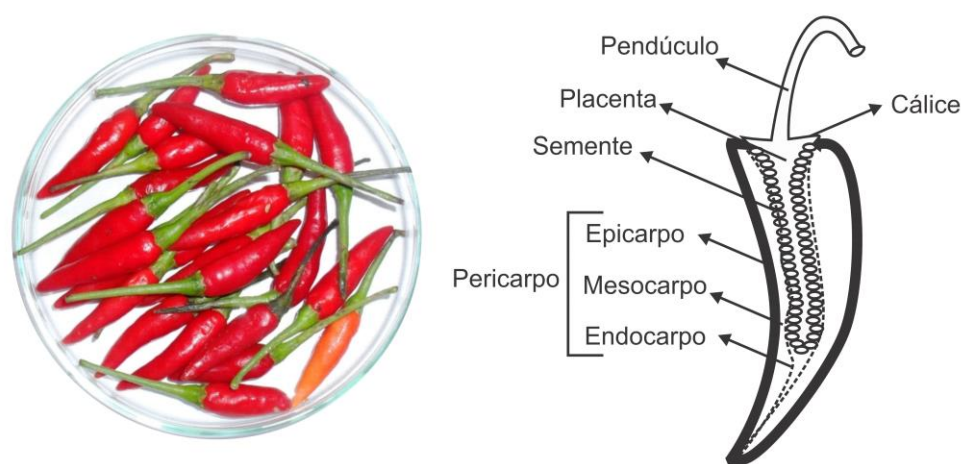


Figura 1 - Pimenta malagueta (*Capsicum frutescens* L) e a estrutura do fruto.

As pimentas, além de conterem as substâncias pungentes, como a capsaicina e dihidrocapsaicina, possuem outras substâncias fisiológicas ativas nos frutos, tais como

ácido ascórbico, tocoferol e carotenoides. Estas substâncias têm importante ação antioxidante contra os danos oxidativos produzidos por radicais livres (OGISO *et al.*, 2008).

O gênero *Capsicum* contém flavonoides e capsaicinoides que são os compostos fenólicos predominantes em pimentas. Podem-se encontrar, ainda, pequenas quantidades de ácidos fenólicos como protocatecuico, clorogênico, cumárico e ferúlico, assim como ácidos glicosídicos (SHAHIDI e NACZK, 2003).

2.1.2 Capsaicinoides

O sabor picante dos frutos da pimenta provém da ação de substâncias conhecidas como capsaicinoides, que são vanilil amidas de ácidos monocarboxílicos com comprimento de cadeia e insaturação variados (C_8 – C_{13}), entre as quais se destacam duas substâncias, a capsaicina e a dihidrocapsaicina. Estes dois capsaicinoides representam, em média, 90% dos capsaicinoides totais presentes nas variedades de pimentas picantes. Outro capsaicinoide geralmente presente é a nordihidrocapsaicina, em proporções variando de 4 a 8%. Além destes três compostos principais, foram encontrados mais de 12 capsaicinoides minoritários. Alguns desses capsaicinoides minoritários são: norcapsaicina, homocapsaicina, homodihidrocapsaicina, nornorcapsaicina e nornornorcapsaicina (CONSTANT *et al.*, 1995; CONSTANT, CORDELL e WEST, 1996; SCHWEIGGERT, CARLE e SCHIEBER, 2006). Geralmente a capsaicina representa majoritariamente esses princípios pungentes, não sendo incomum encontrar variedades de pimentas que tenham a dihidrocapsaicina como representante mais abundante (ZEWDIE e BOSLAND, 2001).

A estrutura química base dos capsaicinoides pode ser dividida em três regiões: anel aromático, ligação amina e cadeia carbônica lateral hidrofóbica (radical-R). Dependendo do número de átomos de carbono na cadeia lateral (R), ou se eles possuem insaturações, pode haver diferentes tipos de capsaicinoides (SHAHIDI e NACZK, 2003). A Figura 2 mostra a estrutura base dos capsaicinoides e a Tabela 2 apresenta as cadeias laterais hidrofóbicas dos principais capsaicinoides presentes em diversas variedades de pimentas: capsaicina (C),

dihidrocapsaicina (DHC), nordihidrocapsaicina (n-DHC), homocapsaicina (h-C) e homohidrocapsaicina (h-DHC).

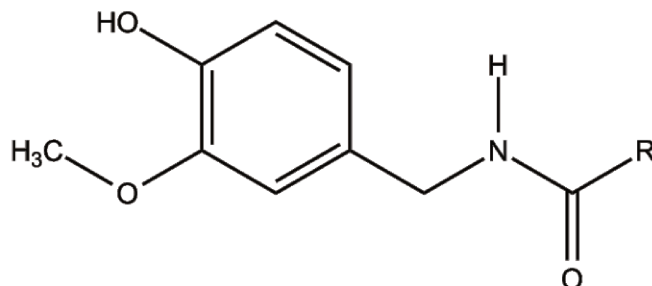


Figura 2 – Estrutura base dos capsaicinoides.

Tabela 2 – Cadeias laterais (radicais-R) dos principais capsaicinoides encontrados em diversas variedades de pimentas.

Radical (R)	Designação/Abreviação
	Capsaicina C
	Dihidrocapsaicina DHC
	Nordihidrocapsaicina n-DHC
	Homocapsaicina h-C
	Homohidrocapsaicina h-DHC

Fonte: (BARBERO, PALMA e BARROSO, 2006; SCHWEIGGERT, CARLE e SCHIEBER, 2006)

As concentrações de capsaicinoides em espécies de pimentas podem variar significativamente entre si. As variedades de pimentas levemente “picantes” contêm concentrações de capsaicinoides que variam de 0,003% a 0,01% em peso seco de matéria-prima. As pimentas picantes suaves contêm concentrações de capsaicinoides entre 0,01% e 0,3%, e as variedades fortemente picantes são caracterizadas por um conteúdo maior do que 0,3% de capsaicinoides do peso seco total, podendo atingir até 1% (PERUCKA e OLESZEK, 2000). Um exemplo é a pimenta “Bhut Jolokia”, um híbrido do cruzamento das variedades *Capsicum chinense* e *Capsicum frutescens*, que é conhecida por ser a pimenta mais picante do mundo, na qual foi encontrado cerca de 5% de capsaicinoides por unidade de massa de seca (mg/g) (LIU e NAIR, 2010; THOMPSON e LOA, 2011).

Como citado anteriormente, a capsaicina é o capsaicinoide majoritário presente nas pimentas. Atualmente vários estudos comprovam as propriedades benéficas da capsaicina à saúde humana, tais como antihiperlipidêmica, anti-inflamatória, antioxidante, efeito quimiopreventivo, além de ser efetiva no tratamento de inúmeras desordens do sistema nervoso, incluindo dores associadas à artrite, cistite e neuropatia diabética (REYES-ESCOGIDO, GONZALEZ-MONDRAGON e VAZQUEZ-TZOMPANTZI, 2011). Surh (2002) demonstrou que a capsaicina é eficaz contra tumores de pele. Sendo assim, torna-se de grande interesse o estudo dos mecanismos presentes no processo de extração de capsaicina originária de pimentas vermelhas.

2.2 Extração

A extração é classificada como uma operação unitária que tem por objetivo separar substâncias a partir de diversas matrizes, sólidas ou líquidas, através de processos químicos e/ou físicos.

O processo de extração possui várias aplicações na área de engenharia química e de alimentos, sendo utilizado principalmente na recuperação, isolamento e separação de importantes componentes de uma matriz, além de remover contaminantes ou compostos

indesejados. Na indústria de alimentos, a extração é uma técnica para a separação de flavorizantes, antioxidantes, corantes, assim como, alcaloides e colesterol, nas mais diversas matrizes de origem vegetal ou animal (LEAL, 2008).

A extração de compostos de fontes naturais tradicionalmente é realizada com solventes orgânicos ou água e extração líquido-líquido. Atualmente, a extração com fluidos supercríticos (SFE) é um método alternativo e promissor por possuir inúmeras vantagens sobre os processos tradicionais, tais como solventes não poluentes, baixo custo de recuperação e flexibilidade no processo devido à seletividade do solvente (REVERCHON e DE MARCO, 2006; MARTINEZ, 2008).

2.2.1 Extração com fluidos supercríticos (SFE)

Uma substância pura atinge o seu estado supercrítico somente quando sua temperatura e pressão são superiores aos seus valores críticos. O ponto crítico (PC) de cada substância é caracterizado por sua temperatura, pressão e volume críticos. Abaixo deste ponto a substância pode existir nos estados líquido, sólido ou vapor e acima deste ponto o composto existe somente no estado de agregação supercrítico (BRUNNER, 1994; SANDLER, 2006). Segundo Sandler (2006), este fluido pode ser considerado tanto como um líquido expandido como um gás comprimido. A Figura 3 apresenta um diagrama de fases para um composto puro.

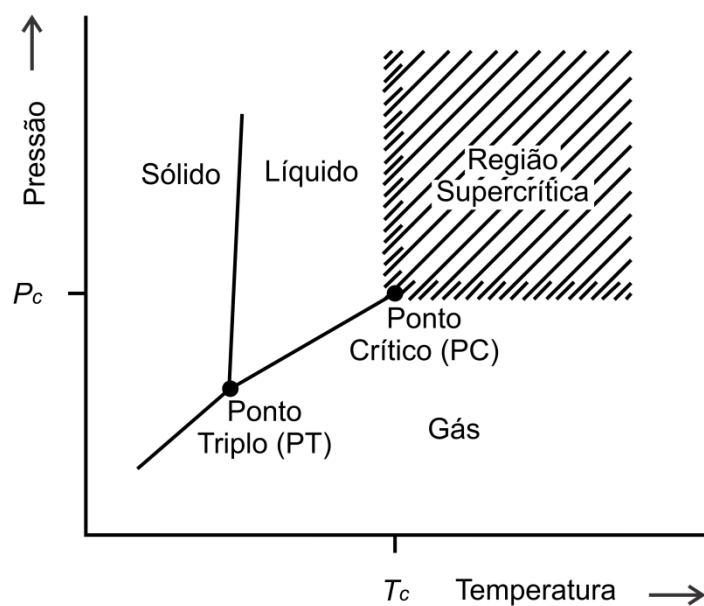


Figura 3 – Diagrama de fases para uma substância pura. Fonte: adaptado de Brunner (2005).

A curva, no diagrama de fases, representa a pressão e temperatura onde dois estados de agregação coexistem, sendo que no ponto triplo (PT) as três fases coexistem. A linha de coexistência entre gás e líquido é chamada de curva de saturação líquido-gás. Percorrendo tal linha, chega-se ao ponto crítico (PC) onde as densidades das fases líquida e gasosa se igualam, não sendo possível diferenciar o estado de agregação líquido ou gás (SANDLER, 2006).

Dentre os fluidos supercríticos utilizados em processos de extração de matrizes de origem vegetal, o dióxido de carbono (CO_2) destaca-se por não ser tóxico, nem inflamável e nem poluente, e por ser totalmente recuperável, de baixo custo e inerte. Além disso, apresenta condições críticas de pressão e temperatura relativamente seguras, comparado a outros solventes, o que o torna apropriado para a extração de voláteis ou compostos termolábeis (RAVENTOS, DUARTE e ALARCON, 2002; BRUNNER, 2005; REVERCHON e DE MARCO, 2006).

O dióxido de carbono possui temperatura crítica de 304,2 K e pressão crítica de 7,38 MPa. Uma vez atingido o estado supercrítico, este fluido apresenta propriedades tanto de um gás como de um líquido, ou seja, sua densidade se aproxima de um líquido, enquanto

que a sua viscosidade é próxima a de um gás normal (BRUNNER, 2005). A Tabela 3 apresenta os valores de densidade e viscosidade para o dióxido de carbono.

Tabela 3 – Valores de densidade e viscosidade para o dióxido de carbono (CO₂).

	Densidade (kg.m ⁻³)	Viscosidade (μPa.s)
Líquido (300 K; 50 MPa)	1029	133
Gás (313 K; 0,1 MPa)	2	16
Supercrítico (313 K; 10 MPa)	632	17

Fonte: (WILLIAMS e CLIFFORD, 2000).

A capacidade de solvatação do CO₂ no estado de agregação supercrítico depende de sua densidade. Logo, quanto maior a densidade, menores os espaços entre as moléculas e maior a interação entre elas. O CO₂ tem a capacidade de dissolver compostos não polares e levemente polares. Por outro lado, seu poder de solvatação decresce com o aumento da massa molecular do soluto, além de apresentar baixa solvatação de ácidos graxos e de pigmentos (BRUNNER, 1994).

O processo de extração com fluido supercrítico, especificamente utilizando dióxido de carbono (CO₂), ocorre em duas etapas: a extração dos solutos e a separação do soluto do solvente. A primeira etapa consiste em manipular o dióxido de carbono no binômio pressão/temperatura a fim de obter a maior solvatação dos solutos visados. O solvente escoo para dentro do extrator e flui através de toda a matriz vegetal contida no vaso de pressão (extrator), solubilizando os solutos. A mistura solvente/soluto segue para a segunda etapa, na qual a pressão é reduzida abaixo do valor do ponto crítico. Desta maneira o solvente altera seu estado de agregação supercrítico para gás, diminuindo seu poder de solvatação, e conseqüentemente ocorre a precipitação do soluto. Assim, o soluto é recuperado e o gás é redirecionado a um reciclo (RAVENTOS, DUARTE e ALARCON, 2002; MARTINEZ, 2008). A Figura 4 ilustra um processo de extração com fluido supercrítico.

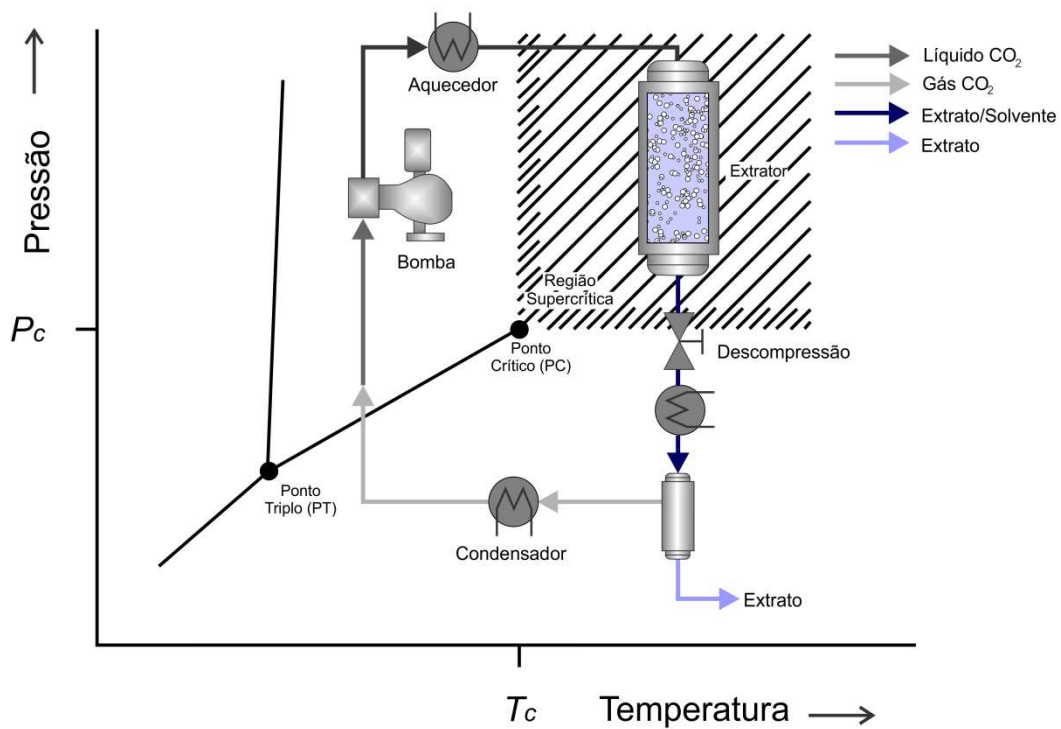


Figura 4 – Representação do processo de extração com fluido supercrítico. Fonte: adaptado de (ROSA *et al.*, 2008).

O reciclo conduz o dióxido de carbono gasoso até um condensador, onde o gás é liquefeito. Logo em seguida o CO₂ líquido tem sua pressão aumentada acima da pressão do ponto crítico, por consequência do trabalho de uma bomba, e sua temperatura elevada até a uma temperatura de operação desejada por um aquecedor (ROSA *et al.*, 2008)

Este processo de extração, assim como outros processos, pode ser caracterizado através de curvas cinéticas de extração. As curvas de extração obtidas em processos com fluidos supercríticos são construídas através da quantificação da massa de extrato, ou do rendimento, em função do tempo ou da massa de solvente utilizada. Segundo Brunner (1994), as curvas de extração global também são conhecidas como *overall extraction curves* (OECs). A Figura 5 apresenta uma curva esquemática da cinética de extração supercrítica.

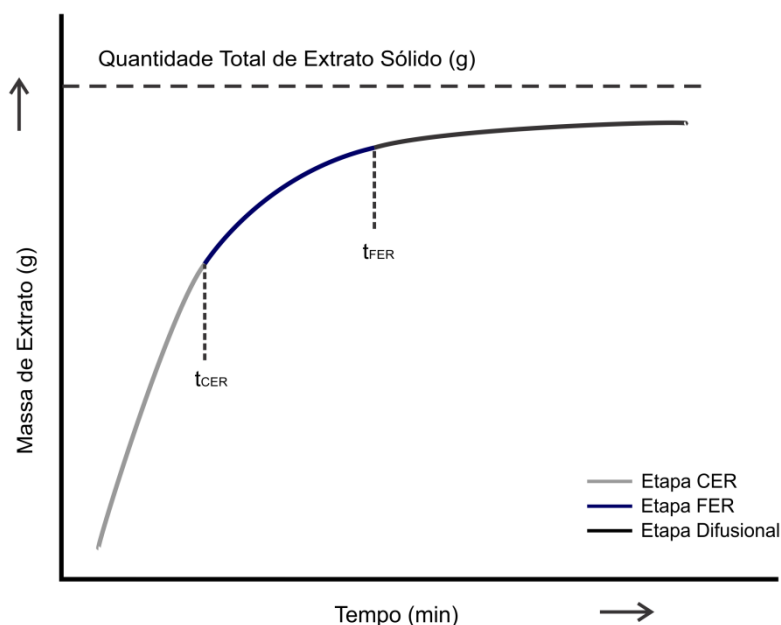


Figura 5 – Curva de extração do processo supercrítico: etapa de taxa de extração constante (CER); etapa de taxa de extração decrescente (FER) e período difusional (DC).

Segundo Sovová (1994), as curvas de extração global podem ser divididas em três etapas. A primeira etapa corresponde ao período de taxa de extração constante (CER – *constant extraction rate*), que é caracterizado pela extração do soluto que recobre a superfície externa das partículas da matriz vegetal ou de fácil acesso. Nesta etapa a convecção mássica predomina no processo. A segunda etapa, período de taxa de extração decrescente (FER – *falling extraction rate*), começa quando não há quantidades suficientes de soluto para manter a taxa de extração constante, logo, tanto a convecção quanto a difusão são importantes na transferência de massa. Por fim, no período difusional (DC – *diffusion controlled*), o soluto que recobria toda a matriz vegetal esgotou-se, sendo assim, o processo é controlado somente pela difusão do solvente para o interior das partículas e pela difusão do solvente/soluto para a superfície das partículas.

Assim, torna-se de grande importância quantificar e compreender os mecanismos envolvendo o processo de extração de compostos ativos através da construção de curvas cinéticas e a aplicação de modelos matemáticos.

2.2.2 Modelos cinéticos das curvas de extração

A partir das curvas experimentais de extração, utiliza-se a modelagem matemática para compreender principalmente os fenômenos que controlam o processo de extração com fluido supercrítico. Além disso, a modelagem também é usada para estimar os parâmetros do processo para o projeto e o dimensionamento dos equipamentos e previsão da viabilidade econômica do processo em escala industrial. Para Brunner (1994), o processo de extração pode ser modelado de uma maneira simples, considerando-se apenas os parâmetros de extração e o ajuste dos dados experimentais ao modelo para obter os coeficientes desconhecidos. Porém, sabe-se que tal modelo não irá representar totalmente a cinética de extração. Portanto, é necessária uma abordagem mais complexa para compreender os mecanismos envolvidos no processo de extração.

Diversos modelos de extração supercrítica são propostos na literatura. Alguns são baseados no formato das curvas experimentais de extração e outros advêm do balanço de massa do processo. O presente trabalho utilizou o modelo de Sovová (1994) na modelagem matemática do processo, que é descrito a seguir.

2.3.1 Modelo de Sovová (1994)

O modelo de Sovová (1994) considera os coeficientes de transferência de massa da fase sólida e da fase fluída. O modelo baseia-se na extração a partir de uma matriz sólida composta por material moído, em um leito de extração cilíndrico com escoamento axial de solvente que, na entrada do extrator, é livre de soluto, operando com temperatura e pressão constantes. O tamanho das partículas do sólido e a distribuição de soluto são homogêneos no leito de extração no início do processo.

As equações de balanço de massa para a fase fluída e sólida são dadas pela Equação 1 e Equação 2, respectivamente.

$$v_z \frac{\partial Y}{\partial z} = \frac{J(X, Y)}{\varepsilon} \quad (\text{fase fluida}) \quad \text{Equação 1}$$

$$\frac{\partial X}{\partial t} = - \frac{J(X, Y) \rho}{1 - \varepsilon \rho_s} \quad (\text{fase s\u00f3lida}) \quad \text{Equa\u00e7\u00e3o 2}$$

Os termos de transfer\u00eancia interfacial s\u00e3o dadas pelas Equa\u00e7\u00f5es 3 e 4.

$$J(X, Y) = k_{YA}(Y^* - Y) \quad \text{para } X > X_k \quad \text{Equa\u00e7\u00e3o 3}$$

$$J(X, Y) = k_{XA} X_k \left(1 - \frac{Y}{Y^*}\right) \quad \text{para } X \leq X_k \quad \text{Equa\u00e7\u00e3o 4}$$

onde: k_{YA} – Coeficiente de transfer\u00eancia de massa na fase fluida; k_{XA} – Coeficiente de transfer\u00eancia de massa na fase s\u00f3lida; X_k – Concentra\u00e7\u00e3o de soluto no interior da part\u00edcula; Y^* - Solubilidade do soluto na fase fluida.

Sovov\u00e1 (1994) prop\u00f4s, em seu modelo, que a transfer\u00eancia de massa interfacial depende da disponibilidade do soluto de f\u00e1cil acesso ao solvente. Uma hip\u00f3tese usada pela autora \u00e9 que parte do soluto est\u00e1 diretamente exposto ao solvente devido \u00e0 etapa de pr\u00e9-processamento da amostra, que ocasionou o rompimento das paredes celulares pelo processo de tritura\u00e7\u00e3o. Desta maneira, uma fra\u00e7\u00e3o do soluto estaria cobrindo a superf\u00edcie das part\u00edculas e outra fra\u00e7\u00e3o estaria no interior das c\u00e9lulas intactas. Logo, o processo de SFE pode ser dividido em tr\u00eas etapas: a primeira \u00e9 controlada pela convec\u00e7\u00e3o na fase fluida, com taxa constante de extra\u00e7\u00e3o, onde o soluto de f\u00e1cil acesso \u00e9 removido; na segunda etapa, tanto a convec\u00e7\u00e3o quanto a difus\u00e3o s\u00e3o importantes; e na terceira etapa, o soluto restante se encontra no interior das c\u00e9lulas intactas, portanto a transfer\u00eancia de massa \u00e9 controlada pela difus\u00e3o na fase s\u00f3lida. Baseada nestas informa\u00e7\u00f5es, a autora solucionou analiticamente as equa\u00e7\u00f5es de balan\u00e7o de massa para ambas as fases s\u00f3lida e fluida, podendo representar as OECs pelas seguintes equa\u00e7\u00f5es:

$$m_E (z = H, t) = Q_{CO_2} Y^* [1 - \exp(-Z)] t \quad \text{para } t_{CER} < t \quad \text{Equação 5}$$

$$m_E (z = H, t) = Q_{CO_2} Y^* [t - t_{CER} \exp(Z_W - Z)] \quad \text{para } t_{CER} \leq t < t_{FER} \quad \text{Equação 6}$$

$$m_E (z = H, t) = m_{SI} \left\{ X_0 - \frac{Y^*}{W} \ln \left[1 + \left[\exp \left(\frac{W X_0}{Y^*} \right) - 1 \right] \exp \left[\frac{W Q_{CO_2}}{m_{SI}} (t_{cer} - t) \right] \left(\frac{X_P}{X_0} \right) \right] \right\} \quad \text{para } t > t_{FER} \quad \text{Equação 7}$$

onde:

$$Z = \frac{m_{SI} k_{YA} \rho}{Q_{CO_2} (1 - \varepsilon) \rho_S} \quad \text{Equação 8}$$

$$W = \frac{m_{SI} k_{XA}}{Q_{CO_2} (1 - \varepsilon)} \quad \text{Equação 9}$$

$$Z_W = \frac{Z Y^*}{W X_0} \ln \left\{ \frac{X_0 \exp \left[\frac{W Q_{CO_2}}{m_{SI}} (t_{CER} - t) \right] - X_k}{X_0 - X_k} \right\} \quad \text{Equação 10}$$

$$t_{CER} = \frac{m_{SI} X_P}{Y^* Z Q_{CO_2}} \quad \text{Equação 11}$$

$$t_{FER} = t_{CER} + \frac{m_{SI}}{W Q_{CO_2}} \ln \left[\frac{X_k + X_P \exp \left(\frac{W X_0}{Y^*} \right)}{X_0} \right] \quad \text{Equação 12}$$

onde: m_E - Massa de extrato; Q_{CO_2} - Vazão de solvente; t_{CER} – Período de taxa de extração constante; t_{FER} – Período de taxa de extração decrescente; X_P - Concentração de soluto de fácil acesso; X_0 - Rendimento global; m_{SI} - Massa do material não extraível.

2.3 Ondas Ultrassônicas

2.3.1 Fundamentos

O som é o resultado da propagação da energia mecânica por meio da matéria na forma de uma onda, que por sua vez, produz os fenômenos de compressão e rarefação. As ondas de pressão se propagam por meio do movimento físico de material através do qual o som está sendo transmitido. Como resultado destas mudanças de pressão, surge uma onda senoidal. As alterações na pressão em relação ao tempo são as unidades básicas de medição do som. A distância entre os picos da curva tempo-pressão é conhecida como comprimento de onda, λ . Esse período é o tempo (t) necessário para completar um ciclo, conforme mostra a Figura 6. O número de ciclos por unidade de tempo é conhecido como frequência, e a frequência e o período são inversamente proporcionais (WALTER, 1985; POVEY e MASON, 1998)

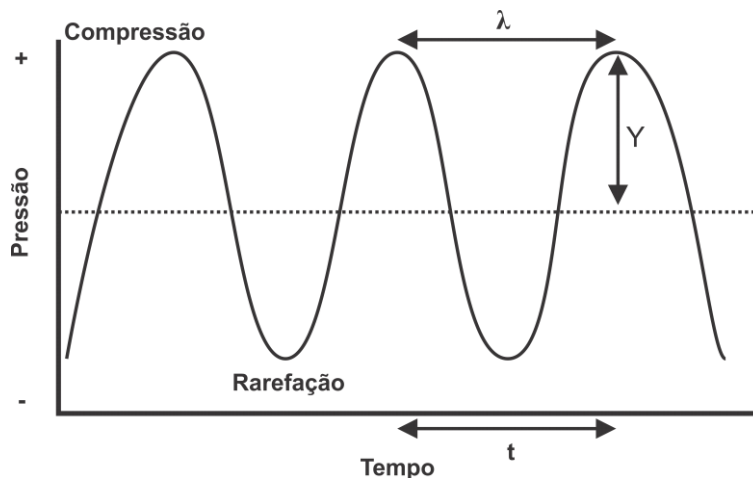


Figura 6 – Fenômeno de compressão e rarefação durante a transmissão de uma onda sonora. Adaptado de: McClements (1995).

As altas frequências são expressas em quilo-hertz (kHz, 1 kHz = 1000 Hz) ou mega-hertz (MHz). A gama de frequências audíveis varia entre 16 Hz e 18 kHz. Já as ondas

ultrassônicas referem-se às ondas sonoras com uma frequência maior do que a gama audível para os seres humanos. A menor frequência ultrassônica é geralmente tomada como 20 kHz (WANG e WELLER, 2006). O limite superior de frequências de ultrassom não é claramente definido, mas é geralmente considerado como sendo de 5 MHz, para propagação em gases e 500 MHz para líquidos e sólidos (POVEY e MASON, 1998). A Figura 7 apresenta os intervalos de frequência para cada classificação das ondas sonoras.

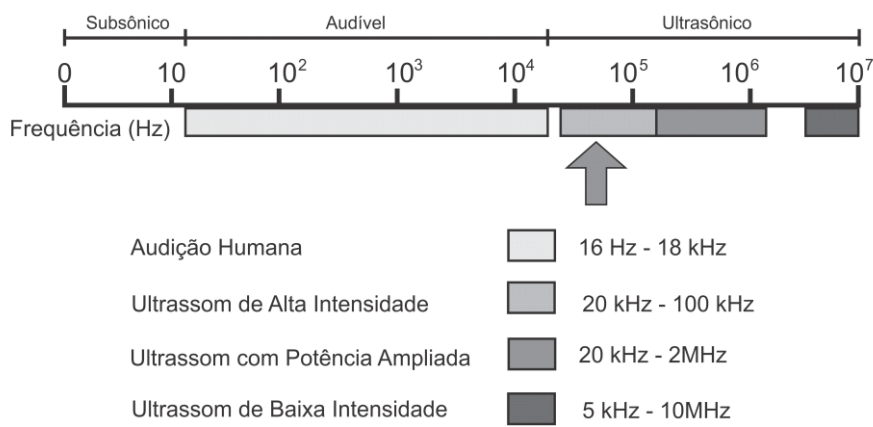


Figura 7 – Intervalos de frequência das ondas sonoras. Fonte: Adaptado de: Povey e Mason (1998).

As ondas ultrassônicas são geradas por dispositivos conhecidos como transdutores, pelos quais a energia mecânica ou elétrica pode ser convertida em energia sonora (mecânica). Existem duas formas básicas de transdutores utilizados para gerar ondas ultrassônicas: magnetostritivo e piezoelétrico. Os transdutores magnetostritivos consistem em uma bobina de fio colocada ao redor do material magnetostritivo. Quando um fluxo de corrente elétrica é fornecido através da bobina, um campo magnético é criado, e isto faz com que o material magnetostritivo seja contraído ou alongado, levando à formação de ondas ultrassônicas (POVEY e MASON, 1998).

O segundo formato de transdutor é composto de um disco espesso de um material de cerâmica piezoelétrica. Inserida entre eletrodos que fornecem contato elétrico, as cerâmicas são comprimidas entre blocos de metal e pré-tensionadas. Quando uma tensão é

aplicada, elas se expandem ou contraem, dependendo da polaridade. Este deslocamento físico provoca a geração de ondas ultrassônicas (POVEY e MASON, 1998).

As aplicações de ondas ultrassônicas podem ser divididas, grosso modo, em duas categorias: ultrassom de baixa intensidade e de alta intensidade. A primeira categoria envolve ondas de baixa amplitude (Y), conforme a Figura 6, alta frequência e baixo consumo de energia. Utiliza frequências muito elevadas, variando de 2 a 20 MHz, com intensidades sonoras baixas, variando de 100 mW/cm² a 1 W/cm². Geralmente é utilizada na obtenção de imagens médicas (análise por ultrassom) e ensaios não destrutivos, como por exemplo, teste para estruturas de aeronaves (POVEY e MASON, 1998). As aplicações de baixo consumo de energia de ultrassom em processamento de alimentos incluem medidas da taxa de escoamento (MCCLEMENTS, 1995), determinação da composição físico-química (GHAEDIAN *et al.*, 1998), determinação do tamanho de partícula (WANG e POVEY, 1999), determinação de perfis de sedimentação (RAZAVIAN *et al.*, 1997), monitoramento de transições de fase e estudo de gelificação (ROBIN *et al.*, 2012).

A segunda categoria, ultrassom de alta potência sonora ou ultrassom de alta intensidade, utiliza frequências mais baixas (tipicamente de 20 a 100 kHz) e produz intensidades sonoras de aproximadamente 10 a 1000 W/cm², com amplitudes que variam cerca de 5 a 50 ms⁻¹ (MCCLEMENTS, 1995). Podem-se encontrar várias aplicações em operações de processamento de alimentos de ondas ultrassônicas de alta intensidade, tais como em processos de emulsificação/homogeneização (BEHREND e SCHUBERT, 2001), filtração (WEN, SUI e HUANG, 2008), secagem (FERNANDES, LINHARES JR e RODRIGUES, 2008), inativação de microrganismos e enzimas (ORDOÑEZ *et al.*, 1987; VERCET, LOPEZ e BURGOS, 1999), reforço na transferência de calor e massa (CHEMAT, ZILL E e KHAN, 2011), extração de compostos bioativos (KHAN *et al.*, 2010), modificação e controle do processo de cristalização (LI e SUN, 2002).

2.3.2 Processo de extração assistido por ultrassom

Atualmente a extração assistida por ultrassom (*Ultrasound-assisted extraction, USAE*) é uma poderosa ferramenta na extração de compostos ativos. O uso de ondas ultrassônicas aumenta a eficiência do processo, reduz a temperatura necessária e favorece a solubilização dos compostos alvo no solvente (ESCLAPEZ *et al.*, 2011).

As ondas ultrassônicas são vibrações mecânicas aplicadas em sólidos, líquidos ou gases com frequências superiores a 20 kHz. Tais ondas são diferentes das ondas eletromagnéticas, pois necessitam de matéria para se propagar. Elas são caracterizadas por sua frequência e comprimento de onda, e o produto matemático destes parâmetros resulta na velocidade da onda através do meio (WANG e WELLER, 2006).

As ondas ultrassônicas causam o efeito de expansão e de compressão sobre a matéria. A expansão pode criar bolhas em um líquido e produzir pressão negativa, enquanto o colapso das bolhas formadas pode causar cavitação. O colapso das bolhas perto das paredes celulares produz rompimento celular, e como resultado, ocorre uma melhor penetração do solvente para o interior das células, e conseqüentemente um aumento da transferência de massa (ESCLAPEZ *et al.*, 2011). A Figura 8 é uma representação esquemática dos efeitos do processo de ultrassom sobre a interface de uma matriz vegetal.

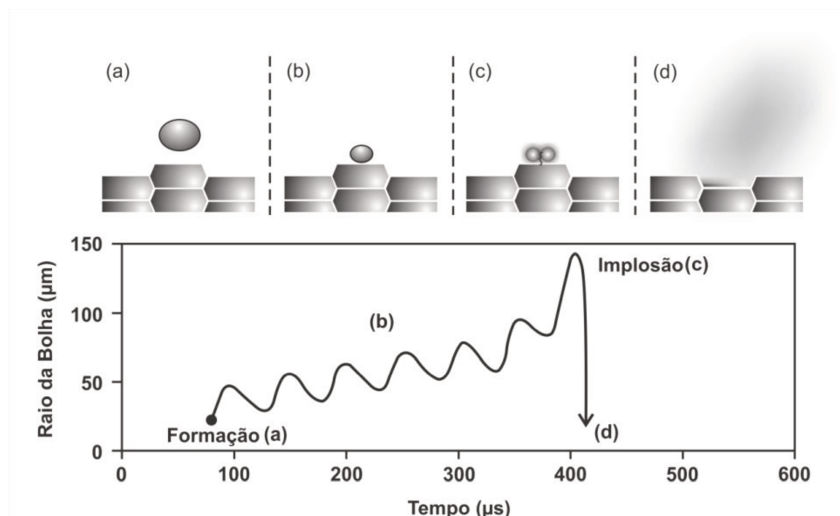


Figura 8 - Representação esquemática dos efeitos do processo de ultrassom sobre a matriz vegetal. Fonte: adaptado de Esclapez *et al.*, (2011) e Castro e Capote (2007).

Pode-se verificar na Figura 8 que, no primeiro estágio, ocorre a formação de bolhas (a); tais bolhas sofrem expansão e compressão (b) que ocasionarão o colapso ou implosão das mesmas (c). Eventualmente, caso esse colapso ocorra perto da interface da matriz vegetal, pode-se gerar ondas de choque que perturbarão a parede da matriz, consequentemente liberando o material intraparticular no solvente (d) (ESCLAPEZ *et al.*, 2011).

Para sistemas de extração sólido-líquido, o efeito mais importante do ultrassom é o efeito mecânico atribuído à cavitação. Pontos quentes são gerados no fluido pelo colapso das bolhas e as ondas de choque produzidas por esse colapso criam uma turbulência microscópica nos filmes interfaciais que rodeiam as partículas sólidas. Este fenômeno é denominado *microstreaming*, e resulta em um aumento da taxa de difusão e, consequentemente, em aumento na transferência de massa através da película (CASTRO e CAPOTE, 2007; TAKEUCHI *et al.*, 2008)

Os maiores efeitos são observados a temperaturas mais baixas, quando a maioria das bolhas está no estado gasoso. Embora as cavitações sejam mais facilmente formadas com um solvente que tem uma alta pressão de vapor, baixa viscosidade e tensão superficial, a intensidade da cavitação aumenta para solventes com baixa pressão de vapor, alta viscosidade e tensão superficial (TAKEUCHI *et al.*, 2008). Porém, poucos estudos indicam a existência de tais fenômenos em fluidos a altas pressões.

A frequência de ultrassom exerce influência significativa sobre o rendimento da extração e da cinética. No entanto, esta influência é dependente da estrutura do material/matriz vegetal e do composto a ser extraído. Em alguns casos, é necessário aplicar frequências mais baixas no processo para evitar a degradação dos compostos bioativos (TAKEUCHI *et al.*, 2008).

O rendimento dos compostos alvo no processo de extração pode ser influenciado também pela morfologia da partícula, pois a eficiência da extração depende do caminho que o solvente deve percorrer para extrair os compostos desejados (TAKEUCHI *et al.*, 2008). Stanisavljević, Lazić e Veljković (2007) concluíram que uma menor quantidade de compostos alvo pode ser transportada do interior de uma partícula grande para o solvente devido a uma maior resistência ao transporte, pois o solvente deve percorrer caminhos mais

longos em comparação com partículas menores. Zhao, Kwok e Liang (2007) encontraram o mesmo comportamento, sugerindo também que, quando a partícula é suficientemente pequena, a maioria das paredes celulares é quebrada através da aplicação de ultrassom.

Outro fator de extrema importância em extrações assistidas por ultrassom é a configuração do extrator, que pode ter o transdutor acoplado ao vaso de extração ou ter uma sonda ultrassônica imersa no meio solvente/matriz vegetal. A Figura 9 mostra esquematicamente algumas geometrias de extratores com ondas ultrassônicas.

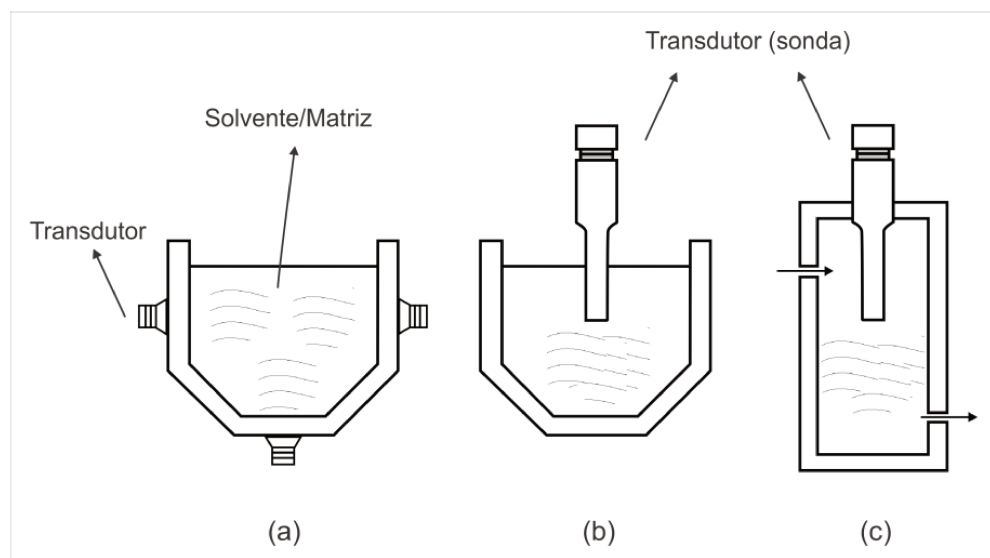


Figura 9 – Configurações típicas de extratores: (a) transdutor acoplado a um vaso; transdutor (sonda) imerso no meio solvente/matriz vegetal, (b) em batelada e em modo contínuo (considerando o fluido/solvente) (c). Fonte: adaptado de Esclapez *et al.*, (ESCLAPEZ *et al.*, 2011).

Atualmente, os sistemas de extração mais utilizados em escala de laboratório são os banhos ultrassônicos ou a sonificação direta. Os banhos ultrassônicos consistem em um transdutor acoplado a um tanque contendo um líquido responsável por transferir as ondas ultrassônicas até um recipiente contendo a matriz extrativa, conforme a Figura 9 (a). Uma das desvantagens dessa geometria é a falta de uniformidade de distribuição das ondas ultrassônicas. Assim, a sonificação direta surgiu como uma alternativa para melhorar a distribuição das ondas ultrassônicas através do meio de extração. Esse sistema consiste em

inserir uma sonda ultrassônica diretamente na mistura solvente/matriz vegetal, como demonstra a Figura 9 (b) e (c) (ESCLAPEZ *et al.*, 2011).

Na USAE é necessário considerar a influência das variáveis de processo, como a energia ultrassônica, frequência, temperatura, configuração do extrator, solventes, razão matriz vegetal/solvente ou tamanho de partícula e estrutura da matriz. Essas variáveis podem permitir a identificação dos fatores de escala que são necessários para possibilitar a transferência das condições experimentais encontradas em laboratório para um nível industrial. Além disso, é necessário considerar que, em processos de extração, a meta do processo não é somente alcançar o maior rendimento de extração, mas também baixo custo e baixo consumo de energia (ESCLAPEZ *et al.*, 2011).

A extração assistida por ultrassom (USAE) a baixas pressões com diferentes solventes tem sido aplicada em diversas matrizes de origem vegetal, tais como, uva (CARRERA *et al.*, 2012), romã (TIAN *et al.*, 2013), alecrim (ALBU *et al.*, 2004), tomate (LIANFU e ZELONG, 2008) e pimenta (BARBERO *et al.*, 2008; BOONKIRD, PHISALAPHONG e PHISALAPHONG, 2008). Porém, são poucos os trabalhos científicos que enfocam a extração assistida por ultrassom a altas pressões, como a extração com fluido supercrítico.

2.3.2.1 Extração supercrítica assistida por ultrassom

A extração com dióxido de carbono supercrítico assistida por ultrassom é um processo relativamente novo, sendo que o primeiro trabalho experimental foi apresentado por Chen *et al.*, (1997) no 4º Simpósio Internacional sobre Fluidos Supercríticos em 1997 (*International Symposium on Supercritical Fluids - ISSF*) em Sendai - Japão. Posteriormente, Riera *et al.*, (2003) publicaram um trabalho no *World Congress on Ultrasonics (WCU)* sobre aplicação de ondas ultrassônicas, que foi intitulado: Geração e efeitos de ultrassom de alta intensidade em fluidos supercríticos (*Generation and effects of high-intensity ultrasound in supercritical fluids*).

O primeiro trabalho científico publicado em um periódico internacional foi de Riera *et al.*, (2004) no qual se estudou o efeito das ondas ultrassônicas sobre a extração supercrítica com dióxido de carbono de amêndoas (*Prunus amygdalus*). Os autores obtiveram um aumento de 30% no rendimento de extrato em comparação com a extração somente com CO₂ supercrítico.

A Tabela 4 apresenta as condições operacionais de extração supercrítica, com dióxido de carbono, assistida por ultrassom usando matérias-primas de origem vegetal. Estas informações estão nos principais trabalhos publicados nos últimos nove anos em periódicos científicos.

Tabela 4 – Condições operacionais de extração supercrítica com dióxido de carbono assistida por ultrassom de matérias-primas de origem vegetal.

	Matéria-Prima			
	Amêndoa (<i>Prunus amygdalus</i>)	Gengibre (<i>Zingiber officinale</i>)	Coix (<i>Coix lachryma-jobi</i> <i>L. var. Adlay</i>)	Marigold (<i>Tagetes erecta</i> L.)
Temperatura (°C)	55	20 e 40	30-55	55
Pressão (MPa)	28	6,8 e 16	10-30	25
Diâmetro de Partícula (mm)	3-4 e 9-10	4-8	0,3-0,45	0,245-0,35
Potência (W)	50	100 e 300	0-110	0-400
Frequência (Hz)	20	20	20	25 e 33
Aumento do Rendimento (%)	30	30	14	65
Fonte	(RIERA <i>et al.</i> , 2004)	(BALACHANDRAN <i>et al.</i> , 2006)	(HU <i>et al.</i> , 2007)	(GAO <i>et al.</i> , 2009)

A extração supercrítica com CO₂ assistida por ultrassom de óleo de Coix (*Coix lachryma-jobi* L. var. Adlay), vulgarmente conhecido no Brasil com capim-rosário ou lágrima de nossa senhora, foi estudado por HU *et al.*, (2007). Os resultados demonstraram que a extração com fluido supercrítico associada ao ultrassom pode reduzir a temperatura, a pressão e a vazão requerida de solvente, bem como o tempo utilizado no processo.

Comparando SFE com SFE assistida por ultrassom, houve um aumento de rendimento de 14% de óleo de Coix. Portanto, segundo os autores, é possível obter óleo de Coix em condições de processo mais amenas, sendo possível obter um óleo com maior teor de compostos sensíveis às variáveis do processo.

Balanchandran *et al.*, (2006) verificaram a influência do uso de ondas ultrassônicas durante a extração de compostos pungentes de gengibre (*Zingiber officinale*) com CO₂ supercrítico. O aumento no rendimento foi cerca de 30% e, segundo os autores, a maior taxa de extração no processo assistido por ultrassom é atribuída à ruptura das estruturas celulares e a um aumento da acessibilidade do solvente à estrutura interna de partículas.

O grande interesse das indústrias farmacêutica e alimentícia em óleos essenciais de origem vegetal com características benéficas à saúde humana, como no caso da capsaicina, tem impulsionado as pesquisas relacionadas aos métodos de extração de tais compostos. Na última década a tecnologia supercrítica ganhou atenção de vários grupos de pesquisa e indústrias interessadas em obter extratos de alta qualidade. Mais recentemente, o uso de ondas ultrassônicas foi aplicado no processo SFE. Porém, há um número restrito de pesquisas publicadas na literatura, conforme a revisão bibliográfica acima, sobre extração supercrítica assistida por ultrassom e seus efeitos sobre os extratos obtidos. Desta forma, torna-se de grande importância o estudo do processo de extração via SFE de pimenta malagueta assistido por ultrassom, bem como, a avaliação de seus efeitos nos compostos bioativos obtidos por tal técnica.

3 MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado no Laboratório de Tecnologia Supercrítica, Extração, Fracionamento e Identificação de Extratos Vegetais – DEA/FEA/UNICAMP (LASEFI). A Figura 10 apresenta o diagrama com as atividades desenvolvidas neste projeto. Tais atividades são descritas nos tópicos subsequentes.

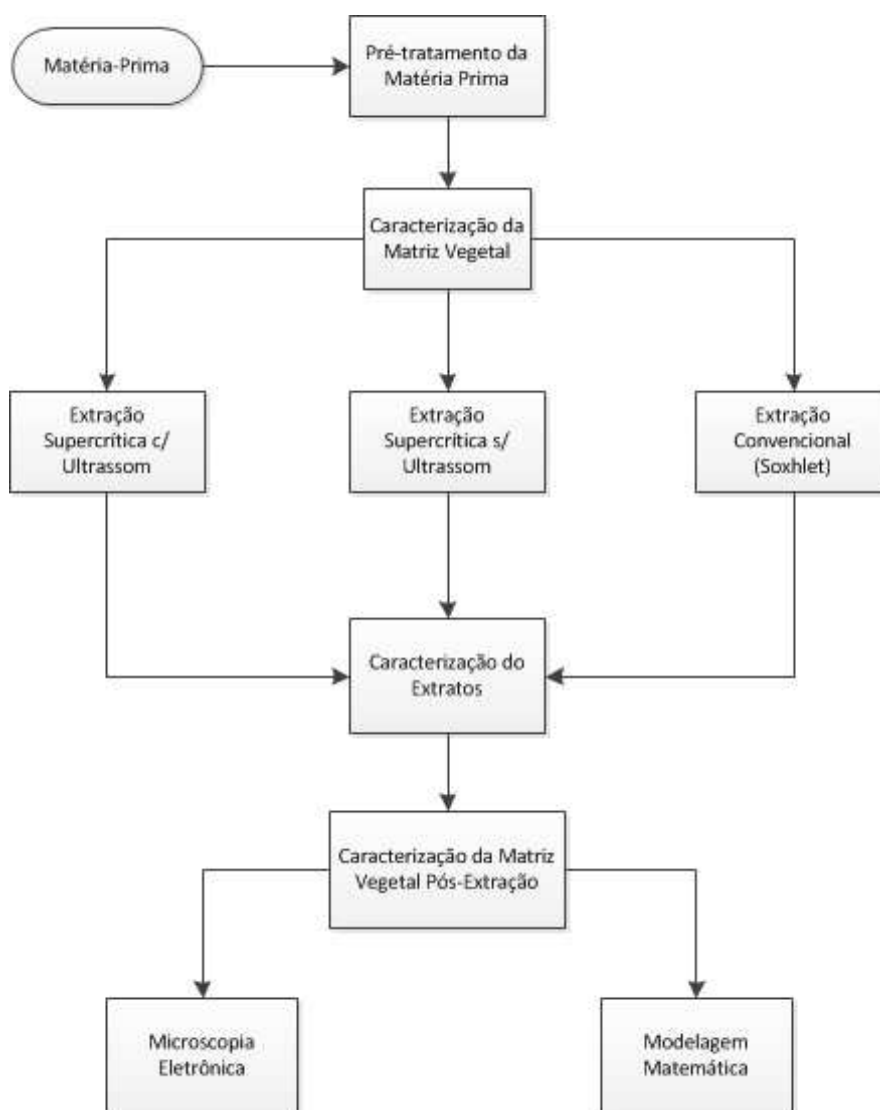


Figura 10- Diagrama com as atividades do projeto.

3.1 Matéria-prima

A matéria-prima foi a pimenta da variedade malagueta (*Capsicum frutescens* L.) adquirida na Central de Abastecimento de Campinas S.A. (CEASA, Campinas-SP). Os frutos foram selecionados quanto à sua integridade física e, posteriormente, higienizados através da imersão em uma solução de 100 ml/l de hipoclorito de sódio durante 20 minutos. Após esse período, os frutos foram enxaguados com água corrente para a retirada do excesso da solução higienizadora e finalmente armazenados em freezer (-8 °C) para futura utilização.

3.1.1 Pré-tratamento

A matéria-prima foi submetida ao processo de secagem em estufa com circulação de ar forçada por $70\pm 2^\circ\text{C}$ durante 20 horas, conforme a metodologia utilizada por Aguiar *et al.*, (2012). Após a secagem, as amostras foram moídas em moinho de facas (Marconi, modelo MA 340, Piracicaba-SP) com o objetivo de homogeneizá-las e diminuir a resistência à transferência de massa durante as etapas de extração. A classificação do material moído foi realizada conforme o tamanho de partículas em um sistema vibratório (Bertel, modelo 1868, Caieiras-SP) com peneiras de abertura de 16 a 80 mesh (série Tyler, Wheeling, EUA). As massas retidas sobre cada peneira foram pesadas em balança analítica (Radwag, modelo AS 220/C/2, São Paulo-SP), separadas e acondicionadas em embalagens plásticas e novamente congeladas (-8 °C). A Figura 11 apresenta as etapas de pré-processamento da matéria-prima até a obtenção da matriz vegetal utilizada nos ensaios de extração.

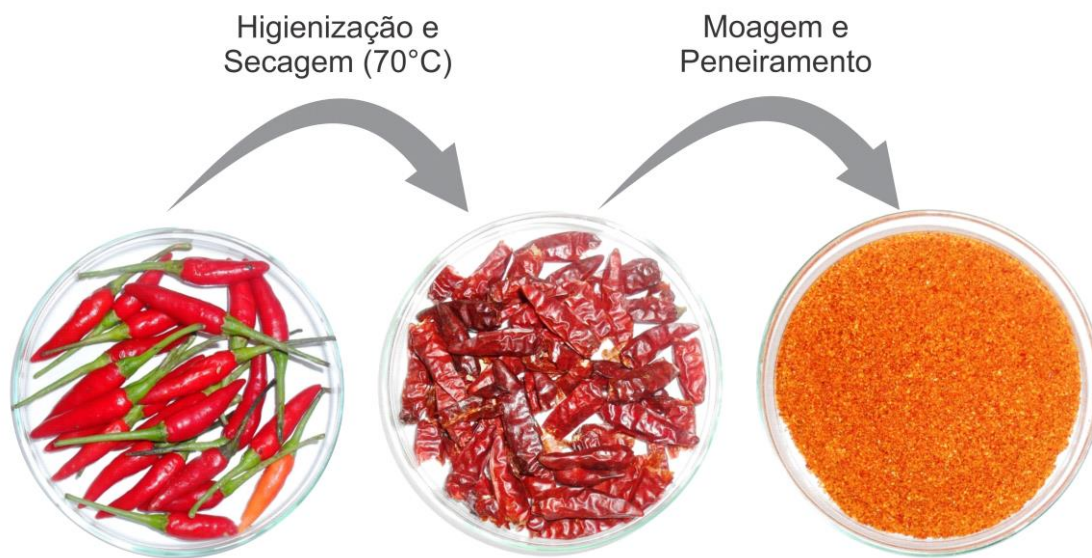


Figura 11 – Etapas de pré-processamento da matéria-prima até a obtenção da matriz vegetal utilizada nos ensaios de extração.

3.1.2 Caracterização físico-química

A matéria-prima desidratada e moída foi caracterizada quimicamente pela realização das seguintes análises: extração de capsaicínoides, conforme a metodologia de Barbero (2008); determinação do teor de capsaicina por cromatografia líquida alta eficiência (descrita na seção 3.5.1); teor de fenólicos totais por espectrofotometria conforme Singleton, Orthofer e Lamuela-Raventós (1999) (descrita na seção 3.5.2) e umidade (A.O.A.C., 1998).

As amostras foram submetidas à extração Soxhlet (I.A.D., 2005), descrita na seção 3.4.2, a fim de comparar os rendimentos obtidos com os encontrados nos ensaios de extração supercrítica. A determinação de lipídios totais foi realizada por Soxhlet utilizando Hexano como solvente. As concentrações de capsaicínoides e de fenólicos totais nos extratos foram medidas conforme descrito nas seções 3.5.1 e 3.5.2, respectivamente.

3.2 Caracterização da matriz vegetal

3.2.1 Caracterização do leito de partículas

O leito de partículas foi caracterizado através da determinação do diâmetro médio de partícula, da massa específica aparente, massa específica real e da porosidade do leito. As metodologias utilizadas são descritas a seguir.

O diâmetro médio das partículas foi determinado através do modelo proposto por A.S.A.E. (1998), conforme a Equação 13.

$$d_{mg} = \exp \left\{ \frac{\sum_{i=1}^n [w_i \cdot \log(d_i \cdot d_{i+1})^{0,5}]}{\sum_{i=1}^n w_i} \right\} \quad \text{Equação 13}$$

onde: d_{mg} é diâmetro médio das partículas (mm); d_i é a abertura da i -ésima peneira (mm); d_{i+1} é a abertura nominal da peneira maior que a i -ésima peneira (mm); w_i é massa retida na i -ésima peneira; n é o número total de frações.

A massa específica aparente (ρ_a) do leito de partículas foi obtida pela relação entre a massa de amostra utilizada nas extrações pelo volume do leito, incluindo assim apenas os poros do leito e não os poros do interior das partículas.

A massa específica real (ρ_r) foi obtida pelo método de picnometria com gás hélio na Central Analítica da Unicamp. O equipamento utilizado foi o Picnômetro automático Quantachrome Ultrapyc modelo 1200e.

A porosidade do leito de extração foi determinada através da massa específica real e aparente das amostras, incluindo os poros do leito e do interior das partículas, através da Equação 14.

$$\varepsilon = 1 - \frac{\rho_a}{\rho_r} \quad \text{Equação 14}$$

3.2.2 Microscopia eletrônica de varredura com fonte de emissão de campo (FESEM)

A estrutura das amostras antes e depois da extração supercrítica foi analisada utilizando-se um microscópio eletrônico de varredura equipado com um canhão de emissão de campo (FESEM - FEI Quanta 650). Antes da análise, as amostras secas e moídas foram cobertas com ouro (Au) em um metalizador SCD 050 (Oerlikon-Balzers, Balzers, Liechtenstein). Ambos os equipamentos estavam disponíveis no Laboratório Nacional de Nanotecnologia (LNNano), localizado em Campinas-SP. Foram analisadas morfologicamente amostras do epicarpo dos frutos de pimenta, sendo que as partículas de pericarpo moídas foram separadas das partículas de pedúnculos e de sementes com o auxílio de uma pinça e de um microscópio óptico. As análises das superfícies das amostras foram realizadas sob vácuo, usando uma tensão de aceleração de 5 kV. Um grande número de imagens foi obtida em diferentes áreas das amostras (pelo menos 20 imagens por amostra) para garantir a reprodutibilidade dos resultados.

3.3 Unidade de extração supercrítica

A unidade de extração utilizada nos experimentos é composta de uma célula de extração com volume de 300 mL, que suporta pressões de até 45 MPa. A unidade é equipada com um banho de refrigeração que controla a temperatura do CO₂ na entrada da bomba, um banho de aquecimento e uma manta de aquecimento que mantém a temperatura do extrator de aço inox. A unidade ainda conta com uma bomba de solvente, um totalizador de vazão, termopar e manômetro.

Uma sonda ultrassônica, com macroponta de titânio de 13 mm de diâmetro, ligada a um transdutor marca *Unique Group*, modelo DES500 (transdutor piezoelétrico), é a responsável pelo controle da potência do ultrassom, que pode ser ajustada de 10 a 99% da potência total (800 W). A Figura 12 mostra o diagrama esquemático da unidade de extração supercrítica assistida por ultrassom.

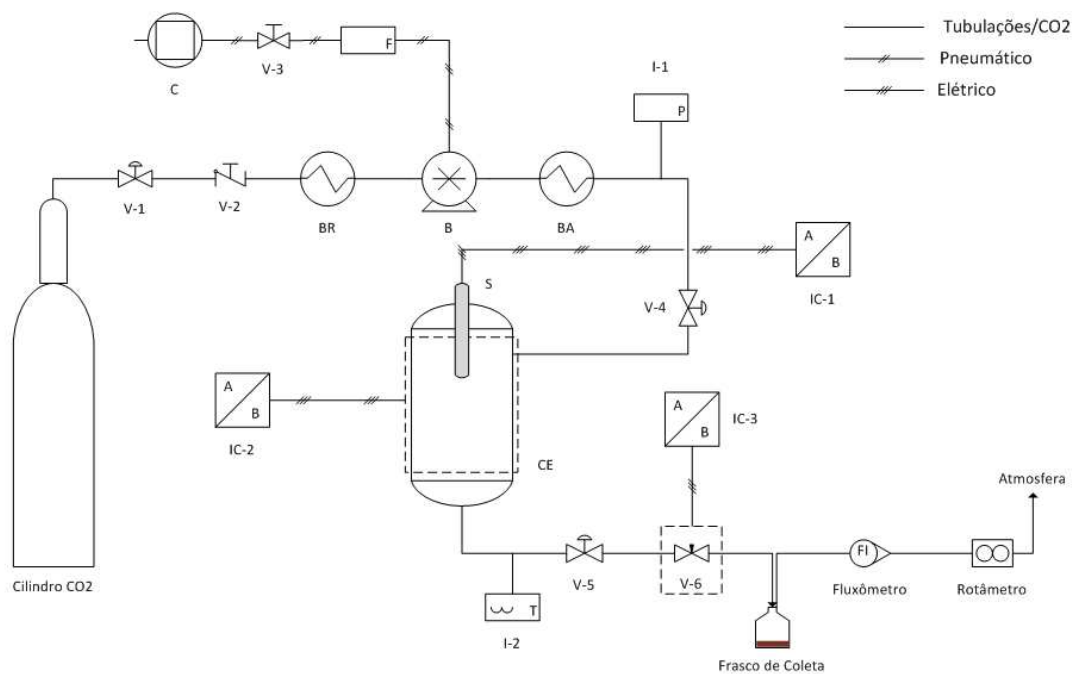


Figura 12 - Diagrama esquemático da unidade de extração supercrítica com dióxido de carbono assistida por ultrassom; V-1, V-2, V-3, V-4 e V-5 – Válvulas de bloqueio; V-6 – Válvula micrométrica; C- Compressor; F-Filtro de ar comprimido; BR – Banho de refrigeração; B- Bomba (*Booster*); BA – Banho de aquecimento; I-1 e I-2 – Indicadores de pressão e temperatura, respectivamente; IC-1, IC-2 e IC-3 – Controladores de potência ultrassônica, temperatura da célula de extração e da temperatura da válvula micrométrica, respectivamente; CE – Célula de extração (300 mL); S – Sonda ultrassônica.

O dióxido de carbono, com 99,0 % de pureza (White Martins, Campinas/SP), estocado no reservatório, é resfriado a 263 K no banho ultratermostatizado (Marconi, modelo MA184, Piracicaba-SP) que opera com etileno glicol. Desta forma, o CO₂ é liquefeito na entrada da bomba pneumática, evitando a cavitação da mesma. A bomba, por sua vez, comprime o solvente até a pressão de extração. O estado supercrítico é atingido por troca térmica através de uma serpentina instalada dentro de um banho de aquecimento, que está regulado em uma determinada temperatura (40°C). A temperatura do processo é monitorada pelos termopares que se encontram em contato com a parede externa e na saída de solvente/soluto do leito de extração. Considera-se que a temperatura indicada seja a

mesma do leito de partículas, uma vez que o extrator é feito de aço inox e por isso possui alta condutividade térmica. O solvente escoar através do leito de extração e a vazão é controlada pela válvula micrométrica (agulha), que se encontra na saída da linha. Esta válvula possui um sistema de aquecimento elétrico monitorado por um termopar com o objetivo de diminuir os efeitos da expansão Joule-Thomson. Através da válvula micrométrica o solvente é despressurizado automaticamente até a pressão ambiente e o soluto é precipitado no recipiente de coleta de 100 ml. O CO₂, agora na fase gasosa, passa pelo fluxômetro, que permite monitorar a vazão do solvente no processo. Antes de ser liberado para o meio ambiente, o CO₂ atravessa o totalizador de vazão (LAO, modelo G 0,6±0,001 m³; São Paulo-SP) que permite calcular o volume total de solvente usado no processo. A Figura 13 apresenta a unidade de extração supercrítica assistida por ultrassom.



Figura 13 – Unidade de extração com dióxido de carbono supercrítico assistido por ultrassom.

O procedimento operacional padrão de uso da unidade para um processo de extração supercrítica é descrito a seguir.

1. Verificar que todas as válvulas estão fechadas e se a válvula micrométrica V-6 está aberta $\frac{1}{4}$ de volta;
2. Verificar se o compressor (C) de ar está ligado e se há ar comprimido na linha;
3. Ligar o banho ultratermostatizado (BR) e aguardar que alcance a temperatura de 263 K (-10 °C);
4. Ligar o banho de aquecimento (BA) a temperatura de trabalho;
5. Conectar a célula de extração (CE) devidamente empacotada;
6. Conectar a jaqueta de aquecimento da célula de extração;
7. Programar a temperatura da jaqueta de aquecimento da célula de extração conforme a temperatura do ensaio através do controlador IC-2;
8. Programar a temperatura da válvula micrométrica (geralmente entre 110 e 130 °C) através do IC-3;
9. Programar a potência ultrassônica através do controlador IC-1;
10. Aguardar a estabilização das temperaturas programadas;
11. Conectar o recipiente de coleta na linha;
12. Abrir as válvulas V-1, V-2 e V-4 permitindo a passagem do CO₂ e aguardar a estabilização da pressão;
13. Ajustar a pressão de operação na bomba (B) através da válvula V-4 e acompanhar a pressão no manômetro I-1;
14. Aguardar a pressurização do sistema até a pressão estabelecida;
15. Abrir lentamente a válvula V-5, em caso de uso da sonda ultrassom, ligar a geração de ultrassom (IC-1);
16. Controlar a vazão através de válvula V-6 e verificar a vazão no fluxômetro (FL);
17. Acompanhar o indicador de temperatura I-2, e em caso de defasagem com a temperatura de trabalho, regular novamente IC-3;

18. Acompanhar a extração até o fim do tempo determinado ou até o consumo determinado de solvente;
19. Após o fim, fechar a válvula V-3, para encerrar o funcionamento da bomba, e despressurizar o leito fechando a válvula V-4;
20. Aguardar a despressurização do leito de extração;
21. Desconectar o leito de extração da linha;
22. Fazer a limpeza da linha com etanol, para recuperar traços de extratos retidos;
23. Usar o rota-evaporador para retirada do etanol e recuperação do extrato.

3.4 Planejamento dos experimentos

Inicialmente, foram realizadas extrações para a determinação do tempo de extração para os ensaios de rendimento global e calibração dos equipamentos, nas condições otimizadas por Aguiar *et al.*, (2012), que estudou a influência da pressão e temperatura do dióxido de carbono supercrítico sobre o rendimento global e o teor de capsaicínides do extrato na SFE de pimenta malagueta. Posteriormente, foram realizados os ensaios para avaliar a influência das variáveis do processo, tempo de radiação do ultrassom e potência ultrassônica, sobre o rendimento global. Cada experimento foi conduzido com massa de matéria-prima constante e sempre visando à obtenção de extrato suficiente para realizar as análises físico-químicas. Nos ensaios de rendimento global também foi mantida constante a razão entre massa de matéria-prima e de solvente utilizados (S/F). Por fim, foi estudada a influência do tamanho de partícula sobre a cinética de extração supercrítica assistida por ultrassom. Tais etapas são descritas a seguir.

3.4.1 Experimentos de rendimento global

Nos experimentos de rendimento global foi estudada a influência das variáveis do processo de ultrassom na extração supercrítica de pimenta vermelha, variando a potência de

180 a 360 W e o tempo de aplicação do ultrassom de 60 a 240 minutos durante as cinco horas de extração, e os resultados foram comparados com os obtidos com o método de extração convencional (Soxhlet).

Os ensaios foram realizados em duplicata e os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e teste de Tukey, a 5% de significância, utilizando o *software* Statistica 6.0. A Tabela 5 apresenta o planejamento experimental completamente aleatorizado utilizado neste trabalho.

Tabela 5 – Planejamento experimental completamente aleatorizado, com as variáveis: método, solvente, potência e tempo de radiação do ultrassom.

Método	Solvente	Polaridade ¹
Soxhlet	Acetato de Etila	0,0
	Diclorometano	3,1
	Éter Etílico	4,4
	Hexano	0,0
SFE	Potência (W)	Tempo ² (min)
SFE (40°C, 15 MPa)	-	-
SFE+US	360	240
SFE+US	360	150
SFE+US	360	60
SFE+US	280	240
SFE+US	280	150
SFE+US	280	60
SFE+US	200	240
SFE+US	200	150
SFE+US	200	60

SFE – *Extração Supercrítica*; US – Ultrassom; ¹Fonte: Byers (2009); ²Tempo de radiação do ultrassom em minutos.

As variáveis de resposta foram o rendimento global (X_0) de extração, que foi calculado pela razão entre a massa de extrato (m_{ext}) obtida e a massa de amostra (matriz vegetal) (M) utilizada para formar o leite, conforme a Equação 15, além das respostas experimentais de concentração de capsaicoides totais, capsaicina (C), dihidrocapsaicina (DHC), nordihidrocapsaicina (n-DHC) e homohidrocapsaicina (h-DHC) e a concentração de fenólicos totais.

$$X_0 = \frac{m_{ext}}{M} \times 100$$

Equação 15

3.4.2 Extração a baixa pressão - Soxhlet

A fim de comparar a extração supercrítica com uma extração convencional usando solvente orgânico, as amostras foram submetidas à técnica convencional de extração Soxhlet (I.A.L., 2005), cujo esquema de funcionamento está representado na Figura 14.

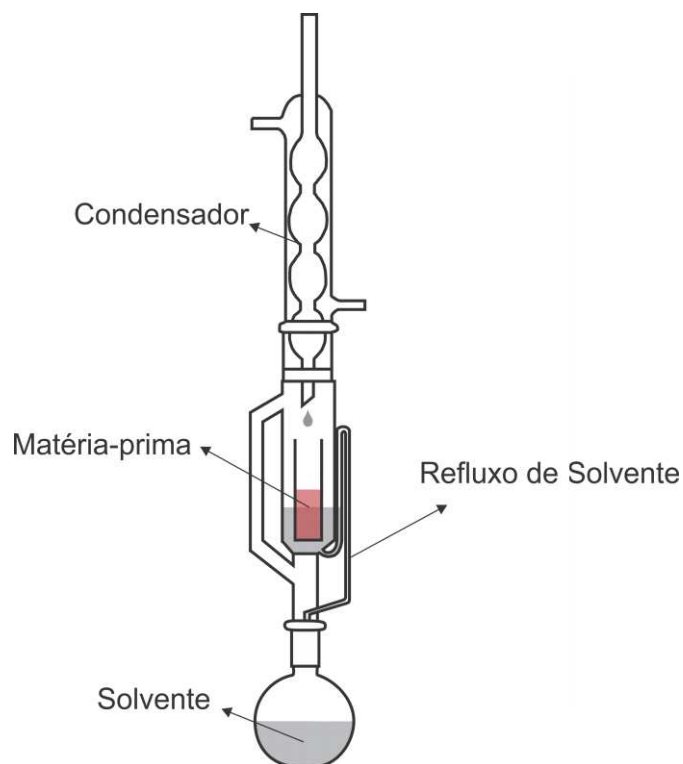


Figura 14 – Aparato experimental utilizado nos experimentos de extração a baixa pressão (Soxhlet).

Aproximadamente cinco gramas de matriz vegetal seca e moída foram pesadas em um cartucho de papel filtro, sendo o mesmo inserido em um extrator tipo Soxhlet. A razão mássica entre solvente e matéria-prima foi de 1:30 e o tempo de extração foi de seis horas. Foram utilizados quatro solventes diferentes: hexano P.A. (Êxodo Científica/Hortolândia-SP, Brazil A), diclorometano P.A. (Êxodo Científica), éter etílico P.A. (Êxodo Científica) e

acetato de etila P.A. (Êxodo Científica). Ao final de seis horas o extrato foi recolhido e o solvente residual evaporado sob vácuo em um evaporador rotativo (Heildoph Instruments modelo Laborota 4001, Viertrieb, Alemanha). Todos os experimentos foram realizados em duplicata.

3.4.3 Experimentos cinéticos

Os experimentos cinéticos, para a obtenção das curvas de extração supercrítica, foram realizados através da determinação da massa de extrato, ou rendimento global (conforme Equação 15) em função do tempo de extração. Os frascos de coleta foram previamente pesados em balança analítica e a coleta do soluto extraído foi realizada em intervalos de tempo pré-determinados. A massa de extrato obtida foi aferida em balança analítica (Sartorius, Modelo A200S, Gottingen, Alemanha) e os frascos foram armazenados sobre refrigeração até o momento da caracterização dos mesmos.

A fim de verificar a influência do diâmetro de partícula sobre a cinética de extração supercrítica assistida por ultrassom, tal variável foi fixada em dois intervalos diferentes: 1,68 a 1,18 mm e 0,342 a 0,177 mm, para o primeiro e o segundo intervalo, respectivamente. Todos os ensaios foram conduzidos com a mesma vazão de solvente ($1,673 \times 10^{-4}$ kg/s), temperatura (40° C) e pressão (15 MPa) dos ensaios de rendimento global. Porém, com a finalidade de utilizar esses dados para a modelagem matemática, o leito de partícula foi configurado com aproximadamente 20 gramas de matriz vegetal colocados no centro da célula de extração, os espaços vazios foram preenchidos com material inerte (esferas de vidro) e lã de vidro foi utilizada para separar a matriz vegetal do material inerte. A Figura 15 ilustra a configuração do leito de extração utilizada em tais ensaios.

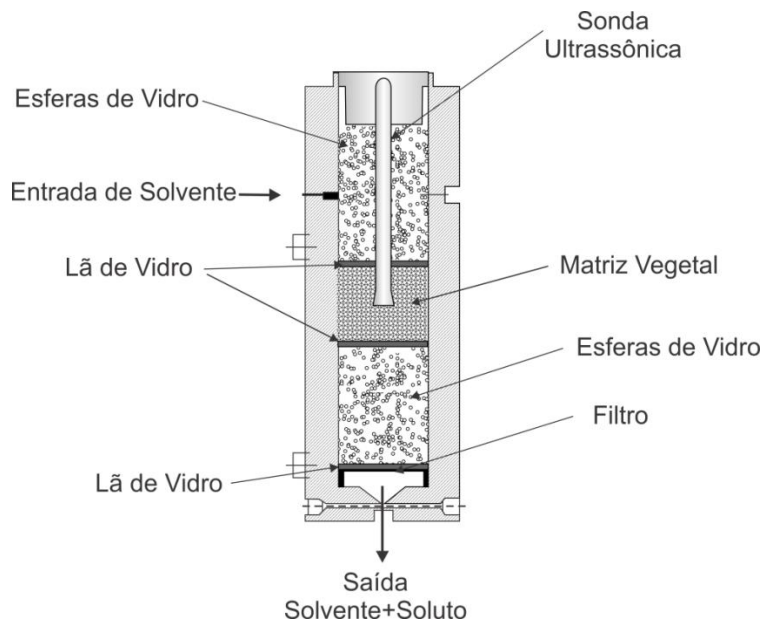


Figura 15 – Configuração do leito de extração utilizado nos ensaios cinéticos de SFE assistida por ultrassom.

3.5 Caracterização dos extratos

Aproximadamente 1 g dos extratos obtidos por dióxido de carbono supercrítico, assistido e não assistido por ultrassom e por Soxhlet foram pesados, diluídos em metanol (Êxodo Científica), ajustados a um volume de 10 mL, e filtrados com o auxílio de filtros millex PVDF 0.22 μm (Millipore). Por fim, as amostras foram submetidas a um banho ultrassônico (135 W/25 kHz - *Unique ultracleaner* 1450) durante 10 minutos com a finalidade de homogeneizar os extratos. As amostras da matriz vegetal desidratada foram submetidas ao mesmo processo em banho ultrassônico, conforme a metodologia de Barbero *et al.*, (2008). Uma alíquota de 1,5 mL da solução metanol/extrato foi acondicionada em um frasco âmbar para análise cromatográfica e o restante foi utilizado para análise de fenólicos totais. As metodologias das análises químicas são descritas abaixo.

3.5.1 Teor de capsaicinoides

A análise do teor de capsaicinoides totais foi realizada por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) em um sistema cromatográfico Dionex (Sunnyvale, CA, EUA), que consiste em um injetor automático de amostras (ASI-100), uma bomba (P680), um compartimento de coluna termostática (TCC-100), um agrupamento de detectores de fotodiodos (PDA-100), uma interface de cromatografia universal (UCI-50) e do *software* Chromeleon 6.60. Os capsaicinoides foram separados usando um LiChrospher RP-18e (250 mm x 4 mm, 5 µm ID, Merck). O comprimento de onda utilizado para a detecção foi de 280 nm.

O método de separação cromatográfica utilizado foi através de gradientes de dois solventes: água acidificada (0,1% de ácido acético, solvente A) e metanol acidificado (0,1% de ácido acético, solvente B), funcionando a uma vazão de 1 mL/min. O método do gradiente utilizado foi o seguinte: 0 min, 0% de B, 2 min, 55% de B, 6 min, 55% de B, 7 min, 60% de B, 12 min, 60% de B, 14 min, 65% de B, 15 min, 65% de B, 20 min, 70% de B, 25 min, 70% de B e em 27 min, 10% de B. A temperatura da coluna foi mantida constante a 25 °C.

O método foi utilizado para preparar as curvas de calibração para a capsaicina e a dihidrocapsaicina, que são os dois padrões de capsaicinoides disponíveis comercialmente. As equações de regressão e os coeficientes de correlação são apresentados nos Anexos I e II respectivamente. Os limites de detecção foram de 9,76 mg/L para capsaicina e 4,10 mg/L para dihidrocapsaicina, e os de quantificação foram de 32,55 mg/L para capsaicina e 13,67 mg/L para a dihidrocapsaicina. A capsaicina e a dihidrocapsaicina foram quantificadas a partir de curvas de calibração obtidas com as soluções-padrão. Uma vez que não existem padrões comerciais para nordihidrocapsaicina e homodihidrocapsaicina, estes compostos foram quantificados a partir da curva de calibração de dihidrocapsaicina, dadas as semelhanças estruturais entre estas moléculas e tendo em conta os seus pesos moleculares próximos. Todas as análises foram realizadas em triplicata. Tais análises foram realizadas na Universidade de Cádiz, Espanha/Puerto Real, Cádiz, Faculdade de Ciências, no Departamento de Química Analítica.

3.5.2 Teor de Fenólicos Totais

O conteúdo de compostos fenólicos totais foi determinado por espectrofotometria utilizando o método de Folin-Ciocalteu, conforme a metodologia proposta por Singleton, Orthofer e Lamuela-Raventos (1999) com modificações: 2,5 mL de reagente de Folin-Ciocalteu (Dinâmica, SP, Brazil) foram diluídos (1:10 v/v) em água destilada e adicionados a 0,5 ml de solução de extrato de pimenta malagueta diluído em metanol. Após 5 minutos foram adicionados 2,0 mL de solução de carbonato de sódio (7,5%). As soluções permaneceram por duas horas ao abrigo da luz, e posteriormente a absorbância foi medida em um comprimento de onda de 760 nm com a utilização de uma cubeta de quartzo. A curva de calibração foi confeccionada com ácido gálico (Sigma-Aldrich St. Louis, MO, USA) e os resultados foram expressos como miligramas de equivalentes de ácido gálico (EAG) por grama de matriz vegetal desidratada. No Anexo IV se encontra a curva de calibração utilizada para o cálculo do teor de fenólicos totais.

3.6 Caracterização da matriz vegetal pós-extração

Após as extrações assistidas e não assistidas por ultrassom, as amostras da matriz vegetal foram analisadas através de uma microscopia eletrônica de varredura, conforme descrito na Seção 3.2.2.

3.7 Modelagem matemática

A modelagem matemática das curvas de extração foi realizada com o intuito de avaliar a influência das condições de processo no ajuste das curvas experimentais de extração supercrítica de pimenta, nos valores dos parâmetros ajustados, bem como identificar os mecanismos mais importantes do processo. No ajuste do modelo de Sovová (1994) foram empregados métodos de minimização local da função objetivo (f). A aplicação dos métodos numéricos de ajuste foi feita utilizando ferramentas computacionais.

A modelagem consistiu no ajuste individual de cada curva experimental. Foi usado o *software* Force Fortran Compiler and Editor 2.0.9, aplicando a rotina de Powell (2009). Os dados de processo necessários para aplicar o modelo são: rendimento da extração X_0 (kg extrato/kg sólido), altura e diâmetro da coluna de extração (H e d); massa de sólido (M), diâmetro médio da partícula (d_{mg}), massa específica do solvente (ρ_s), massa específica aparente do sólido (ρ_a), porosidade do leito (ϵ), solubilidade do extrato no solvente (Y^*), vazão de solvente (Q_{CO_2}) e o conjunto de dados da massa de extrato acumulado (m_{ext}) e o respectivo tempo (t). Os parâmetros ajustáveis do modelo de Sovová (1994) são: a razão de soluto de difícil acesso na matriz vegetal (X_k) e os coeficientes de transferência de massa na fase fluida (k_{yA}) e na fase sólida (k_{xA}).

A rotina usada é um método iterativo de ajuste que trabalha com uma faixa de valores dos parâmetros estipulada pelo usuário em um número limitado de iterações. Dentro desta faixa, a rotina busca os valores dos parâmetros que minimizam a função objetivo (f), que é definida como a soma dos quadrados dos resíduos, conforme mostra a Equação 16.

$$f = \sum_{t=0}^{t_{ext}} [m_{ecalc}(t) - m_{eexp}(k_{ya}; k_{xa}; x_k; t)]^2 \quad \text{Equação 16}$$

O ajuste de cada curva foi feito em 1500 iterações usando as seguintes faixas de valores para os parâmetros: k_{yA} entre 0 e $0,08 \text{ s}^{-1}$ e k_{xA} entre 0 e $0,05 \text{ s}^{-1}$; e X_k conforme o diâmetro de partícula, de forma que a relação entre seu valor e seu respectivo rendimento global tenha o valor máximo de $X_k = X_0$.

O valor usado de solubilidade do soluto no solvente supercrítico (Y^*) foi de $0,0031665 \text{ kg de extrato / kg de solvente}$, obtido por Silva (2013) que realizou a modelagem matemática das cinéticas de extração supercrítica de pimenta variedade malagueta (*Capsicum frutescens* L.) com dióxido de carbono nas condições de 40° C e 15 MPa .

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nesta seção os resultados obtidos neste estudo estão divididos em duas partes: na primeira etapa, são apresentadas a caracterização da matéria-prima, os resultados dos experimentos de rendimento global, bem como os resultados das análises químicas dos extratos e a microscopia eletrônica de varredura do matriz vegetal; na segunda etapa, são apresentadas as cinéticas de extração e a modelagem matemática das curvas obtidas para a extração utilizando fluido supercrítico assistida por ultrassom com diferentes diâmetros de partícula.

4.1 Caracterização da matriz vegetal

As características físico-químicas da matéria-prima pimenta variedade malagueta desidratada, utilizada nos experimentos de extração são apresentadas na Tabela 6.

Tabela 6 – Características da matéria-prima pimenta malagueta (*Capsicum frutescens* L.) utilizada no presente trabalho.

Característica	<i>Capsicum frutescens</i> L.
Diâmetro Médio de Partícula	0,94 ± 0,03 mm
Densidade Real	1320 ± 10 kg.m ³
Umidade de equilíbrio	5,68 ± 0,04 %
Lipídios Totais	9,7 ± 0,1 %
Capsaicinoides Totais	3,9 ± 0,2 (mg/g matéria-prima)
Capsaicina	2,3 ± 0,5 (mg C/g matéria-prima)
Dihidrocapsaicina	1,5 ± 0,3 (mg DHC/ g matéria-prima)
Nordihidrocapsaicina	0,10 ± 0,02 (mg n-DHC/ g matéria-prima)
Homodihidrocapsaicina	0,04 ± 0,02 (mg h-DHC/ g matéria-prima)
Fenólicos Totais	0,858±0,005 (mg EAG/g matéria-prima)

Verifica-se na Tabela 6 que os valores do diâmetro médio de partícula estimado pelo método de A.S.A.E. (1998) estão em concordância com a distribuição granulométrica

demonstrada na Figura 16. Observa-se que a maior quantidade de massa retida (%) foi observada nas peneiras de aberturas de 1,18 a 1,68 mm e 0,723 a 1,18 mm, ou seja, o valor obtido para o diâmetro médio encontra-se entre os valores de 0,723 e 1,68 mm. Outro fato relevante observado nos experimentos de determinação granulométrica foi a grande quantidade de sementes presentes na peneira de abertura entre 1,18 e 1,68 mm e de pericarpo nas peneiras com aberturas menores que 1,18 mm. Com a finalidade de evitar entupimentos na linha de extração, a massa retida nas peneiras com aberturas menores que 0,177 mm foram separadas do lote de matriz vegetal.

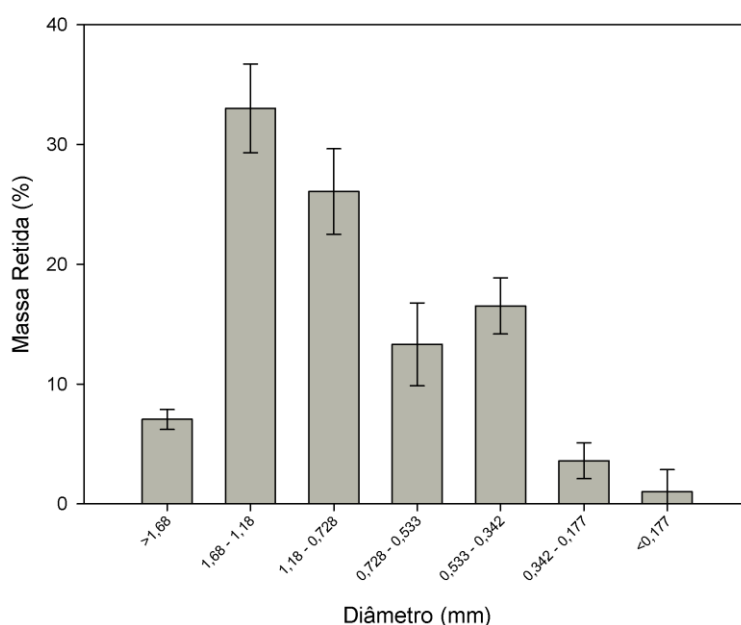


Figura 16 - Distribuição granulométrica da matriz vegetal: pimenta variedade malagueta submetida ao processo de secagem em estufa e moagem em moinho de facas, com o respectivo desvio-padrão.

A umidade inicial da matéria-prima *in natura* foi de 61 ± 1 % (b.u.), e após 20 horas de secagem em uma estufa com circulação de ar forçada a uma temperatura de 70 ± 2 °C alcançou-se a umidade de equilíbrio de $5,68 \pm 0,04$ %, valor próximo ao obtido por Nogueira *et al.*, (2005). O teor de lipídios totais, ou seja, o rendimento obtido pela técnica de Soxhlet com hexano foi de $9,7 \pm 0,1$. Jordão e Bonnas (1996), ao avaliarem a composição centesimal

da pimenta malagueta, obtiveram um rendimento de 11,1%, valor próximo ao obtido neste trabalho. Porém, devido ao grande número de genótipos de pimenta, à facilidade do cruzamento de espécies e à sensibilidade ao estresse fisiológico, pode ocorrer uma grande variação nos dados de composição físico-química encontrados na literatura (ESTRADA *et al.*, 1998; ESTRADA *et al.*, 1999; SHAHIDI e NACZK, 2003). Segundo Shahidi e Naczk (2003), os frutos de pimentas colhidos durante os meses junho e setembro contêm altos níveis de capsaicinoides, enquanto que os frutos colhidos no mês de outubro e que sofreram um estresse hídrico, devido à falta de chuvas característica do período de plantio, apresentam uma menor produção de capsaicinoides.

4.2 Avaliação do rendimento global

A avaliação do rendimento global iniciou-se com a determinação do tempo de extração, que foi fixado em 5 horas após a análise da curva de extração supercrítica de pimenta malagueta obtida em 15 MPa, 40 °C, uma vazão de solvente de $1,673 \times 10^{-4}$ kg/s e sem ultrassom, conforme a Figura 17.

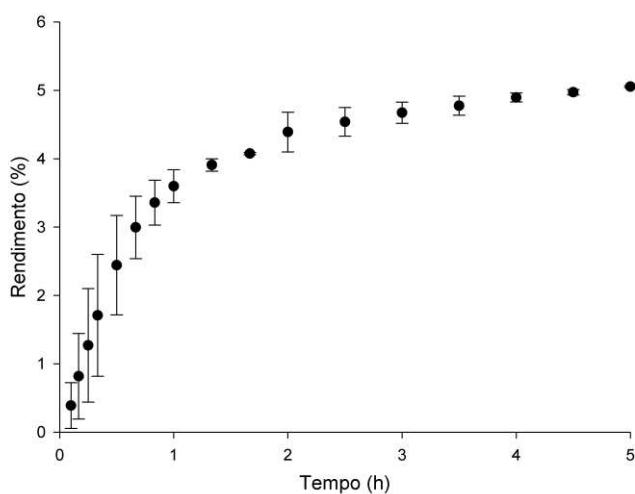


Figura 17 – Cinética de extração supercrítica de pimenta malagueta a 15 MPa, 40 °C e uma vazão de solvente de $1,673 \times 10^{-4}$ kg/s.

Verifica-se, através da Figura 17, o comportamento característico de uma curva de extração com fluido supercrítico. Primeiramente, ocorre a extração dos compostos de fácil acesso ao solvente, na etapa conhecida como período de taxa de extração constante. Posteriormente, quando o soluto de fácil acesso começa a se esgotar, a difusão intraparticular torna-se o principal mecanismo de transferência de massa. Logo, a curva de extração assume um formato típico de uma curva difusional, com diminuição da taxa de extração, até que o rendimento global seja atingido. O mesmo comportamento foi observado por Daood *et al.*, (2002), ao estudarem a extração de oleorresina de páprica, e por Kwon *et al.*, (2011) que analisaram extrações com dióxido de carbono supercrítico de pimentas vermelhas em seis pressões e quatro temperaturas diferentes.

A relação entre massa de solvente utilizada por massa de material de alimentação (matriz vegetal) (S/F) foi de aproximadamente 600 ± 2 (kg de solvente/kg de matriz vegetal). Tal valor é alto comparado aos valores utilizados por Duarte *et al.*, (2004), Daood *et al.*, (2002) e Perva-Uzunalic *et al.*, (2004) que foram de 170, 30 e 120 kg de solvente por kg de pimenta, respectivamente. Portanto, o alto S/F utilizado deve garantir o esgotamento de soluto na matriz vegetal e sua aplicação nos experimentos de rendimento global.

A Tabela 7 mostra os valores experimentais obtidos para o rendimento global de oleorresina de pimenta malagueta obtida através de extrações a baixa pressão, com diferentes solventes e suas polaridades, e com fluido supercrítico, assistido e não assistido por ultrassom.

Tabela 7 - Rendimento global para oleoresina de pimenta malagueta obtida através de extrações a baixa pressão e com fluido supercrítico, sem e com ultrassom, a 15 MPa, 40 °C e uma vazão de solvente de $1,673 \times 10^{-4}$ kg/s.

Método	Solvente	Polaridade*	Rendimento (%)
Soxhlet	Acetato de Etila	0,0	9,2±0,2 ^a
	Diclorometano	3,1	9,3±0,3 ^a
	Éter Etilico	4,4	8,6±0,4 ^a
	Hexano	0,0	9,7±0,1 ^a
SFE	Potência (W)	Tempo** (min)	Rendimento (%)
SFE (40 °C, 15 MPa)	-	-	5,7±0,1 ^f
SFE+US	360	240	7,2±0,1 ^{cde}
SFE+US	360	150	7,1±0,1 ^{cde}
SFE+US	360	60	7,3±0,2 ^{bc}
SFE+US	280	240	7,2±0,8 ^{cd}
SFE+US	280	150	6,4±0,1 ^{cdef}
SFE+US	280	60	6,0±0,5 ^{def}
SFE+US	200	240	6,9±0,2 ^{cdef}
SFE+US	200	150	6,0±0,1 ^{cdef}
SFE+US	200	60	5,9±0,1 ^{ef}

SFE – *Extração supercrítica*; US – *Ultrassom*; *Fonte: Byers (2009) **Tempo de radiação do ultrassom; Médias seguidas das mesmas letras não diferem entre si ao nível de significância de 5% pelo teste de Tukey.

Pode-se verificar na Tabela 7 que os rendimentos globais obtidos pelo método de Soxhlet diferenciaram-se dos valores de rendimento global obtidos nas extrações com CO₂ supercrítico assistido e não assistido por ultrassom, em todas as condições estudadas. Tal comportamento é explicado devido às condições de temperatura, reciclo do solvente e interações solvente/soluto do método de Soxhlet, que contribuem para a maior solubilização dos solutos da matéria-prima. Além disso, na extração Soxhlet, a temperatura de ebulição do solvente é alta, a tensão superficial e viscosidade são baixas em comparação com a temperatura utilizada pela extração supercrítica e os valores de tensão superficial e viscosidade do dióxido de carbono. Portanto, o solvente atinge locais ativos no interior da matriz sólida com muito mais facilidade, promovendo a solubilização dos solutos no solvente (MARKOM *et al.*, 2007; MAZZUTTI *et al.*, 2012).

Além dos fatores que influenciam no método convencional, os maiores rendimentos foram obtidos para solventes apolares e de baixa polaridade, como o hexano, diclorometano e acetato de etila, aproximadamente 9,7, 9,4 e 9,2 % (kg de extrato/ kg de matriz vegetal),

respectivamente. Duarte *et al.*, (2004) obtiveram um rendimento global para a extração de oleorresina de pimenta malagueta (*Capsicum frutescens* L.) de 10,1% (kg de extrato/ kg de matéria-prima), utilizando o método convencional com hexano como solvente.

A extração com dióxido de carbono supercrítico a 40 °C e 15 MPa teve um rendimento global de 5,7 % de massa de extrato por unidade de massa de pimenta desidratada, conforme mostra a Tabela 7. Considerando que a extração com o método convencional, Soxhlet/Hexano, extraiu toda a oleorresina da matéria-prima, a extração por SFE teve uma taxa de recuperação de aproximadamente 60 %. Por outro lado, a taxa de recuperação quando se aplica ondas ultrassônicas chega a valores de 76 %, o que indica uma melhora na extração.

Pode-se observar, na Tabela 7, que as médias obtidas para a extração somente com dióxido de carbono supercrítico e assistido por ultrassom nas menores condições (200 W por 60, 150 e 240 minutos e 280 W por 60 e 150 minutos) não são diferentes ao nível de 5% ($p \leq 0,05$), ou seja, não ocorre um aumento significativo no rendimento global quando se aplica ondas ultrassônicas de baixa potência e/ou de curta duração na extração de pimenta malagueta. De outra forma, quando ocorre a aplicação de ondas ultrassônicas de alta intensidade, por exemplo, 360 W, as médias obtidas são diferentes ao nível de 5%, demonstrando um efeito positivo do ultrassom na taxa de extração em relação à SFE sem US. A Figura 18 demonstra o efeito da potência ultrassônica do ultrassom em função do tempo de radiação para o rendimento global da extração de oleorresina de pimenta malagueta com dióxido de carbono supercrítico.

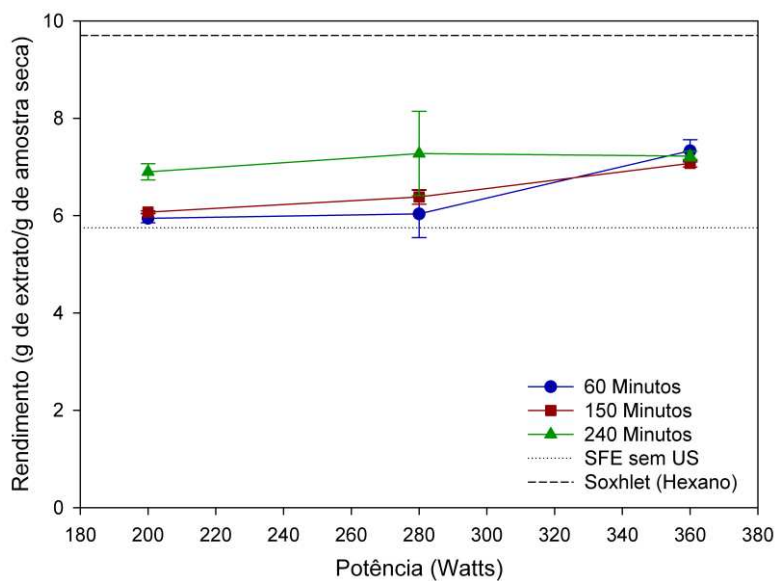


Figura 18 - Efeito da potência de ultrassom em função do tempo de radiação para o rendimento global de oleoresina de pimenta malagueta.

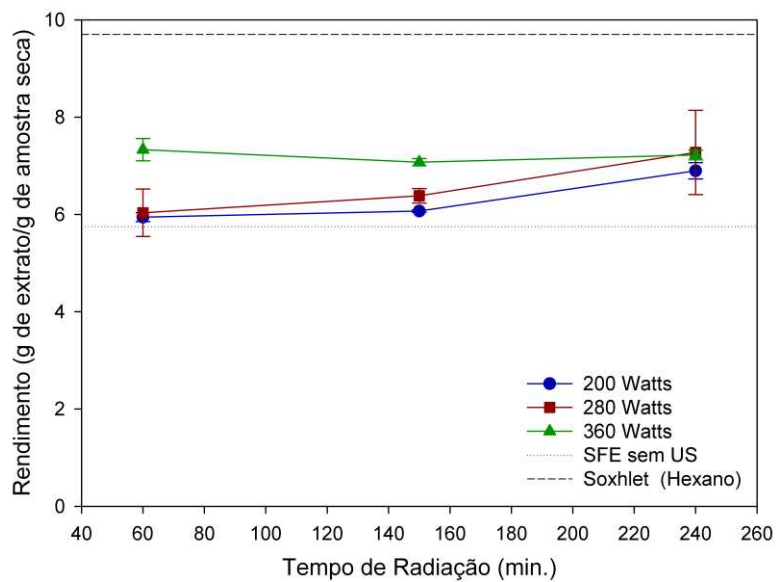


Figura 19 - Efeito do tempo de radiação de extração em função das potências de ultrassom para o rendimento global de oleoresina de pimenta malagueta.

Ao analisarmos a Figura 18 e a Tabela 7, verificamos que na maior potência ultrassônica o efeito de tempo não é significativo nas médias de rendimento global ao nível de 5%. Por outro lado, quando utilizados valores intermediários de potência ultrassônica, 280 W, o efeito do tempo de radiação é visualizado, conforme se observa na Figura 19, ou seja, em um grande tempo de radiação, 240 minutos, a 280 W ocorre um aumento no rendimento em comparação com um tempo de 60 minutos.

Pode-se verificar na Tabela 8 que os efeitos de potência e radiação de tempo do ultrassom foram significativos ao nível de 5%, porém a interação dos dois fatores não foi significativa, demonstrando que, em extrações em baixas potências ultrassônicas, o aumento do tempo de radiação não alterou significativamente o rendimento global de oleorresina de pimenta malagueta. O mesmo comportamento é válido para as extrações em altas potências ultrassônicas, nas quais, independentemente do tempo de radiação, obtiveram-se valores próximos de rendimento global.

Tabela 8 - Análise de variância (ANOVA) dos efeitos do tempo de radiação de ultrassom e a potência ultrassônica aplicada para o rendimento global de oleorresina de pimenta malagueta.

	Fator	GL	SQ	MQ	F _{cal}	p-valor
1	Potência (W)	2	2,6043	1,3022	10,53	0,004
2	Tempo de Radiação (min)	2	1,7513	0,8757	7,08	0,014
	1*2	4	1,0255	0,26564	2,07	0,167
	Erro	9	1,1132	0,1237		
	Total	17	6,4944			

onde: SQ – soma dos quadrados; GL- graus de liberdade; MQ – quadrado médio. $F_{\text{tab}(8;9;0,05)} = 3,23$

As melhores condições de extração com dióxido de carbono supercrítico assistido por ultrassom foram em 360 W a 60 ou 240 minutos para o rendimento global. Logo, como não houve diferença significativa entre as médias de tais experimentos, optou-se em realizar experimentos cinéticos na condição de menor tempo de radiação do ultrassom, pois, em menor tempo consome-se menos energia. Logo o custo do processo é menor. A Figura 20 mostra a cinética de extração supercrítica de pimenta malagueta sem e com ultrassom (360 W por 60 minutos) para o diâmetro médio de partícula ($0,94 \pm 0,03$ mm).

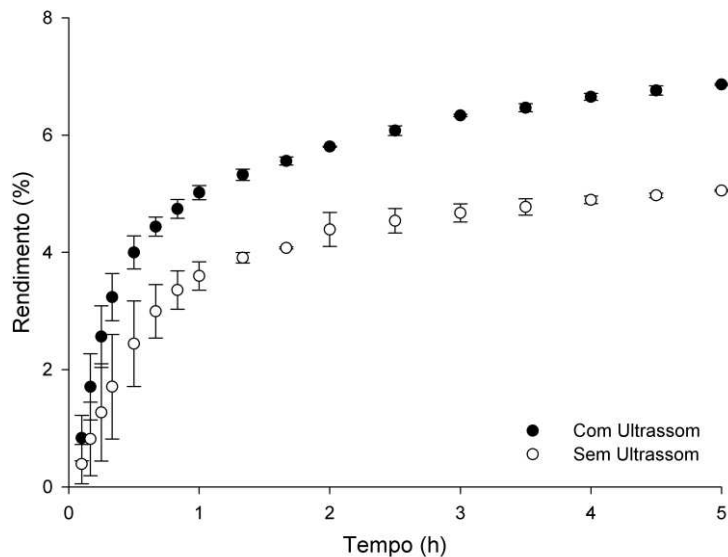


Figura 20 - Cinética de extração supercrítica de pimenta malagueta a 15 MPa, 40 °C e uma vazão de solvente de $1,673 \times 10^{-4}$ kg/s, sem e com ultrassom (360 W por 60 minutos) para o diâmetro médio de partícula ($0,94 \pm 0,03$ mm).

Pode-se observar na Figura 20 a influência da aplicação de ultrassom sobre a cinética de extração. O rendimento global obtido na primeira hora de extração sem ultrassom foi de aproximadamente 3,6 % enquanto para a extração assistida com ultrassom foi de aproximadamente 5,1 %. Ou seja, neste período o aumento no rendimento global foi de 40 %. No final do processo, o aumento no rendimento, em relação à extração com dióxido supercrítico sem ultrassom, foi de 33 %, valor coerente com resultados obtidos por outros pesquisadores (RIERA *et al.*, 2004; BALACHANDRAN *et al.*, 2006; HU *et al.*, 2007; GAO *et al.*, 2009).

Segundo Balanchandran *et al.*, (2006), o aumento no rendimento pode ter ocorrido devido a maior taxa de extração no processo assistido por ultrassom, que é atribuída a ruptura das estruturas celulares e conseqüentemente um aumento de acessibilidade do solvente na estrutura interna das partículas. Ainda segundo os autores, embora a cavitação seja a melhor explicação para este aumento em processos a condições ambientais, na ausência de limites de fase, ou seja, acima do ponto crítico, devem-se excluir tais fenômenos, isto implica que o aumento da taxa de extração só pode ocorrer devido à

turbulência, associada com a transmissão acústica, ou simplesmente através da vibração mecânica.

4.2.1 Análise química dos extratos

Os resultados obtidos para as análises químicas dos extratos obtidos nos experimentos de rendimento global e de cinética são descritos a seguir.

4.2.1.1 Análise de capsaicinoides

A Tabela 9 apresenta o perfil de capsaicinoides totais, ou seja, a soma de capsaicina (C), dihidrocapsaicina (DHC), nordihidrocapsaicina (n-DHC) e homohidrocapsaicina (h – DHC) de extratos de pimenta malagueta a 15 MPa, 40 °C e uma vazão de solvente de $1,673 \times 10^{-4}$ kg/s, com e sem ultrassom para o diâmetro médio de partícula, bem como os perfis dos extratos obtidos com solventes orgânicos a baixa pressão.

Pode-se verificar, na Tabela 9, que somente os valores de concentração de capsaicina e dihidrocapsaicina para a extração com éter etílico e SFE+US a 200 W em 60 minutos são diferentes das médias obtidas para a extração com diclorometano, ao nível de 5% pelo teste de Tukey. As concentrações de nordihidrocapsaicina (n-DHC) e homohidrocapsaicina (h – DHC) não são diferentes estatisticamente para nenhum método de extração ou nível das variáveis ultrassônicas, pois tais compostos são minoritários comparados com os valores obtidos de capsaicina (C) e dihidrocapsaicina (DHC).

Tabela 9 - Rendimento de capsaicinoides para oleorresina de pimenta malagueta obtida através de extrações à baixa pressão e com fluido supercrítico (15 MPa e 40 °C), sem e com ultrassom.

Método	Solvente	Polaridade ¹	Capsaicina	Dihidrocapsaicina ³	Nordihidrocapsaicina ³	Homohidrocapsaicina ³	Capsaicinoides Totais ³
Soxhlet	Acetato de Etila	0,0	2,16 ± 0,20 ^{ab}	1,20 ± 0,09 ^{ab}	0,10 ± 0,010 ^a	0,04 ± 0,003 ^a	3,50 ± 0,30 ^{ab}
	Diclorometano	3,1	2,27 ± 0,30 ^a	1,22 ± 0,17 ^a	0,10 ± 0,015 ^a	0,04 ± 0,006 ^a	3,63 ± 0,48 ^a
	Éter Etílico	4,4	1,76 ± 0,12 ^b	0,97 ± 0,07 ^b	0,08 ± 0,003 ^a	0,03 ± 0,006 ^a	2,84 ± 0,20 ^b
	Hexano	0,0	1,88 ± 0,17 ^{ab}	1,05 ± 0,09 ^{ab}	0,09 ± 0,015 ^a	0,03 ± 0,004 ^a	3,05 ± 0,27 ^{ab}
SFE	Potência (W)	Tempo ²					
SFE (40°C,15MPa)	-	-	1,83 ± 0,01 ^{ab}	1,00 ± 0,02 ^{ab}	0,07 ± 0,006 ^a	0,02 ± 0,004 ^a	3,00 ± 0,03 ^{ab}
SFE+US	360	240	1,87 ± 0,21 ^{ab}	1,05 ± 0,11 ^{ab}	0,08 ± 0,005 ^a	0,02 ± 0,003 ^a	3,03 ± 0,32 ^{ab}
SFE+US	360	150	1,95 ± 0,09 ^{ab}	1,07 ± 0,04 ^{ab}	0,09 ± 0,006 ^a	0,03 ± 0,008 ^a	3,13 ± 0,14 ^{ab}
SFE+US	360	60	1,93 ± 0,05 ^{ab}	1,01 ± 0,03 ^{ab}	0,07 ± 0,021 ^a	0,03 ± 0,003 ^a	3,10 ± 0,05 ^{ab}
SFE+US	280	240	1,82 ± 0,02 ^{ab}	1,01 ± 0,04 ^{ab}	0,09 ± 0,012 ^a	0,03 ± 0,006 ^a	3,00 ± 0,06 ^{ab}
SFE+US	280	150	1,85 ± 0,15 ^{ab}	0,99 ± 0,04 ^{ab}	0,07 ± 0,004 ^a	0,03 ± 0,005 ^a	3,00 ± 0,20 ^{ab}
SFE+US	280	60	1,94 ± 0,10 ^{ab}	1,07 ± 0,06 ^{ab}	0,08 ± 0,006 ^a	0,03 ± 0,004 ^a	3,13 ± 0,16 ^{ab}
SFE+US	200	240	2,15 ± 0,11 ^{ab}	1,18 ± 0,05 ^{ab}	0,09 ± 0,016 ^a	0,03 ± 0,004 ^a	3,46 ± 0,17 ^{ab}
SFE+US	200	150	1,80 ± 0,24 ^{ab}	1,00 ± 0,11 ^{ab}	0,08 ± 0,015 ^a	0,03 ± 0,005 ^a	2,93 ± 0,36 ^{ab}
SFE+US	200	60	1,78 ± 0,15 ^b	0,97 ± 0,07 ^{ab}	0,07 ± 0,006 ^a	0,02 ± 0,007 ^a	2,85 ± 0,23 ^b

SFE – *Extração supercrítica*; US – *Ultrassom*; ¹Fonte: Byers (2009); ²Tempo de radiação do ultrassom em minutos; ³Valores expressos em mg do respectivo capsaicinoide/g de matéria-prima seca; Médias seguidas das mesmas letras não diferem entre si ao nível de significância de 5% pelo teste de Tukey.

As taxas de recuperação de capsaicinoides através da extração supercrítica assistida por ultrassom na condição de 200 W por 240 minutos, SFE sem ultrassom e Soxhlet com hexano foram de 86,5 %, 75 % e 76,25 %, respectivamente. A extração com SFE+US atingiu recuperação de capsaicinoides 10,25 % maior que o método convencional de extração, e 11,5% maior que a extração somente com fluido supercrítico. Porém, as maiores taxas de recuperação de capsaicinoides totais foram obtidas nas extrações convencionais utilizando diclorometano e acetato de etila com solvente, com 90,75 e 87,50 % de recuperação, respectivamente. Tal comportamento pode ser explicado devido às maiores temperaturas de extração. Mesmo a uma alta temperatura, não houve degradação dos capsaicinoides, pois segundo Barbero, Palma e Barroso (2006) a capsaicina e a dihidrocapsaicina, que são os componentes majoritários dos capsaicinoides, são estáveis em temperaturas acima de 50°C. Boonkird, Phisalaphong e Phisalaphong (2008), ao estudarem a extração de capsaicinoides assistida por ultrassom, obtiveram o mesmo comportamento da taxa de recuperação, quando comparada com a extração convencional utilizando etanol.

A partir de tais resultados, podemos afirmar que o método de extração não influencia significativamente no rendimento de capsaicinoides, pois os perfis obtidos para os métodos de extração estudados neste trabalho são semelhantes. Porém, para a escolha do melhor método, devem-se levar em conta outros fatores, como a segurança do processo, o grau de pureza dos extratos, a quantidade residual de solvente e fatores econômicos. Logo, o dióxido de carbono supercrítico tem vantagens frente aos solventes orgânicos, pois apresenta baixa temperatura crítica, atóxico, não inflamável e o extrato obtido é livre de resíduos do solvente e, quando aplicado juntamente com a técnica de ondas ultrassônicas há um ganho no rendimento global sem alterar o perfil de capsaicinoides.

A Tabela 10 apresenta a análise de variância dos efeitos da potência e tempo de radiação do ultrassom, bem como a interação dos mesmos, para a concentração de capsaicinoides totais obtidos nas extrações assistidas por ultrassom.

Tabela 10 - Análise de variância (ANOVA) dos efeitos do tempo de radiação de ultrassom e da potência ultrassônica aplicada para o teor de capsaicinoides totais em oleorresina de pimenta malagueta.

	Fator	GL	SQ	MQ	F	p-valor
1	Potência (W)	2	0,04805	0,02403	0,43	0,653
2	Tempo de Radiação (min)	2	0,11591	0,05796	1,04	0,365
	1*2	4	0,97298	0,24325	4,39	0,007
	Erro	27	1,49742	0,05546		
	Total	35	2,63436			

onde: SQ – soma dos quadrados; GL- graus de liberdade; MQ – quadrado médio. $F_{\text{tab}(8;27;0,05)} = 2,31$

Os efeitos isolados dos fatores potência e tempo de irradiação do ultrassom não foram significativos ao nível de 5% ($p \geq 0,05$). Porém, a interação entre os dois fatores foi significativa estatisticamente, com um p-valor menor que 5% ($p \leq 0,05$). Pode-se explicar tal fato observando os valores apresentados na Tabela 9, na qual a concentração de capsaicinoides aumenta com a diminuição da potência e com o aumento do tempo de radiação. O comportamento oposto também é observado, ou seja, o aumento da potência e a diminuição do tempo de radiação diminuíram a concentração de capsaicinoides totais nos extratos obtidos por SFE+US.

A fim de compreender o processo de extração dos capsaicinoides ao longo do tempo, foram realizadas cinéticas de extração para a obtenção dos perfis de capsaicinoides na SFE e na SFE+US. A Figura 21 e a Figura 22 apresentam as cinéticas de extração supercrítica de capsaicinoides totais (Total), capsaicina (C), dihidrocapsaicina (DHC), nordihidrocapsaicina (n-DHC) e homohidrocapsaicina (h – DHC) de pimenta malagueta a 15 MPa, 40 °C e uma vazão de solvente de $1,673 \times 10^{-4}$ kg/s, sem e com ultrassom (360 W por 60 minutos).

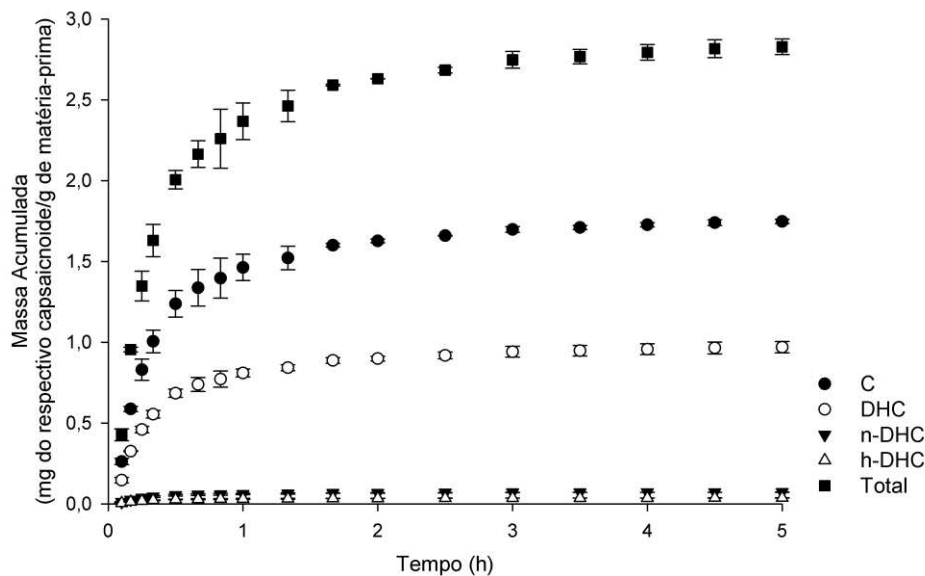


Figura 21 - Cinética de extração supercrítica de capsaicoides totais (Total), capsaicina (C), dihidrocapsaicina (DHC), nordihidrocapsaicina (n-DHC) e homodihidrocapsaicina (h – DHC) de pimenta malagueta a 15 MPa, 40 °C e uma vazão de solvente de $1,673 \times 10^{-4}$ kg/s, sem ultrassom para o diâmetro médio de partícula.

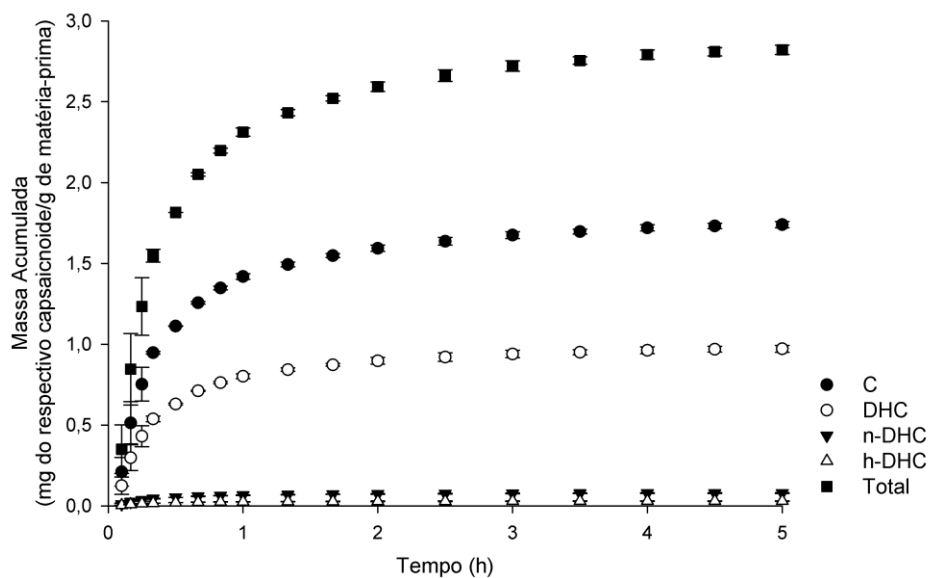


Figura 22 - Cinética de extração supercrítica de capsaicoides totais (Total), capsaicina (C), dihidrocapsaicina (DHC), nordihidrocapsaicina (n-DHC) e homodihidrocapsaicina (h – DHC) de pimenta malagueta a 15 MPa, 40 °C e uma vazão de solvente de $1,673 \times 10^{-4}$ kg/s, com ultrassom (360 W a 60 minutos) para o diâmetro médio de partícula.

Podemos verificar, na Figura 21 e na Figura 22, que a aplicação de ondas ultrassônicas não alterou o perfil de capsaicinoides na extração com fluido supercrítico, e que em apenas duas horas de extração foi possível obter 85 % do total de capsaicinoides extraídos em cinco horas. Tal comportamento pode estar relacionado com a localização de tais compostos nos frutos da pimenta, que estão localizados principalmente na superfície da placenta (REYES-ESCOGIDO, GONZALEZ-MONDRAGON e VAZQUEZ-TZOMPANTZI, 2011). Logo, os capsaicinoides são de fácil acesso ao CO₂ supercrítico por meio da transferência de massa por convecção. As curvas indicam também que os capsaicinoides têm uma solubilidade mais elevada do que a oleorresina de pimenta malagueta, nas condições de operação utilizadas neste trabalho para dióxido de carbono supercrítico. Del Valle *et al.*, (2003) observaram o mesmo comportamento ao estudarem a cinética de extração de oleorresina e de capsaicina de pimenta da variedade Jalapeño com CO₂ supercrítico. Eles concluíram que a taxa de extração de oleorresina de pimenta foi um pouco mais lenta do que a de capsaicinoides, nas condições operacionais de 40 °C e 12 MPa, devido aos seus componentes principais, os triglicerídeos, que são muito menos solúveis do que a capsaicina nas referidas condições.

De outra forma, pode-se dizer que a razão entre massa de solvente e massa de matéria-prima (S/F) para obter os 85% foi aproximadamente 240, valor 60 % menor que o utilizado nos ensaios de extração supercrítica para a obtenção dos rendimentos globais. Portanto, um S/F menor corresponde à menor quantidade de solvente, de energia elétrica para o funcionamento dos equipamentos, de tempo de extração e, conseqüentemente, maior produtividade/dia, sem afetar o perfil de compostos e o rendimento global obtidos em uma extração com grande valor de S/F.

4.2.1.2 Análise de fenólicos totais

A Tabela 11 apresenta concentração de fenólicos totais (expressa em mg de ácido gálico equivalente/g de matéria-prima desidratada) para oleorresina de pimenta malagueta obtida através de extrações a baixa pressão e com fluido supercrítico, sem e com ultrassom.

Tabela 11 – Concentração de fenólicos totais para oleoresina de pimenta malagueta obtida através de extrações a baixa pressão e com fluido supercrítico, sem e com ultrassom.

Método	Solvente	Polaridade ¹	Concentração ³
Soxhlet	Acetato de Etila	0,0	0,39 ± 0,02 ^a
	Diclorometano	3,1	0,37 ± 0,01 ^{ab}
	Éter Etílico	4,4	0,37 ± 0,01 ^{ab}
	Hexano	0,0	0,30 ± 0,01 ^d
SFE	Potência (W)	Tempo ² (min)	
SFE (40°C, 15 MPa)	-	-	0,31 ± 0,01 ^d
SFE+US	360	240	0,38 ± 0,02 ^{ab}
SFE+US	360	150	0,37 ± 0,01 ^{ab}
SFE+US	360	60	0,37 ± 0,02 ^{ab}
SFE+US	280	240	0,32 ± 0,01 ^{cd}
SFE+US	280	150	0,31 ± 0,01 ^d
SFE+US	280	60	0,33 ± 0,01 ^{bcd}
SFE+US	200	240	0,36 ± 0,02 ^{abc}
SFE+US	200	150	0,33 ± 0,03 ^{bcd}
SFE+US	200	60	0,39 ± 0,02 ^a

SFE – *Extração supercrítica*; US – *Ultrassom*; ¹Fonte: Byers (2009); ²Tempo de radiação do ultrassom em minutos; ³Valores expressos em mg AGE/g de matéria-prima desidratada; Médias seguidas das mesmas letras não diferem entre si ao nível de significância de 5% pelo teste de Tukey.

Verifica-se, na Tabela 11, que as extrações com os solventes acetato de etila, diclorometano, éter etílico, e com dióxido de carbono supercrítico assistido por ultrassom a 360 W, com qualquer tempo de radiação, e a 200 W por 60 e 240 minutos não são diferentes significativamente, ao nível de 5% pelo teste de Tukey. Tais condições obtiveram uma taxa de recuperação de, no mínimo, 42 %, enquanto as demais condições apresentaram uma taxa de 36 %. Segundo Carrera *et al.*, (2012), a energia fornecida pelo ultrassom libera os compostos fenólicos da matriz vegetal, no entanto, também acelera o processo de degradação dos mesmos.

Biesaga (2011) analisou a influencia do método de extração sobre a estabilidade de flavonoides e verificou que as menores taxas de recuperação, ou a maior taxa de degradação, foram observadas para a extração assistida por ultrassom. Ainda segundo os autores, a aplicação de US, dentro do mesmo tempo de extração (30 minutos) das demais técnicas de extração, como a técnica de extração com refluxo de fluido aquecido, causou a degradação significativa de todos os compostos. Segundo Carrera *et al.*, (2012), a aplicação

de ondas ultrassônicas possivelmente acarreta a formação de radicais livres, sendo que os compostos fenólicos podem agir como sequestradores dos compostos de espécies reativas de oxigênio, conseqüentemente sofrendo reações de oxidação. A Figura 23 mostra o efeito da potência ultrassônica em função do tempo de radiação para a concentração de fenólicos totais, em oleorresina de pimenta malagueta obtida por SFE+US.

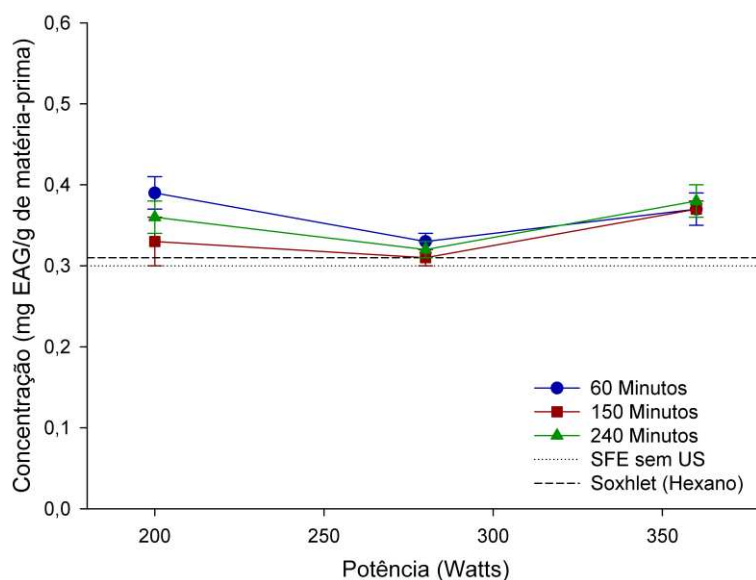


Figura 23 - Efeito da potência de ultrassom em função do tempo de radiação para a concentração de compostos fenólicos totais em oleorresina de pimenta malagueta obtida por SFE+US.

Verifica-se, através da Tabela 11 e da Figura 23, que o método convencional e a extração com dióxido de carbono supercrítico obtiveram as menores taxas de recuperação, 35 % e 36 %, respectivamente, enquanto que a maior taxa de recuperação foi para a extração com dióxido de carbono supercrítico assistido por ultrassom nas condições de 200 W com 60 minutos de radiação, na qual houve uma taxa 45,5 % de recuperação. A Figura 24 ilustra o efeito do tempo de radiação, ou de aplicação de ondas ultrassônicas, em função da potência para a concentração de compostos fenólicos totais em oleorresina de pimenta malagueta.

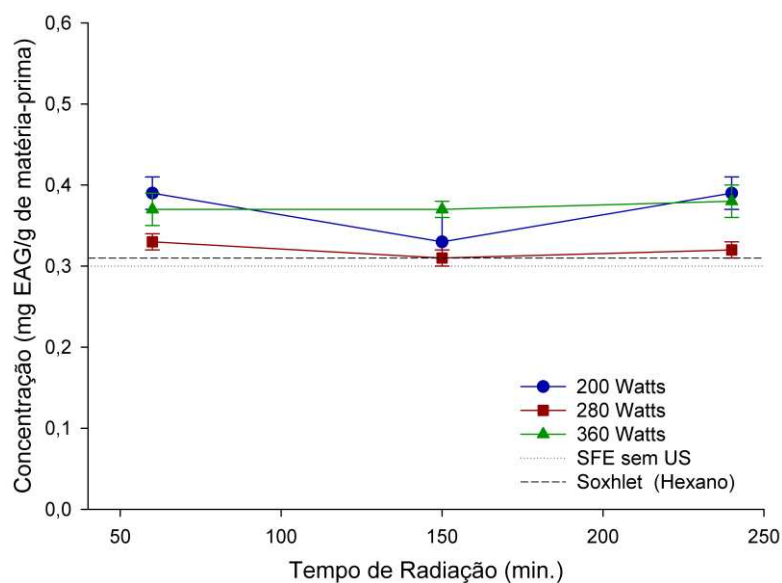


Figura 24 - Efeito do tempo de radiação do ultrassom em função da potência para a concentração de compostos fenólicos totais em oleorresina de pimenta malagueta obtida por SFE+US.

Observa-se na Figura 24 que os experimentos com tempo de radiação de 60 minutos obtiveram os maiores percentuais de recuperação comparados com os valores obtidos na mesma potência ultrassônica, de 43,1, 38,5, 45,5 %, para 360, 280 e 200 W, respectivamente. A Tabela 12 apresenta a análise de variância para os efeitos do tempo de radiação e potência ultrassônica para a concentração de fenólicos totais.

Tabela 12 - Análise de variância (ANOVA) dos efeitos do tempo de radiação de ultrassom e a potência ultrassônica aplicada para a concentração de fenólicos em oleorresina de pimenta malagueta.

	Fator	GL	SQ	MQ	F	p
1	Potência (W)	2	0,01875	0,00937	20,92	<0,001
2	Tempo de Radiação (min)	2	0,00406	0,00203	4,54	0,020
	1*2	4	0,00411	0,00102	2,29	0,085
	Erro	36	0,01221	0,00045		
	Total	44	0,00390			

onde: SQ – soma dos quadrados; GL- graus de liberdade; MQ – quadrado médio. $F_{\text{tab}(8;36;0,05)} = 2,32$

Os efeitos da potência e do tempo de radiação do ultrassom foram significativos, ao nível de 5% ($p \leq 0,05$) pelo teste de Tukey, para a concentração de fenólicos totais, conforme demonstra a Tabela 12. Por outro lado, a interação entre tais fatores não foi estatisticamente diferente, com $p\text{-valor} = 0,085$. Porém, tal valor é próximo ao nível de confiança de 95% ($p \geq 0,05$). Além disso, analisando os dados da Tabela 11, da Figura 23 e da Figura 24, pode-se verificar uma possível interação entre os fatores, logo não se pode descartar tais efeitos.

A melhor condição de extração de compostos fenólicos de pimenta malagueta assistida por ultrassom foi de 200 W com 60 minutos de aplicação. Porém, tal condição não é diferente estatisticamente da condição de 360 W a 60 minutos, ou seja, a melhor condição obtida tanto para os fenólicos totais quanto para o fator resposta rendimento global foi uma potência de 360 W a 60 minutos de radiação. A Tabela 13 apresenta o aumento do rendimento, em relação à extração supercrítica, causado pela aplicação de ondas ultrassônicas para diferentes matrizes vegetais.

Tabela 13 – Aumento do rendimento global na extração supercrítica de diversas matrizes vegetais, causado pela aplicação de ondas ultrassônicas.

Matéria-prima	Aumento no Rendimento (%)	Fonte
Amêndoa (<i>Prunus amygdalus</i>)	30	(RIERA <i>et al.</i> , 2004)
Gengibre (<i>Zingiber officinale</i>)	30	(BALACHANDRAN <i>et al.</i> , 2006)
Coix (<i>Coix lachryma-jobi L.</i>)	14	(HU <i>et al.</i> , 2007)
Marigold (<i>Tagetes erecta L.</i>)	65	(GAO <i>et al.</i> , 2009)
Pimenta (<i>Capsicum frutesces L.</i>)	28	Este trabalho

O presente estudo obteve um aumento do rendimento de 28%, em relação à extração somente com CO₂ supercrítico, valor próximo aos encontrados em trabalhos na literatura. Por exemplo, Gao *et al.*, (2009) ao estudarem a extração supercrítica assistida por ultrassom de ésteres de luteína de *Marigold*, comumente conhecido no Brasil como Cravo-de-defunto, obtiveram um aumento no rendimento global de 65 %. Apesar do grande aumento no rendimento global de extratos de pimenta malagueta, mais estudos devem ser realizados

com o objetivo de verificar a viabilidade econômica da aplicação de ondas ultrassônicas no processo de extração com fluido supercrítico.

A Figura 25 mostra o aspecto físico dos extratos obtidos via extração supercrítica assistida por ultrassom na melhor condição operacional.



Figura 25 – Extrato de pimenta variedade malagueta obtido com dióxido de carbono supercrítico a 15 MPa, 40 °C e uma vazão de solvente de $1,673 \times 10^{-4}$ kg/s, com ultrassom (360 W a 60 minutos) para o diâmetro médio de partícula.

Segundo Prakash e Eipeson (2003), a Associação Norte Americana de Óleos Essenciais (*The Essential Oils Association of USA – EOA*) especifica a aparência e cor de extratos de pimenta do gênero *Capsicum*. Os extratos devem ter um vermelho claro ou escuro, ou âmbar claro, serem um líquido pouco viscoso, com cheiro característico e pungência elevada. Além disso, os extratos obtidos não devem conter solventes orgânicos, por exemplo, o hexano (concentração máxima de 25 ppm). Verifica-se na Figura 25 que os extratos obtidos neste trabalho se encaixam na especificação descrita acima quanto às características visuais. Além disso, são extratos livres de solvente.

4.2.2 Microscopia eletrônica de varredura com fonte de emissão de campo (FESEM)

A fim de obter mais informações sobre os efeitos da cavitação provocados pelas ondas ultrassônicas sobre a matriz, foram realizadas análises de microscopia eletrônica de varredura em um microscópio com fonte de emissão de campo. Foram analisadas amostras do pericarpo dos frutos de pimenta separadas das sementes e do pedúnculo, conforme Figura 26. As amostras analisadas foram as de diâmetro médio: 1) desidratadas (matéria-prima antes da extração); 2) extraídas com dióxido de carbono supercrítico; 3) extraídas com SFE+US na melhor condição de rendimento global (360 W por 60 minutos). Imagens representativas dos resultados obtidos nestas amostras são apresentadas na Figura 27 (barra de escala de 100 μm) e na Figura 28 com aumentos maiores (barra de escala de 10 μm).

A Figura 27 e a Figura 28 mostram que a superfície da parede celular permanece intacta nas três amostras (A-C), sem rachaduras ou rupturas causadas pelos processos de extração supercrítica com ou sem ultrassom. Por outro lado, observa-se um número maior de partículas depositadas na superfície das amostras submetidas à extração supercrítica (Figura 27 e Figura 28 (B,C)) que das amostras não extraídas (Figura 27 e Figura 28 (A)). Essas micropartículas são, provavelmente, trazidas do interior da matriz vegetal para a sua superfície a partir das fraturas laterais das partículas de pericarpo. As fraturas laterais são decorrentes do processo de moagem e a perturbação causada pela cavitação nestas regiões faz com que essas partículas sejam arrastadas pelo fluido e depois depositadas sobre a superfície. A Figura 26 mostra a estrutura de um fruto de pimenta malagueta (*Capsicum frutescens* L.) evidenciando o pericarpo e as perturbações causadas pelos processos de moagem (fraturas laterais) e extração supercrítica assistida por ultrassom (partículas).

O efeito da cavitação é mais relevante nas amostras submetidas à extração assistida por ultrassom, conforme constatado pela maior deposição de partículas na superfície, que pode ser observado na Figura 27 e Figura 28 (C). Isso indica que a ação do ultrassom facilita a remoção dos componentes internos da parede celular, sem danificar o tecido da superfície, mas permitindo o acesso do fluido de extração a regiões antes inacessíveis. Isso contribui para os maiores valores de rendimento global de oleoresina extraída de pimenta

malagueta apresentados na Tabela 7. Efeitos do ultrassom na matriz vegetal foram observados por Ying, Han e Li (2011) ao estudarem a extração assistida por ultrassom à baixa pressão de polissacarídeos de folhas de amoreira. Os autores observaram que a aplicação das ondas ultrassônicas causou algum tipo de perturbação a estrutura da matriz vegetal. Observações similares também foram relatadas por Chen *et al.*, (2007), Chittapalo e Noomhorm (2009) e Balachandran *et al.*,(2006).

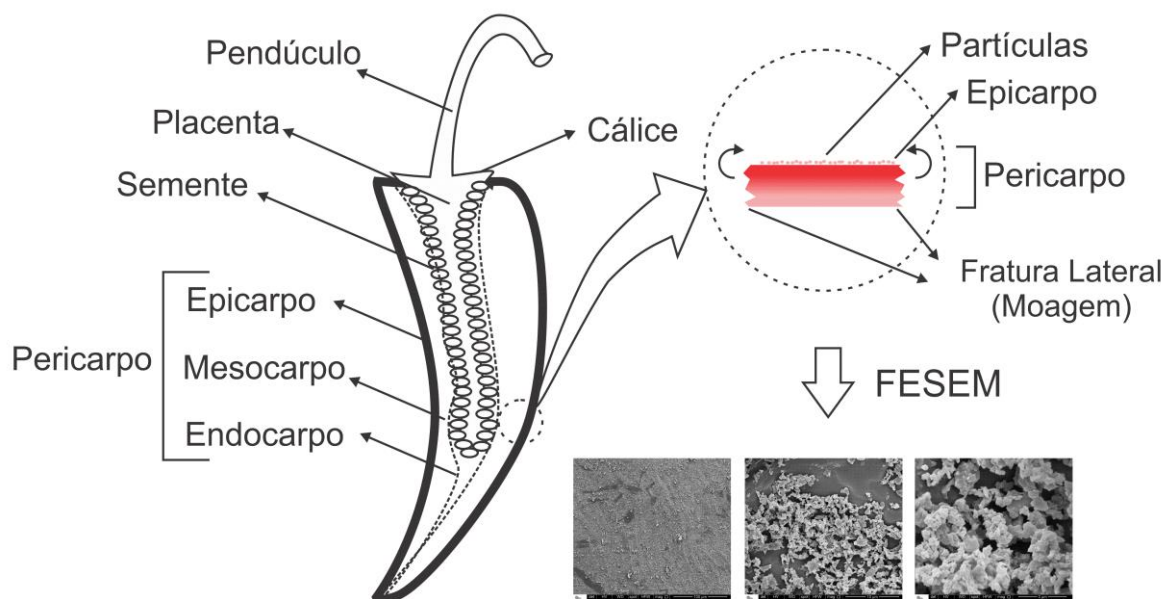


Figura 26 - Estrutura de um fruto de pimenta malagueta (*Capsicum frutescens* L.) evidenciando o pericarpo e as perturbações causadas pelos processos de moagem e extração supercrítica assistida por ultrassom.

Outro fator relevante, observado durante a análise das amostras de pimenta por microscopia eletrônica, é que as amostras não extraídas são mais sensíveis ao feixe eletrônico do que as extraídas. Isso dificultou a obtenção de imagens com aumentos maiores do que 100.000 vezes, porque as amostras se degradavam sob ação do feixe. Esse efeito é um indício da maior quantidade de oleorresina presente nas amostras não extraídas, do que nas amostras após a extração. Evidências da diminuição do teor de óleo na superfície de amostras vegetais, obtidas por imagens de microscopia eletrônica de varredura, também foram reportadas por Zhang e colaboradores (2008). Esses autores

constatarem menores teores de óleo na superfície de amostras de semente de linhaça submetidas à extração com solventes orgânicos assistida por ultrassom do que nas sementes antes do processo de extração.

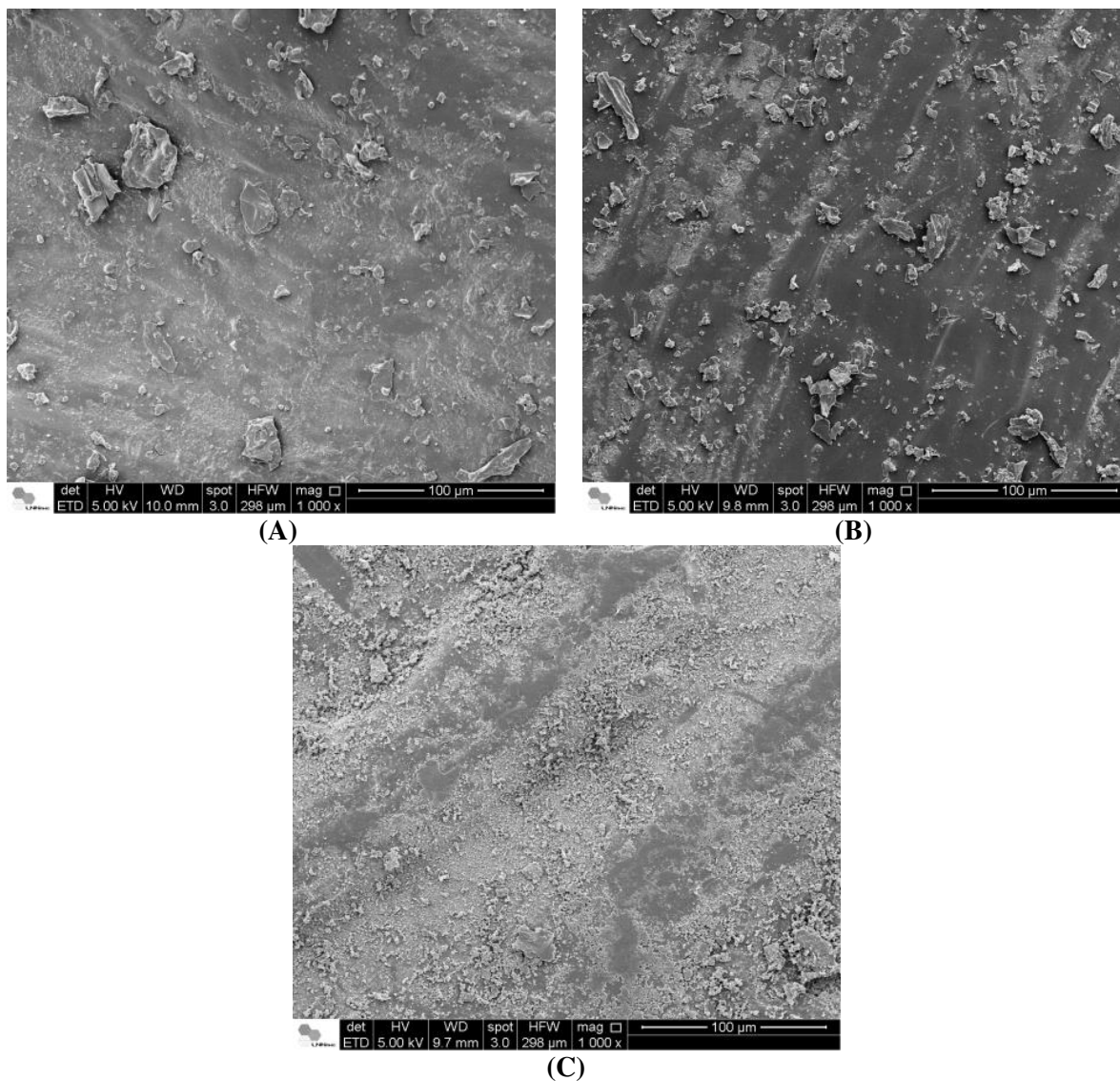


Figura 27 – Imagens de microscopia eletrônica de varredura (FESEM) para as amostras de pericarpo de pimenta malagueta com diâmetro de partícula médio com aumento de 1.000 vezes. (A) Matéria-prima dos experimentos de extração; (B) Amostra extraída com SFE; (C) Amostra extraída com SFE+US. Barra de escala de 100 µm.

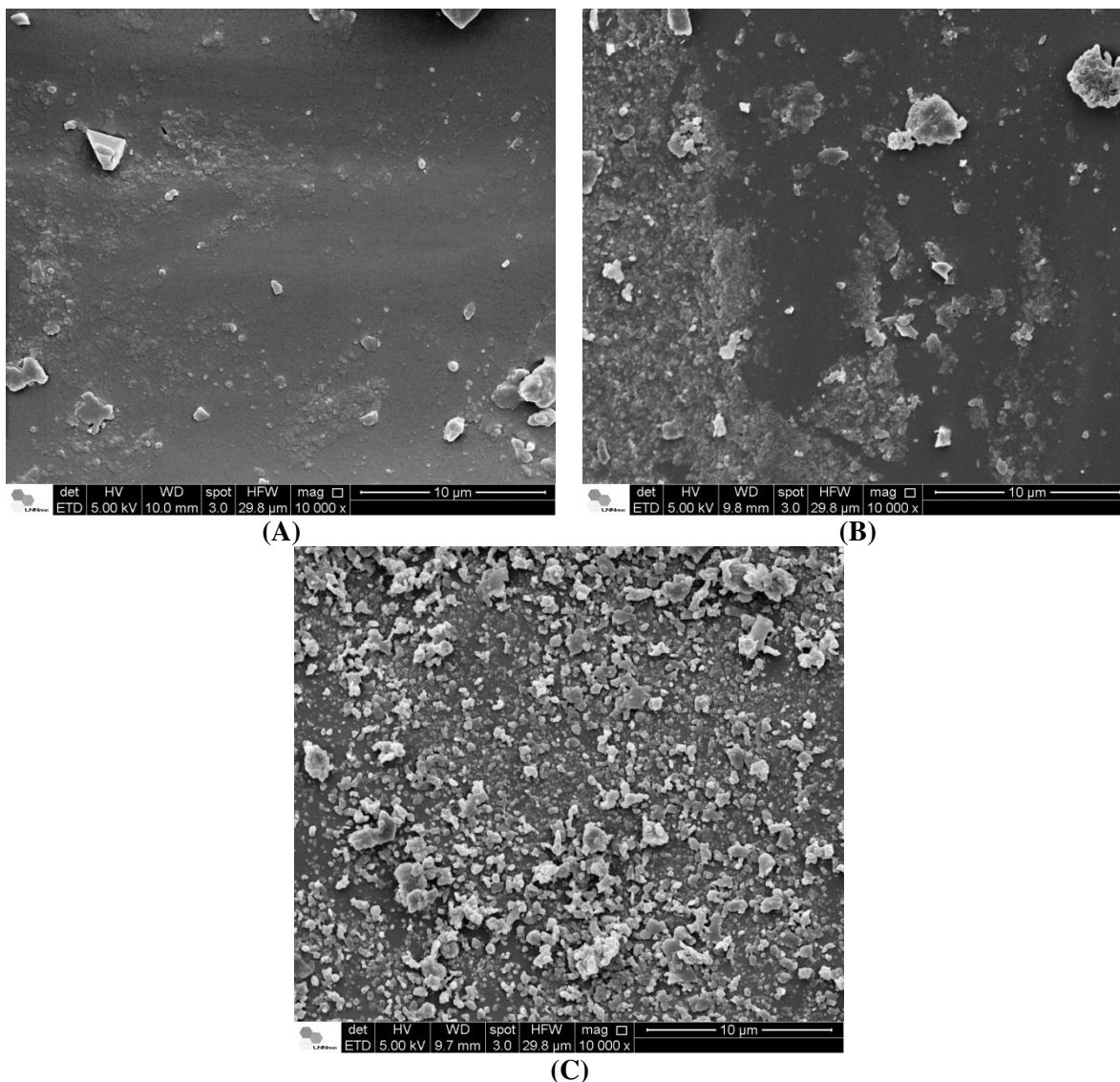


Figura 28 – Imagens de microscopia eletrônica de varredura (FESEM) para as amostras de pericarpo de pimenta malagueta com diâmetro de partícula médio com aumento de 10.000 vezes. (A) Matéria-prima dos experimentos de extração; (B) Amostra extraída com SFE; (C) Amostra extraída com SFE+US. Barra de escala de 10 μm .

Os danos causados pelas ondas ultrassônicas na matriz vegetal foram os responsáveis pelo aumento no rendimento dos capsaicínides totais, dos compostos fenólicos e do rendimento global de óleo essencial. A melhor condição de extração com fluido supercrítico assistido por ultrassom, levando-se em conta a recuperação de compostos fenólicos totais e de capsaicínides totais, bem como o perfil cinético, foi a 360 W com 60

minutos de aplicação do ultrassom com dióxido de carbono a 40° C e 15 MPa, e com uma relação S/F de 240. Após determinar a melhor condição de extração com dióxido de carbono supercrítico assistido por ultrassom e verificar a influência do ultrassom sobre a matriz vegetal e a composição dos extratos obtidos, foi realizado o estudo da influência do diâmetro de partícula sobre a cinética de extração e os parâmetros do modelo de Sovová (1994).

4.3 Experimentos cinéticos

A Tabela 14 demonstra os valores dos dados de entrada necessários para a aplicação do modelo de Sovová (1994), obtidos para a extração supercrítica de pimenta malagueta com e sem ultrassom. Observa-se que o leito de extração foi mantido constante para a extração, tanto para o maior quanto para o menor diâmetro de partícula.

Tabela 14 - Parâmetros do processo de extração supercrítica não assistida e assistida por ultrassom de óleo-resina de pimenta malagueta.

Parâmetro	Maior Diâmetro (1,18 a 1,68 mm)	Menor Diâmetro (0,177 a 0,342 mm)
T (K)	313,15±3	313,15±3
P (MPa)	15,0±0,3	15,0±0,3
d (m)	0,00143±0,00035	0,00023±0,00016
X ₀ (kg soluto/kg sólido)	0,0514±0,0051	0,0914±0,0406
ρ _s (kg/m ³)	1320,0±10,0	1320,0±10,0
ρ (kg/m ³)	780,23±5,0	780,23±5,0
Q _{CO₂} x 10 ⁴ (kg/s)	1,673±0,1	1,673±0,1
H _b (m)	0,02±0,001	0,02±0,001
d _b (m)	0,05±0,001	0,05±0,001
F (kg)	0,0204±0,0003	0,0205±0,0007
Y* (kg soluto/kg solvente)	0,0031665	0,0031665

onde: T - temperatura; P - pressão; d - diâmetro da partícula; X₀ - rendimento global; ρ_s - densidade do sólido; ρ - densidade do solvente; Q_{CO₂} - vazão mássica de solvente; H_b - altura do leito de extração; d_b - diâmetro do leito de extração; F- massa de matéria-prima alimentada no leito de extração.

Pode-se verificar, na Tabela 14, que os valores do rendimento global (X₀), variaram com o diâmetro de partícula, de 5,14 % a 9,14 % do maior para o menor diâmetro,

respectivamente. Tal comportamento ocorre devido à maior área de contato das partículas de menor diâmetro, e conseqüentemente uma maior transferência de massa do soluto para o solvente. No caso das partículas de maior diâmetro, a área de contato com o solvente é menor, ocasionando a diminuição da taxa de transferência de massa, que é consistente com o resultado encontrado por outros pesquisadores (BALACHANDRAN *et al.*, 2006; REVERCHON e DE MARCO, 2006; YU *et al.*, 2012) Outro fato relevante é que partículas maiores contêm mais sementes da matéria-prima, o que acarreta a diferença expressiva no valor do rendimento global. A partir dos dados apresentados na Tabela 14 foi possível realizar o ajuste do modelo de Sovová (1994), conforme a Figura 29 e a Figura 30, que apresentam os dados experimentais e os dados preditos pelo modelo de Sovová (1994), obtidos da extração supercrítica de pimenta malagueta assistida por ultrassom, para o maior e o menor diâmetro de partícula.

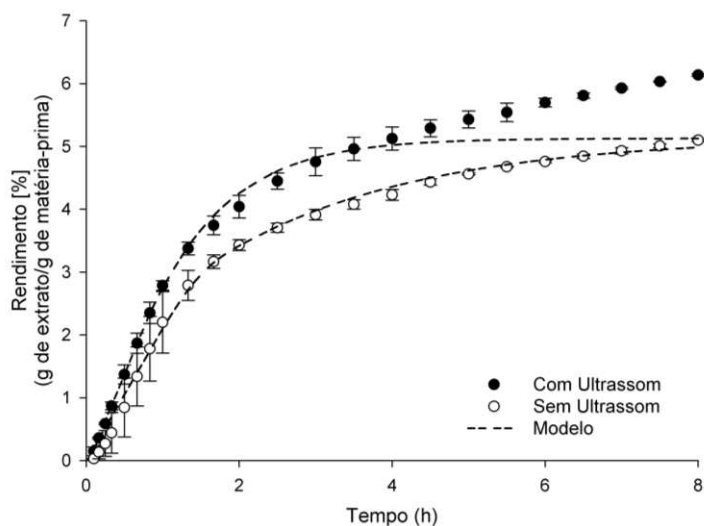


Figura 29 – Curvas experimentais (•) e preditas (-) pelo modelo de Sovová (1994) para o diâmetro de partícula entre 1,18 e 1,68 mm, com e sem ultrassom.

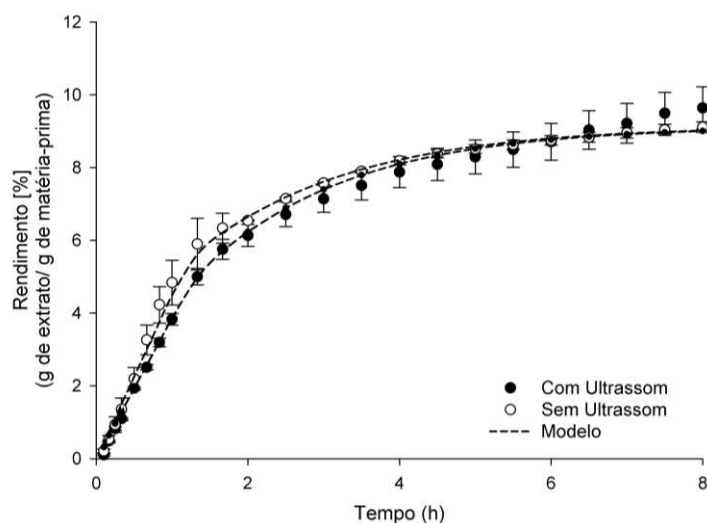


Figura 30 - Curvas experimentais (●) e preditas (-) pelo modelo de Sovová (1994) para o maior diâmetro de partícula entre 0,177 e 0,342 mm, com e sem ultrassom.

Observa-se, tanto na Figura 29 e quanto na Figura 30, um ajuste não satisfatório do modelo aos dados experimentais de extração supercrítica assistida por ultrassom, sendo o problema mais acentuado na extração de partículas com maior diâmetro. Explica-se tal fato analisando o modelo de Sovová (1994), que é dependente do valor de rendimento global (X_0), que por sua vez é função das condições de extração (temperatura, pressão e tamanho de partícula). Ou seja, como o ultrassom tem efeito significativo sobre o rendimento global, deve-se utilizar no modelo o valor de X_0 obtido para a extração assistida por ultrassom e não o valor obtido somente por SFE. Observa-se, ainda na Figura 29, uma tendência dos dados preditos pelo modelo no período difusional de extração. Tal comportamento ocorre pois os dados preditos pelo modelo não podem ultrapassar os valores experimentais do rendimento global, ou seja, há uma tendência dos valores preditos pelo modelo se manterem constantes tendo com o valor máximo o rendimento global (X_0). A magnitude da função objetivo foi de $1,8 \times 10^{-7}$ e $7,2 \times 10^{-8}$ para a extração assistida por ultrassom, para o menor e maior diâmetro, respectivamente, enquanto que para a extração sem ultrassom a função objetivo variou de $1,5235 \times 10^{-8}$ a $1,6978 \times 10^{-8}$ para o menor e maior diâmetro, respectivamente. A Figura 31 e a Figura 32 apresentam os valores experimentais *versus* os

valores preditos de rendimento global pelo modelo, para o maior e o menor diâmetro de partícula respectivamente.

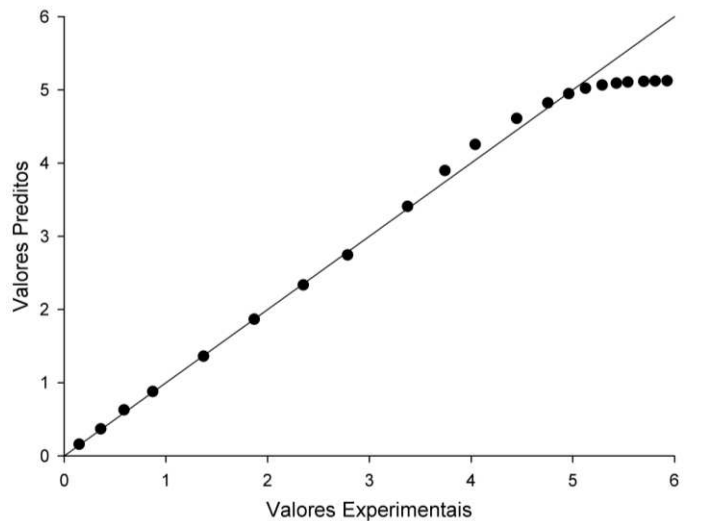


Figura 31 – Valores experimentais (•) e valores preditos (-) de rendimento global pelo modelo de Sovová (1994) para a extração supercrítica assistida por ultrassom para o maior diâmetro de partícula.

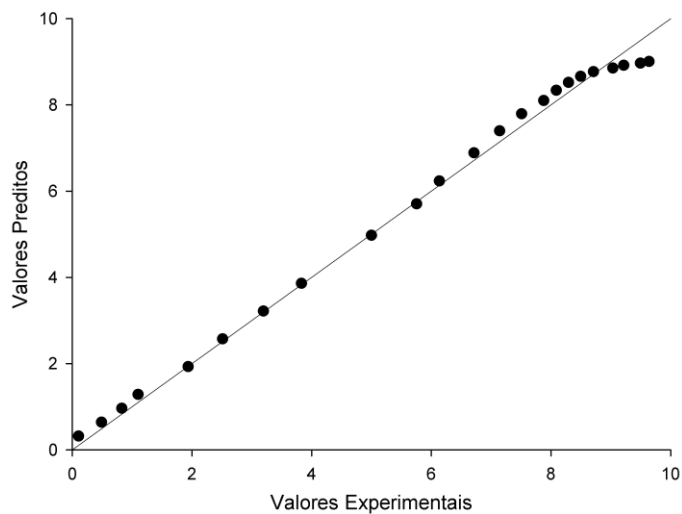


Figura 32 - Valores experimentais (•) e valores preditos (-) de rendimento global pelo modelo de Sovová (1994) para a extração supercrítica assistida por ultrassom para o menor diâmetro de partícula.

Os resultados apresentados na Figura 31 e Figura 32 e os valores da função objetivo permitem confirmar o ajuste não satisfatório do modelo de Sovová (1994) aos dados experimentais obtidos para SFE e SFE+US, portanto não se pode descrever adequadamente a cinética de extração supercrítica assistida por ultrassom utilizando o mesmo valor de rendimento global para extração com e sem ultrassom. Portanto, determinaram-se novos valores de X_0 , de $0,062 \pm 0,001$ e $0,10 \pm 0,01$ para o maior e o menor diâmetro, respectivamente, e realizaram-se novos ajustes do modelo de Sovová (1994) para extração supercrítica assistida e não assistida por ultrassom, para os dois diferentes diâmetros de partículas.

Sabe-se que o valor de X_0 representa a quantidade de material (soluto) que pode ser extraída através do processo de SFE, ou seja, a aplicação de ondas ultrassônicas claramente aumenta esse parâmetro importante para prever a cinética de extração supercrítica. Gao *et al.*, (2009) utilizaram o mesmo valor de X_0 para o ajuste das cinéticas de extração com e sem ultrassom e obtiveram um bom ajuste, porém as cinéticas obtidas pelos autores não alcançaram o período difusional e os autores não deixam claro se o valor de X_0 foi obtido através de extração supercrítica assistida ou não assistida por ultrassom. A Figura 33 e a Figura 34 apresentam os ajustes do modelo de Sovová (1994) aos dados experimentais de extração supercrítica com e sem ultrassom.

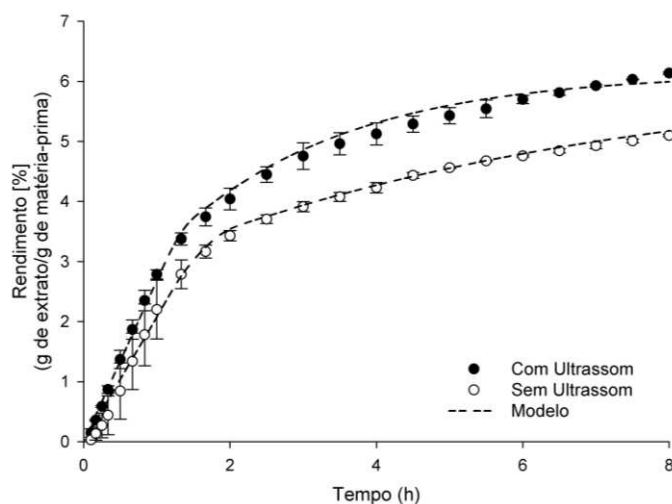


Figura 33 - Valores experimentais (•) e preditos (-) pelo modelo de Sovová (1994) para o diâmetro de partícula entre 1,18 e 1,68 mm, com e sem ultrassom.

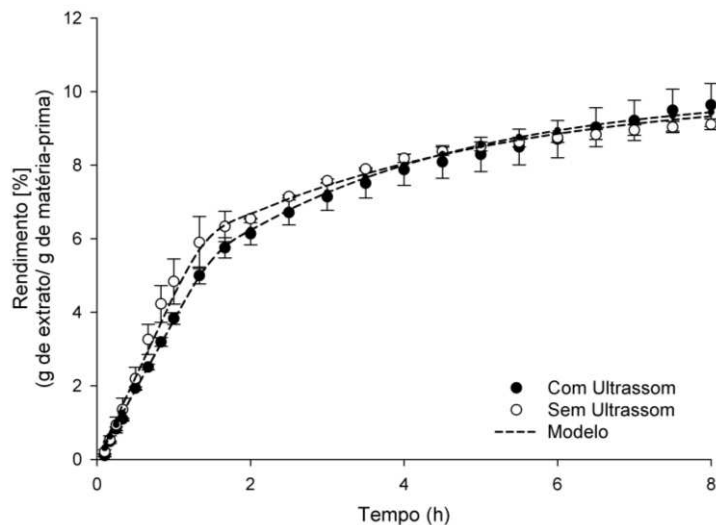


Figura 34 - Valores experimentais (•) e preditos (-) pelo modelo de Sovová (1994) para o diâmetro de partícula entre 0,177 e 0,342 mm, com e sem ultrassom.

As curvas apresentadas na Figura 33 e na Figura 34, além de demonstrarem um ajuste satisfatório aos dados experimentais, apresentam um comportamento característico de cinética de extração supercrítica. O processo se inicia com um período de taxa de extração constante (CER), sendo que esta etapa é caracterizada pela extração dos compostos prontamente disponíveis ao solvente. Quando o soluto de fácil acesso começa a se esgotar, a difusão intraparticular torna-se o principal mecanismo de transferência de massa na SFE. Desta forma, as curvas de extração assumem um formato típico de uma curva de difusão, com diminuição da taxa de extração, até que o rendimento global (X_0) seja atingido.

Observa-se, tanto na Figura 33 quanto na Figura 34, que o período de taxa de extração constante (CER) sofre uma pequena influência da aplicação de ultrassom, fato que é refletido nos valores do tempo de taxa de extração constante (t_{cer}). Ou seja, neste período o fator que rege a extração é o soluto de fácil acesso, que é característica de cada matéria-prima e de seu pré-tratamento. Por outro lado, nos períodos de taxa de extração decrescente e no período difusional, onde ocorre a transferência de massa por difusão, a aplicação de ondas ultrassônicas aumentou o rendimento, sendo que, no final da extração os rendimentos

aumentaram de aproximadamente 5% sem ultrassom para 6% com ultrassom e de 9% para 9,7%, para o menor e o maior diâmetro de partícula, respectivamente. Tal comportamento é explicado devido às cavitações próximas à parede da matriz celular que ocasionam uma perturbação na matriz vegetal, liberando assim o material intraparticular e, conseqüentemente, aumentando o rendimento global de extração.

Os valores dos coeficientes de transferência de massa na fase sólida (k_{XA}), fluida (k_{YA}), a concentração de soluto no interior das partículas (X_k), a função objetivo (f) e o período de taxa de extração constante (t_{cer}) para as extrações realizadas neste trabalho, são apresentados na Tabela 15.

Tabela 15 – Parâmetros ajustados e a função objetivo para o modelo de Sovová (1994) aplicada a extração com dióxido de carbono supercrítico de pimenta malagueta a 15 MPa e 40 °C para o menor e maior diâmetro de partícula, com e sem ultrassom.

Parâmetro	Maior Diâmetro (1,18 a 1,68 mm)		Menor Diâmetro (0,177 a 0,342 mm)	
	Sem US	Com US	Sem US	Com US
X_k^*	0,0276	0,0289	0,0395	0,0447
$k_{YA} \text{ (s}^{-1}\text{) } \times 10^3$	1,3697	1,9103	3,3636	2,7832
$k_{XA} \text{ (s}^{-1}\text{) } \times 10^5$	3,0575	8,9616	4,9794	6,2212
$f \times 10^8$	1,4554	0,6694	2,7608	1,8561
$t_{cer} \text{ (s)}$	5362,6	3596,9	3727,2	4202,7

onde: *kg de soluto/ kg de matéria-prima.

Pode-se observar na Tabela 15 que os valores da função objetivo, que é definida como a soma dos quadrados dos resíduos, teve valores abaixo de 1×10^{-8} , evidenciando um ótimo ajuste do modelo, o que é observado na Figura 33 e na Figura 34.

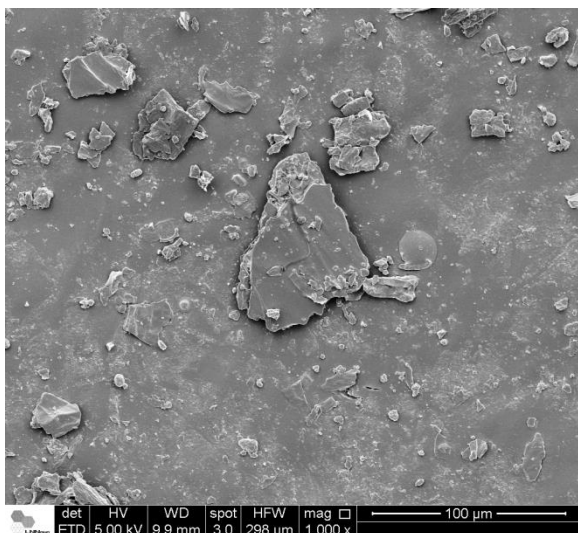
Os valores do coeficiente de transferência de massa na fase sólida (k_{XA}) foram inferiores aos valores do coeficiente de transferência de massa na fase fluida (k_{YA}) para as curvas avaliadas. Segundo Weinhold *et al.*, (2008), o soluto localizado internamente nas partículas tem mais dificuldade de ser dissolvido e, desta forma, leva mais tempo para atravessar a interface entre sólido e fluido em relação ao soluto localizado na superfície das partículas. Assim, os menores k_{XA} obtidos indicam que o mecanismo de difusão é menos representativo quando comparado com a convecção.

Segundo Martínez (2005), a clareza do significado físico dos parâmetros ajustáveis do modelo de Sovová (1994) facilita a compreensão fenomenológica do processo de extração com fluido supercrítico. Portanto, as taxas de extração observadas na Figura 33 para a SFE+US, que foram maiores do que as taxas de extração sem ultrassom se refletem nos valores dos coeficientes de transferência de massa, nas fases fluída e sólida, e conseqüentemente resultam em maiores taxa de extração.

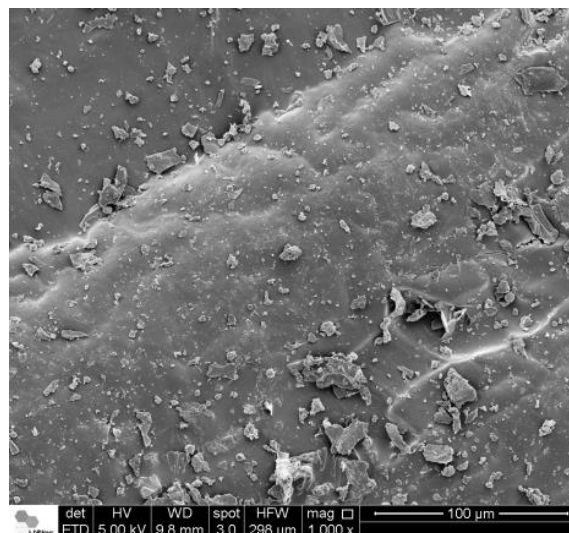
Observa-se, ainda na Tabela 15, que os valores dos coeficientes de transferência de massa na fase sólida e os valores dos coeficientes de transferência de massa na fase fluída foram maiores para a extração assistida por ultrassom do que sem ultrassom para o maior diâmetro de partícula. Por outro lado, os valores dos coeficientes de transferência de massa na fase sólida e fluída para as partículas de menor diâmetro não tiveram uma grande diferença entre seus valores. Segundo GAO *et al.*, (2009), em diâmetros de partícula pequenos, a densidade de empacotamento do leito de extração pode aumentar, o que pode acarretar em um aumento da resistência externa a transferência de massa, e o solvente irá passar através do caminho de menor resistência devido à diminuição da permeabilidade da matriz, resultando na formação de caminhos preferenciais no leito de extração.

4.3.1 Microscopia eletrônica de varredura com fonte de emissão de campo (FESEM)

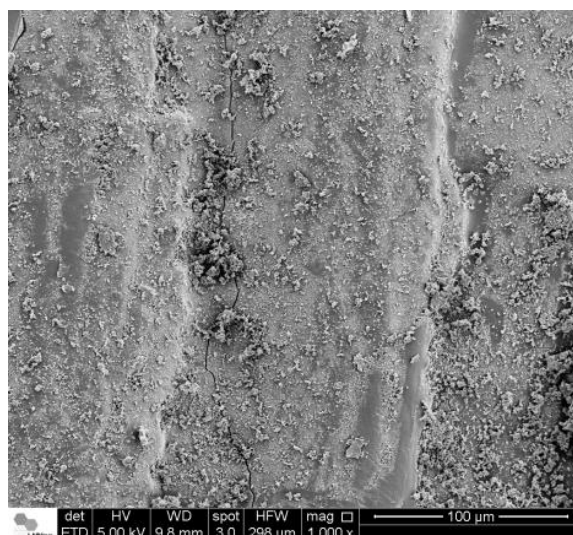
A Figura 35 e a Figura 36 apresentam as imagens obtidas por microscopia eletrônica de varredura para as amostras de pericarpo de pimenta da variedade malagueta moídas e passadas em peneiras para separar as partículas em dois grupos: 1) Partículas de maior diâmetro (1,18 a 1,68 mm) e 2) Partículas de menor diâmetro (0,177 a 0,342 mm), respectivamente. Para os dois diâmetros de partículas, foram avaliadas amostras não extraídas, amostras após a extração com fluido supercrítico e amostras após a extração com fluido supercrítico assistida por ultrassom



(A) Matriz vegetal antes da extração

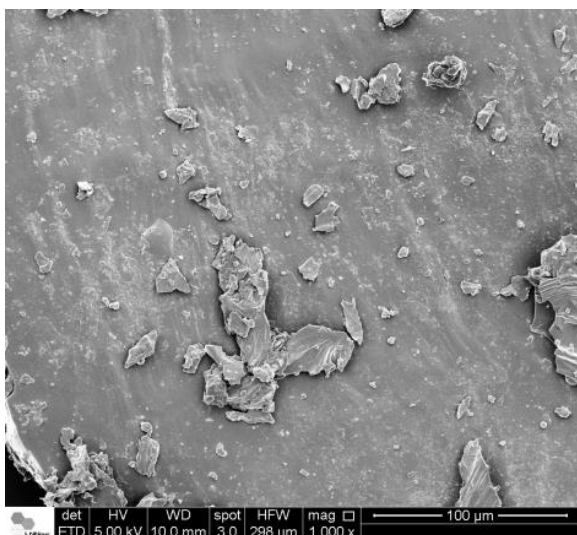


(B) Matriz vegetal após SFE

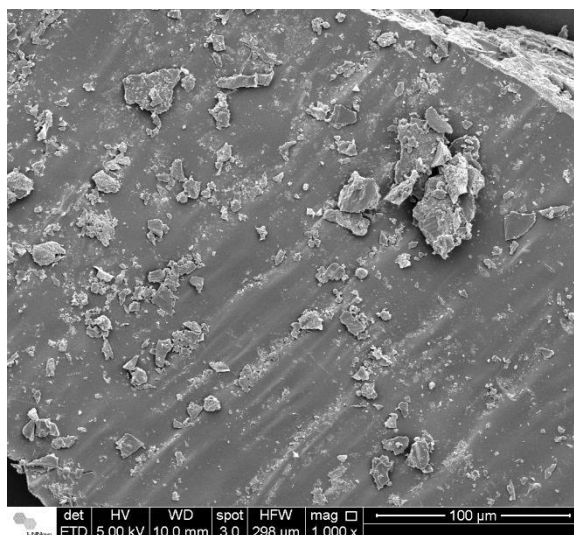


(C) Matriz vegetal após SFE+US

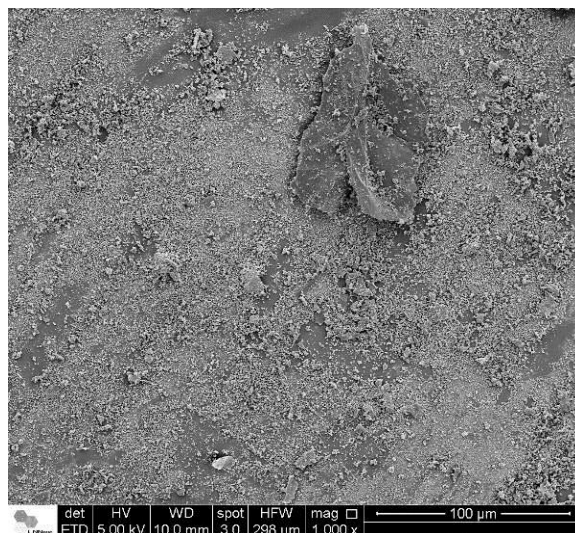
Figura 35 – Imagens de microscopia eletrônica de varredura (FESEM) para as amostras de pericarpo de pimenta malagueta com partículas de maior diâmetro (1.18 a 1.68 mm): (A) Matriz vegetal antes da extração; (B) Matriz vegetal extraída com SFE e (C) Matriz vegetal extraída com SFE+US. Barra de escala de 100 µm.



(A) Matriz vegetal antes da extração



(B) Matriz vegetal após SFE



(C) Matriz vegetal após SFE+US

Figura 36 - Imagens de microscopia eletrônica de varredura (FESEM) para as amostras de pericarpo de pimenta malagueta com partículas de menor diâmetro (0.177 a 0.342 mm): (A) Matriz vegetal antes da extração; (B) Matriz vegetal extraída com SFE e (C) Matriz vegetal extraída com SFE+US. Barra de escala de 100 µm.

As Figura 35 e Figura 36 mostram que os efeitos causados pela aplicação de ondas ultrassônicas no processo de extração supercrítica de pimenta malagueta foram os mesmos para os diferentes diâmetros estudados neste trabalho. As ondas ultrassônicas de alta intensidade perturbam o sólido retirando micropartículas do interior da matriz vegetal, que

depois se depositam na superfície do exocarpo (tecido mais externo do pericarpo). Os depósitos de material particulado na superfície de amostras de pimenta extraída com fluido supercrítico e ultrassom podem ser observados em imagens de microscopia com aumentos maiores, como as apresentadas na Figura 37. Essas micrografias evidenciam a superfície intacta da matriz vegetal, sem rachaduras, e recoberta por material proveniente de dentro da parede celular.

Como já explicado anteriormente na discussão da Figura 27 e Figura 28 (Imagens de FESEM para as amostras de partículas de pimenta com diâmetro de partículas médio), essa remoção e deposição de partículas contribui significativamente para o aumento na taxa e no rendimento de extração de oleorresina de pimenta malagueta. As partículas trazidas do interior da parede vegetal para a superfície possibilitam o acesso do solvente a regiões da matriz que não estavam acessíveis sem a ação do ultrassom.

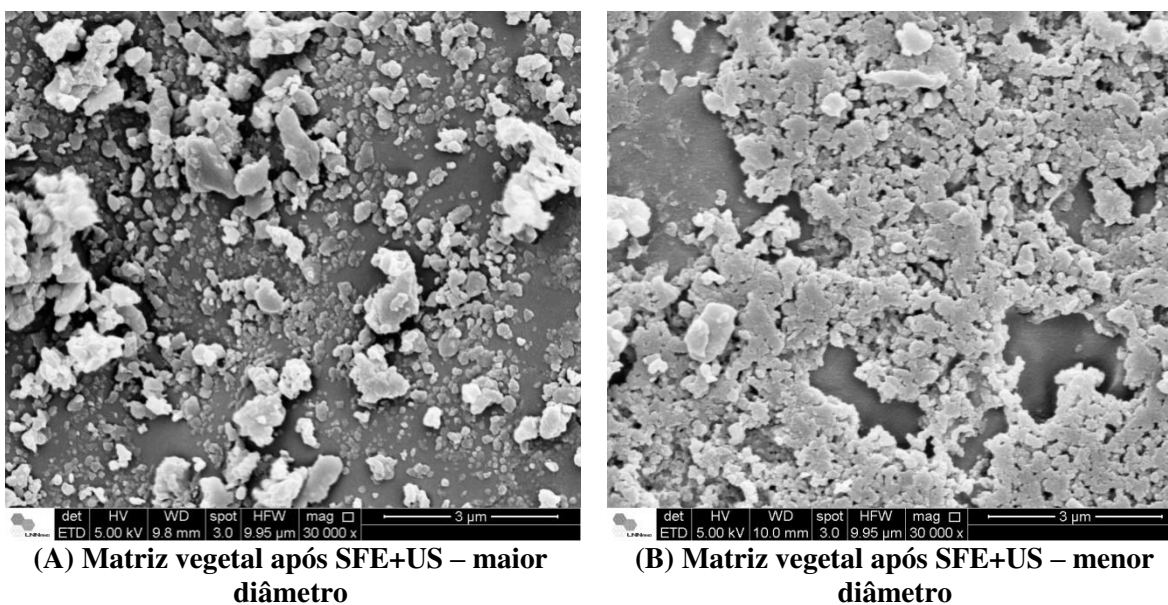


Figura 37 - Imagens de microscopia eletrônica de varredura (FESEM) para as amostras de pericarpo de pimenta malagueta extraídas com SFE+US: (A) partículas de maior diâmetro e (B) partículas de menor diâmetro. Barra de escala de 3 µm.

O aumento da taxa de extração não pode ser simplesmente explicado pelos efeitos abrasivos ou pela turbulência criada pelas ondas ultrassônicas. As observações experimentais sugerem que a intensificação do transporte de massa é devida aos efeitos

físicos sobre a superfície das partículas. Os resultados da modelagem matemática para as amostras de maior diâmetro confirmam que o coeficiente de transferência de massa na fase sólida aumenta com essas perturbações à matriz vegetal.

Segundo Balachandran *et al.*, (2006), é possível que esta perturbação seja causada simplesmente pelas variações bruscas de densidade associadas com as flutuações de pressão induzidas pelas ondas ultrassônicas. No entanto, os autores também consideram a possibilidade de um colapso cavitacional como um dos mecanismos para este aumento. Ainda segundo Balachandran *et al.*, (2006) enquanto não é possível provar que tais fenômenos ocorrem, a cavitação próxima a matriz vegetal continua sendo uma possível causa das perturbações. Tais eventos cavitacionais podem ocorrer devido à formação de bolhas de gás subcríticas no fluido supercrítico.

Segundo Balachandran *et al.*, (2006) deve-se desconsiderar os efeitos cavitacionais acima do ponto crítico, mas, por outro lado, Kuijpers *et al.*, (2002) demonstraram evidências para a ocorrência de cavitações em CO₂ a 74 bar e 283 K, que está bem abaixo da temperatura crítica do CO₂ (304,1 K). Esses últimos autores argumentam que a alta pressão de vapor e a baixa tensão superficial do fluido compensam a pressão externa aplicada. O fenômeno foi ainda estudado por Kemmere *et al.*, (2004) que considerava a polimerização de radicais livres de metacrilato de metila (MMA) em dióxido de carbono no estado líquido. Os autores observaram que o colapso de bolhas cavitacionais não era forte o suficiente para criar pontos quentes para a conversão de monômero. Resultados semelhantes foram observados por Wang e Cheung (2005) ao estudarem a polimerização assistida por ultrassom de metacrilato de metila e estireno em CO₂ subcrítico.

CONCLUSÕES

As extrações de pimenta malagueta com solventes orgânicos (Soxhlet) apresentaram rendimentos maiores quando comparados com as extrações SFE e SFE+US. Entretanto, a técnica convencional tem a desvantagem de utilizar solventes tóxicos necessitando uma etapa posterior de remoção destes solventes.

A extração supercrítica assistida por ultrassom (SFE+US) aumentou em 28% o rendimento global de oleorresina de pimenta malagueta quando comparados com a SFE sem US, sem acarretar mudanças no perfil de capsaicínides totais e no teor de compostos fenólicos. A melhor condição operacional de ultrassom foi 360 W durante 60 minutos, na temperatura, pressão e vazão de solvente de 40° C, 15 MPa e $1,673 \times 10^{-4}$ kg/s, respectivamente.

O maior aumento no rendimento global foi obtido em partículas de tamanho entre 1,18 a 1,68 mm, enquanto que as partículas entre 0,177 e 0,342 mm de diâmetros obtiveram um baixo aumento de rendimento quando as SFEs foram assistidas por ultrassom, conseqüentemente, acarretando em mudanças nos valores dos coeficientes de transferência de massa na fase fluída e na fase sólida. O modelo de Sovová (1994) demonstrou-se eficaz para prever a cinética de extração supercrítica assistida por ultrassom, desde que seja utilizado o valor de X_0 obtido com a aplicação de ondas ultrassônicas.

As imagens de FESEM demonstraram perturbações ao invés de ruptura do pericarpo da matriz vegetal devido à aplicação de ondas ultrassônicas, explicando o aumento do rendimento global de oleorresina de pimenta malagueta, bem como as maiores taxas de extração verificadas nas cinéticas.

De maneira geral, a técnica de ondas ultrassônicas demonstrou-se eficaz na obtenção de extratos de pimenta malagueta, sendo uma técnica alternativa frente aos métodos convencionais de extração. Porém, novos estudos devem ser realizados com o intuito de avaliar a viabilidade econômica do processo, bem como realizar o aumento de escala da extração supercrítica assistida por ultrassom e verificar se, em meio supercrítico, ocorre a formação de bolhas subcríticas ou efeitos cavitacionais.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

A.O.A.C. **Official methods of analysis of AOAC international.** Association of Official Analytical Chemists. Arlington 1998.

A.S.A.E. **Method of Determining and Expressing Fineness of Feed Materials by Sieving.** American Society of Agricultural Engineers Standards. S319.3: 447-550 p. 1998.

AGUIAR, A. C. A. *et al.* **Influence of temperature and pressure conditions on the supercritical CO₂ extraction of Capsicum pepper oleoresin.** ISSF 2012: 10th International Symposium on Supercritical Fluids. São Francisco, CA-USA. 2012.

ALBU, S. *et al.* Potential for the use of ultrasound in the extraction of antioxidants from *Rosmarinus officinalis* for the food and pharmaceutical industry. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 11, n. 3–4, p. 261-265, 2004.

BALACHANDRAN, S. *et al.* Ultrasonic enhancement of the supercritical extraction from ginger. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 13, n. 6, p. 471-479, 2006.

BARBERO, G. *et al.* Ultrasound-assisted extraction of capsaicinoids from peppers. **Talanta**, v. 75, n. 5, p. 1332-1337, 2008.

BARBERO, G. F.; PALMA, M.; BARROSO, C. G. Pressurized Liquid Extraction of Capsaicinoids from Peppers. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, n. 9, p. 3231-3236, 2006.

BEHREND, O.; SCHUBERT, H. Influence of hydrostatic pressure and gas content on continuous ultrasound emulsification. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 8, n. 3, p. 271-276, 2001.

BIESAGA, M. Influence of extraction methods on stability of flavonoids. **Journal of Chromatography A**, v. 1218, n. 18, p. 2505-2512, 2011.

BONTEMPO, M. **Pimenta e seus benefícios à saúde.** Alaúde Editorial Ltda. São Paulo – SP: 2007. 110.

BOONKIRD, S.; PHISALAPHONG, C.; PHISALAPHONG, M. Ultrasound-assisted extraction of capsaicinoids from *Capsicum frutescens* on a lab- and pilot-plant scale. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 15, n. 6, p. 1075-1079, 2008.

BRUNNER, G. **Gas extraction: an introduction to fundamentals of supercritical fluids and the application to separation processes.** Steinkopff; Springer. Darmstadt, New York: 1994.

BRUNNER, G. Supercritical fluids: technology and application to food processing. **Journal of Food Engineering**, v. 67, n. 1-2, p. 21-33, 2005.

BYERS, J. A. Catálogo Phenomenex. 2009. Disponível em: <
<http://www.phenomenex.com/phen/Doc/z366.pdf>>.

CARRERA, C. *et al.* Ultrasound assisted extraction of phenolic compounds from grapes. **Analytica Chimica Acta**, v. 732, n. 0, p. 100-104, 2012.

CASTRO, L.; CAPOTE, F. P. **Analytical Applications of Ultrasound**. Elsevier, 2007. 1-298.

CHEMAT, F.; ZILL E, H.; KHAN, M. K. Applications of ultrasound in food technology: Processing, preservation and extraction. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 18, n. 4, p. 813-835, 2011.

CHEN, F. *et al.* Optimization of ultrasound-assisted extraction of anthocyanins in red raspberries and identification of anthocyanins in extract using high-performance liquid chromatography–mass spectrometry. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 14, n. 6, p. 767-778, 2007.

CHEN, J. *et al.* **Effects of Ultrasound on Mass Transfer in Supercritical Extraction**. 4th International Symposium on Supercritical Fluids. Sendai-Japão: 707–710 p. 1997.

CHITTAPALO, T.; NOOMHORM, A. Ultrasonic assisted alkali extraction of protein from defatted rice bran and properties of the protein concentrates. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 44, n. 9, p. 1843-1849, 2009.

CONSTANT, H. L.; CORDELL, G. A.; WEST, D. P. Nonivamide, a Constituent of Capsicum oleoresin. **Journal of Natural Products**, v. 59, n. 4, p. 425-426, 1996.

CONSTANT, H. L. *et al.* Separation and Quantification of Capsaicinoids Using Complexation Chromatography. **Journal of Natural Products**, v. 58, n. 12, p. 1925-1928, 1995.

CRONQUIST, A. J. **The evolution and classification of flowering plants**. New York Botanical Garden, 1988.

DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L.; FENNEMA, O. R. **Química de Alimentos de Fennema**. Porto Alegre-RS: Artmed, 2010. 900.

DAOOD, H. G. *et al.* Extraction of pungent spice paprika by supercritical carbon dioxide and subcritical propane. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 23, n. 2, p. 143-152, 2002.

DEL VALLE, J. M.; JIMÉNEZ, M.; DE LA FUENTE, J. C. Extraction kinetics of pre-pelletized Jalapeño peppers with supercritical CO₂. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 25, n. 1, p. 33-44, 2003.

DUARTE, C. *et al.* Supercritical fluid extraction of red pepper (*Capsicum frutescens* L.). **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 30, n. 2, p. 155-161, 2004.

EMBRAPA. **Pimentas do genero capsicum no Brasil**. 2006. 27.

ESCLAPEZ, M. D. *et al.* Ultrasound-Assisted Extraction of Natural Products. **Food Engineering Reviews**, v. 3, n. 2, p. 108-120, 2011.

ESTRADA, B. *et al.* Effects of mineral fertilizer supplementation on fruit development and pungency in 'Padron' peppers. **Journal of Horticultural Science and Biotechnology**, v. 73, n. 4, p. 493-497, 1998.

ESTRADA, B. *et al.* Pungency level in fruits of the Padrón pepper with different water supply. **Scientia Horticulturae**, v. 81, n. 4, p. 385-396, 1999.

F.A.O. Production Indices. **Food and Agriculture Organization of the United Nations**, Rome, Italy, 2010. Disponível em: < <http://faostat3.fao.org/home/index.html#HOME> >. Acesso em: 12 de dezembro.

FERNANDES, F. A. N.; LINHARES JR, F. E.; RODRIGUES, S. Ultrasound as pre-treatment for drying of pineapple. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 15, n. 6, p. 1049-1054, 2008.

GAO, Y. *et al.* Supercritical CO₂ extraction of lutein esters from marigold (*Tagetes erecta* L.) enhanced by ultrasound. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 49, n. 3, p. 345-350, 2009.

GHAEDIAN, R. *et al.* Ultrasonic determination of fish composition. **Journal of Food Engineering**, v. 35, n. 3, p. 323-337, 1998.

GOVINDARAJAN, V. S.; SATHYANARAYANA, M. N. Capsicum — production, technology, chemistry, and quality. Part V. Impact on physiology, pharmacology, nutrition, and metabolism; structure, pungency, pain, and desensitization sequences. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 29, n. 6, p. 435-474, 1991.

HU, A.-J. *et al.* Ultrasound assisted supercritical fluid extraction of oil and coixenolide from adlay seed. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 14, n. 2, p. 219-224, 2007.

I.A.L. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. Instituto Adolfo Lutz. Brasília 2005.

JORDÃO, P. R.; BONNAS, D. S. Estudo das características físicas, físico-químicas e químicas de duas cultivares de pimenta, objetivando a industrialização. **Revista Brasileira Análítica de Alimentos**, n. 2, p. 36-37, 1996.

KEMMERE, M. *et al.* Ultrasound-induced polymerization of methyl methacrylate in liquid carbon dioxide: A clean and safe route to produce polymers with controlled molecular weight. **Macromol. Symp.**, v. 206, p. 321-331, 2004.

KHAN, M. K. *et al.* Ultrasound-assisted extraction of polyphenols (flavanone glycosides) from orange (*Citrus sinensis* L.) peel. **Food Chemistry**, v. 119, n. 2, p. 851-858, 2010.

KUIJPERS, M. W. A. *et al.* Cavitation-Induced Reactions in High-Pressure Carbon Dioxide. **Science**, v. 298, n. 5600, p. 1969-1971, December 6, 2002 2002.

KWON, K.-T. *et al.* Solubility of red pepper (*Capsicum annum*) oil in near- and supercritical carbon dioxide and quantification of capsaicin. **Korean Journal of Chemical Engineering**, v. 28, n. 6, p. 1433-1438, 2011/06/01 2011.

LEAL, P. F. **Estudo comparativo entre os custos de manufatura e as propriedades funcionais de óleos vegetais obtidos por extração supercrítica e destilação por arraste a vapor**. 2008. 275 Tese de Doutorado, Universidade Estadual de Campinas, Campinas-SP.

LI, B.; SUN, D.-W. Effect of power ultrasound on freezing rate during immersion freezing of potatoes. **Journal of Food Engineering**, v. 55, n. 3, p. 277-282, 2002.

LIANFU, Z.; ZELONG, L. Optimization and comparison of ultrasound/microwave assisted extraction (UMAE) and ultrasonic assisted extraction (UAE) of lycopene from tomatoes. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 15, n. 5, p. 731-737, 2008.

LIU, Y.; NAIR, M. G. Capsaicinoids in the hottest pepper Bhut Jolokia and its antioxidant and antiinflammatory activities. **Natural product communications**, v. 5, n. 1, p. 91-94, 2010.

MARKOM, M. *et al.* Extraction of hydrolysable tannins from *Phyllanthus niruri* Linn.: Effects of solvents and extraction methods. **Separation and Purification Technology**, v. 52, n. 3, p. 487-496, 2007.

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. 190 (Doutorado). Departamento de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas-SP.

MARTINEZ, J. L. **Supercritical fluid extraction of nutraceuticals and bioactive compounds**. . Boca Raton-FL: CRC Press, 2008.

MAZZUTTI, S. *et al.* Supercritical fluid extraction of *Agaricus brasiliensis*: Antioxidant and antimicrobial activities. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 70, n. 0, p. 48-56, 2012.

MCCLEMENTS, D. J. Advances in the application of ultrasound in food analysis and processing. **Trends in Food Science & Technology**, v. 6, n. 9, p. 293-299, 1995.

MEDINA, C. I.; LOBO, M.; GÓMEZ, A. F. Variabilidad fenotípica en poblaciones de ají y pimentón de la colección colombiana del género *Capsicum*. **Revista Corpoica – Ciencia y Tecnología Agropecuaria**, v. 7, n. 2, 2006.

NOGUEIRA, R. I. *et al.* **Effects of drying parameters on pepper (*Capsicum spp*) quality**. 4th Mercosur Congress on Process Systems Engineering (Enpromer). Costa Verde - RJ. 2005.

OGISO, Y. *et al.* An Antioxidant of Dried Chili Pepper Maintained Its Activity through Postharvest Ripening for 18 Months. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, v. 72, n. 12, p. 3297-3300, 2008.

ORDOÑEZ, J. A. *et al.* Effect of combined ultrasonic and heat treatment (thermoultrasonication) on the survival of a strain of *Staphylococcus aureus*. **Journal of Dairy Research**, v. 54, n. 01, p. 61-67, 1987.

PERUCKA, I.; OLESZEK, W. Extraction and determination of capsaicinoids in fruit of hot pepper *Capsicum annuum* L. by spectrophotometry and high-performance liquid chromatography. **Food Chemistry**, v. 71, n. 2, p. 287-291, 2000.

PERVA-UZUNALIĆ, A. *et al.* Extraction of chilli pepper (var. Byedige) with supercritical CO₂: Effect of pressure and temperature on capsaicinoid and colour extraction efficiency. **Food Chemistry**, v. 87, n. 1, p. 51-58, 2004.

PICKERSGILL, B. PEPPERS AND CHILLIES. In: EDITOR-IN-CHIEF: BENJAMIN, C. (Ed.). **Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition (Second Edition)**. Oxford: Academic Press, 2003. p.4460-4467.

POVEY, M. J. W.; MASON, T. J. **Ultrasound in food processing**. New York, NY: Blackie Academic & Professional, 1998. 282.

POWELL, M. J. D. **Subroutine BOBQYA**: Department of Applied Mathematics and Theoretical Physics, Cambridge University 2009.

PRAKASH, V.; EIPESON, W. Post-harvest handling and processing of Capsicums. In: (Ed.). **Capsicum: The genus Capsicum**: CRC Press, 2003. p.163-174. (Medicinal and Aromatic Plants - Industrial Profiles).

RAVENTOS, M.; DUARTE, S.; ALARCON, R. Application and possibilities of supercritical CO₂ extraction in food processing industry: An overview. **Food Science and Technology International**, v. 8, n. 5, p. 269-284, Oct 2002.

RAZAVIAN, S. M. *et al.* Determination of particle sedimentation rate by ultrasonic interferometry: Role of particle size, density and volume fraction. **Biorheology**, v. 34, n. 4–5, p. 349-362, 1997.

REVERCHON, E.; DE MARCO, I. Supercritical fluid extraction and fractionation of natural matter. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 38, n. 2, p. 146-166, 2006.

REYES-ESCOGIDO, M.; GONZALEZ-MONDRAGON, E. G.; VAZQUEZ-TZOMPANTZI, E. Chemical and Pharmacological Aspects of Capsaicin. **Molecules**, v. 16, n. 2, p. 1253-1270, 2011.

RIERA, E. *et al.* Mass transfer enhancement in supercritical fluids extraction by means of power ultrasound. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 11, n. 3–4, p. 241-244, 2004.

RIERA, E. *et al.* **Generation and effects of high-intensity ultrasound in supercritical fluids**. World Congress on Ultrasonics (WCU). Paris-França: 427-430 p. 2003.

ROBIN, G. *et al.* Ultrasonic self-calibrated method applied to monitoring of sol–gel transition. **Ultrasonics**, v. 52, n. 5, p. 622-627, 2012.

ROSA, P. *et al.* Supercritical and Pressurized Fluid Extraction Applied to the Food Industry. In: (Ed.). **Extracting Bioactive Compounds for Food Products**: Boca Raton: CRC Press, 2008. p.269-401. (Contemporary Food Engineering).

SAIKAT KUMAR, B.; AMIT KRISHNA, D. Capsicum: historical and botanical perspectives. In: (Ed.). **Capsicum: The genus Capsicum**: CRC Press, 2003. p.1-16. (Medicinal and Aromatic Plants - Industrial Profiles).

SANDLER, S. I. **Chemical, biochemical and engineering thermodynamics**. 4^a. Wiley Series, 2006. 495.

SCHWEIGGERT, U.; CARLE, R.; SCHIEBER, A. Characterization of major and minor capsaicinoids and related compounds in chili pods (*Capsicum frutescens* L.) by high-performance liquid chromatography/atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, v. 557, n. 1–2, p. 236-244, 2006.

SHAHIDI, F.; NACZK, M. **Penholics in Food and Nutraceuticals**. Boca Raton: CRC Press, 2003. 558.

SILVA, L. P. S. **Modelagem matemática da transferência de massa no processo de extração supercrítica de pimenta vermelha**. 2013. 215 (Mestrado). Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

SINGLETON, V. L.; ORTHOFER, R.; LAMUELA-RAVENTÓS, R. M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. In: LESTER, P. (Ed.). **Methods in Enzymology**: Academic Press, v. Volume 299, 1999. p.152-178.

SOUZA, S. A. M. **Caracterização citogenética, química e molecular em *Capsicum chinense* Jacq.** 2008. 67 (Dissertação de Mestrado). Universidade Estadual do Norte Fluminense – UENF., Campos dos Goytacazes – RJ.

SOVOVÁ, H. Rate of the vegetable oil extraction with supercritical CO₂—I. Modelling of extraction curves. **Chemical Engineering Science**, v. 49, n. 3, p. 409-414, 1994.

STANISAVLJEVIĆ, I. T.; LAZIĆ, M. L.; VELJKOVIĆ, V. B. Ultrasonic extraction of oil from tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) seeds. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 14, n. 5, p. 646-652, 2007.

SURH, Y.-J. More Than Spice: Capsaicin in Hot Chili Peppers Makes Tumor Cells Commit Suicide. **Journal of the National Cancer Institute**, v. 94, n. 17, p. 1263-1265, September 4, 2002 2002.

TAKEUCHI, T. *et al.* Low-Pressure Solvent Extraction (Solid-Liquid Extraction, Microwave Assisted, and Ultrasound Assisted) from Condimentary Plants. In: (Ed.). **Extracting Bioactive Compounds for Food Products**: CRC Press, v.null, 2008. p.137-218. (Contemporary Food Engineering).

THOMPSON, R. Q.; LOA, K. Applications of argentation solid phase extraction to the capsaicinoids: Purification of commercial standards and isolation of homodihydrocapsaicin (8-methyl) from ‘Bhut Jolokia’. **Food Chemistry**, v. 126, n. 3, p. 1424-1430, 2011.

TIAN, Y. *et al.* Optimization of ultrasonic-assisted extraction of pomegranate (*Punica granatum* L.) seed oil. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 20, n. 1, p. 202-208, 2013.

TOMA, M. *et al.* Investigation of the effects of ultrasound on vegetal tissues during solvent extraction. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 8, n. 2, p. 137-142, 2001.

UQUICHE, E.; VALLE, J.; ORTIZ, J. Supercritical carbon dioxide extraction of red pepper (*Capsicum annum* L.) oleoresin. **Journal of food engineering**, v. 65, n. 1, p. 55-66, 2004.

VERCET, A.; LOPEZ, P.; BURGOS, J. Inactivation of Heat-Resistant Pectinmethylesterase from Orange by Manothermosonication. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 47, n. 2, p. 432-437, 1999/02/01 1999.

VILLASEÑOR, I. M.; DE OCAMPO, E. J. Clastogenicity of red pepper (*Capsicum frutescens* L.) extracts. **Mutation Research/Environmental Mutagenesis and Related Subjects**, v. 312, n. 2, p. 151-155, 1994.

WAHYUNI, Y. *et al.* Metabolite biodiversity in pepper (*Capsicum*) fruits of thirty-two diverse accessions: Variation in health-related compounds and implications for breeding. **Phytochemistry**, v. 72, n. 11–12, p. 1358-1370, 2011.

WALTER, J. P. Physics of high-resolution ultrasound--practical aspects. **Radiologic clinics of North America**, v. 23, n. 1, p. 3-11, 1985.

WANG, L.; WELLER, C. L. Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants. **Trends in Food Science & Technology**, v. 17, n. 6, p. 300-312, 2006.

WANG, R.; CHEUNG, H. M. Ultrasound assisted polymerization of MMA and styrene in near critical CO₂. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 33, n. 3, p. 269-274, 2005.

WANG, Y.; POVEY, M. J. W. A simple and rapid method for the determination of particle size in emulsions from ultrasound data. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 12, n. 3–6, p. 417-427, 1999.

WEINHOLD, T. D. S. *et al.* Polygala cyparissias oleoresin: Comparing CO₂ and classical organic solvent extractions. **Chemical Engineering and Processing: Process Intensification**, v. 47, n. 1, p. 109-117, 2008.

WEN, X.; SUI, P.; HUANG, X. Exerting ultrasound to control the membrane fouling in filtration of anaerobic activated sludge--mechanism and membrane damage. **Water Sci Technol**, v. 57, n. 5, p. 773-779, 2008.

WILLIAMS, J. R.; CLIFFORD, A. A. **Supercritical Fluid Methods and Protocols. Methods in Biotechnology**. Springer. 2000.

YING, Z.; HAN, X.; LI, J. Ultrasound-assisted extraction of polysaccharides from mulberry leaves. **Food Chemistry**, v. 127, n. 3, p. 1273-1279, 2011.

YU, J. *et al.* Application of response surface methodology to optimise supercritical carbon dioxide extraction of oil from rapeseed (*Brassica napus* L.). **International Journal of Food Science & Technology**, v. 47, n. 6, p. 1115-1121, 2012.

ZEWDIE, Y.; BOSLAND, P. W. Capsaicinoid profiles are not good chemotaxonomic indicators for Capsicum species. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 29, n. 2, p. 161-169, 2001.

ZHANG, Z.-S. *et al.* Ultrasound-assisted extraction of oil from flaxseed. **Separation and Purification Technology**, v. 62, n. 1, p. 192-198, 2008.

ZHAO, S.; KWOK, K.-C.; LIANG, H. Investigation on ultrasound assisted extraction of saikosaponins from Radix Bupleuri. **Separation and Purification Technology**, v. 55, n. 3, p. 307-312, 2007.

APÊNDICE

I. Curva padrão de capsaicina (C)

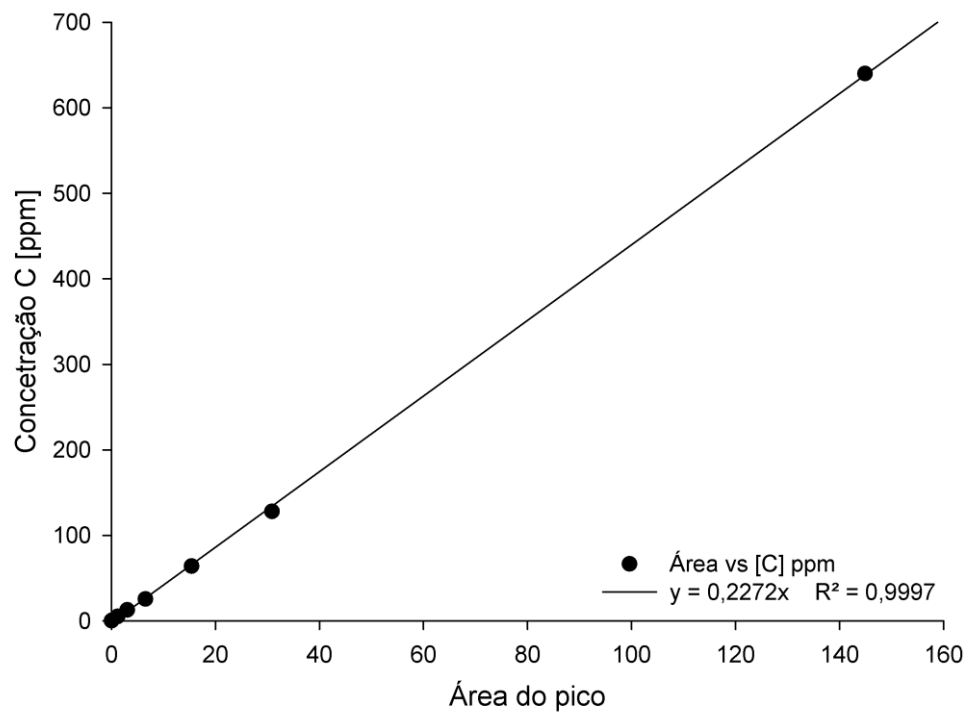


Figura 38 – Curva padrão de capsaicina (C)

II. Curva padrão de dihidrocapsaicina (DHC)

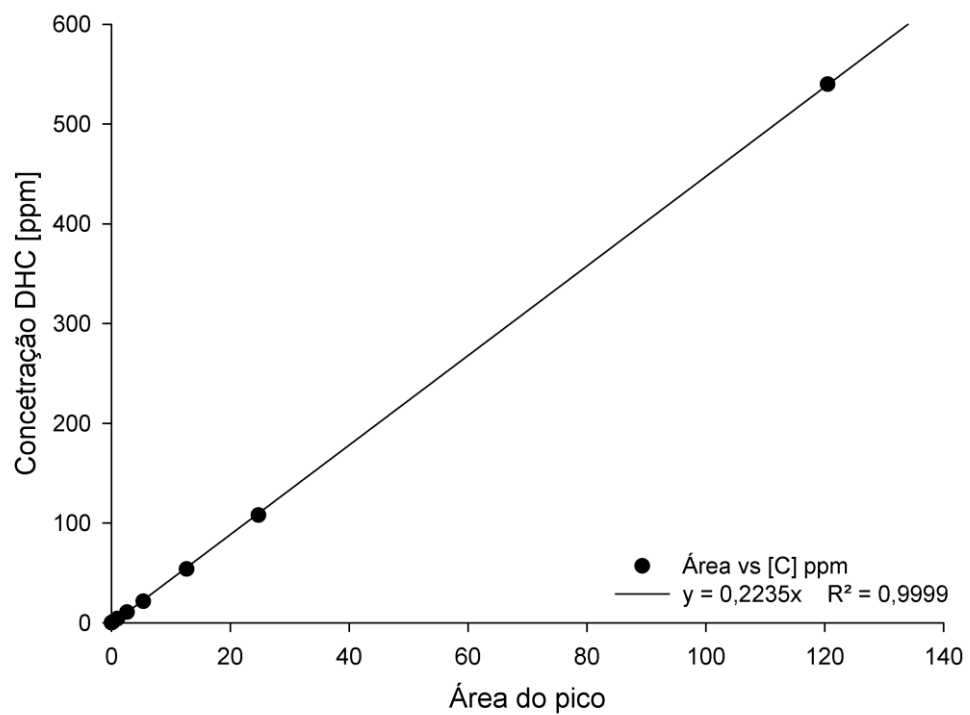


Figura 39 – Curva padrão de dihidrocapsaicina (DHC)

III. Cromatograma com perfil de capsaicinoides

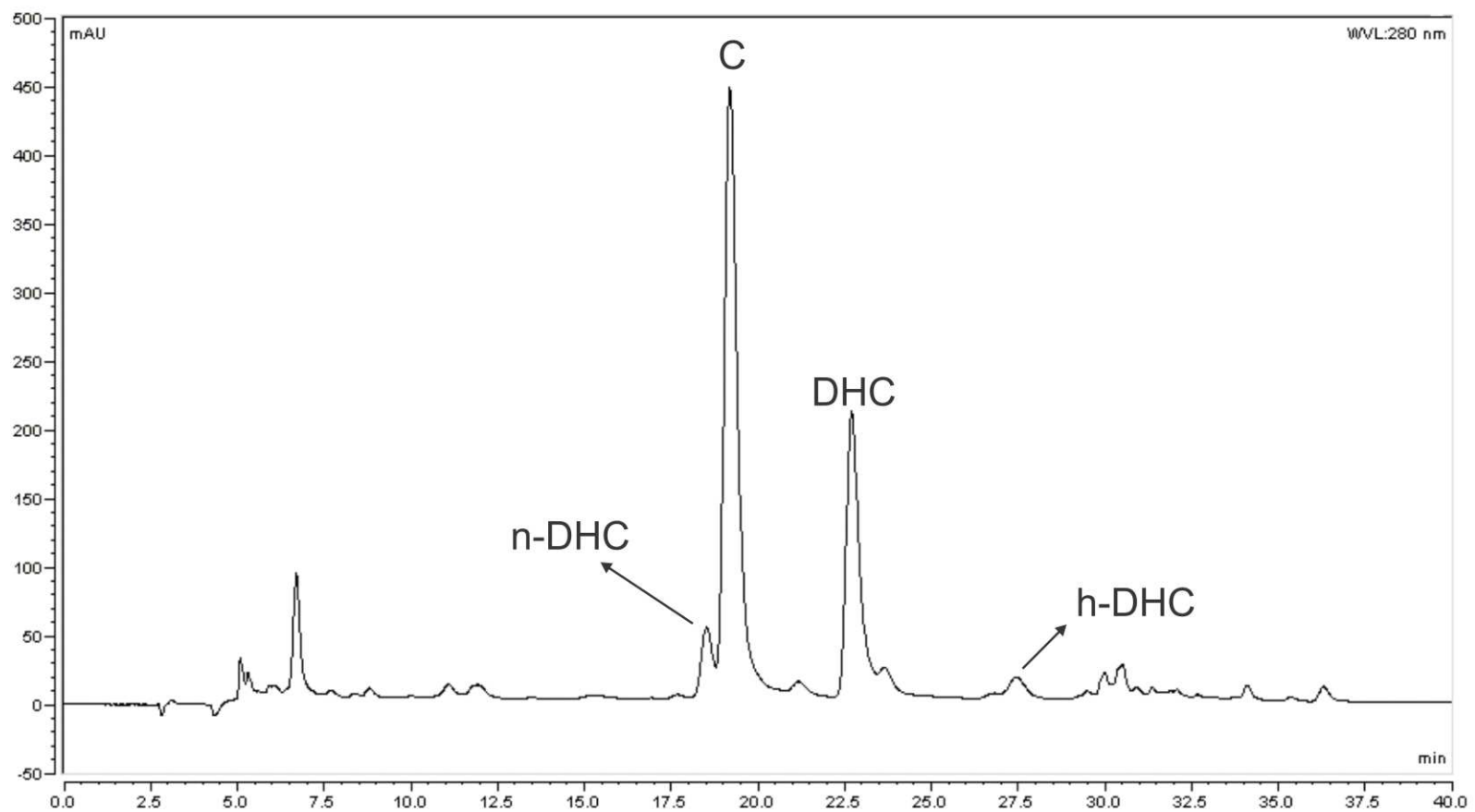


Figura 40 – Cromatograma com o perfil de capsaicinoides, capsaicina (C), dihidrocapsaicina (DHC), nordihidrocapsaicina (n-DHC) e homohidrocapsaicina (h – DHC) para o extrato obtido via SFE (40°C e 15 MPa) sem US.

IV. Curva padrão de ácido gálico

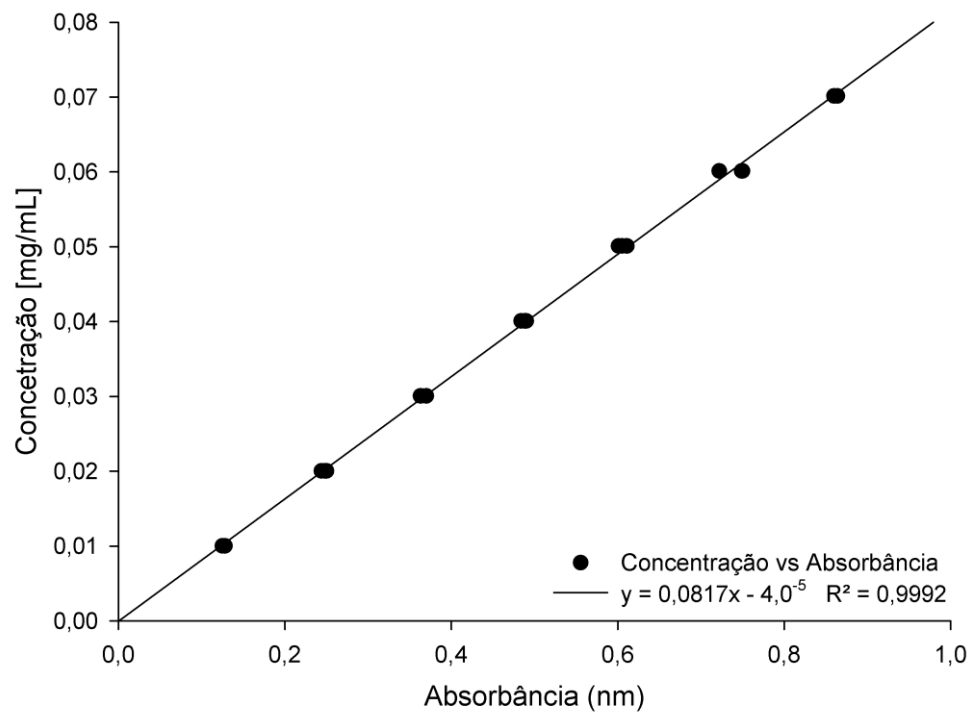


Figura 41 – Curva padrão de ácido gálico.

Tabela 16 – Dados experimentais de extrato acumulado (g) de oleoresina de pimenta malagueta (*Capsicum frutescens* L.) obtida via extração supercrítica não assistida e assistida por ultrassom (360 W), nas condições operacionais de 15 MPa, 40 °C e uma vazão de solvente de $1,673 \times 10^{-4}$ kg/s, para o menor e o maior diâmetro de partícula.

Tempo (min)	Maior Diâmetro (1,18 a 1,68 mm)				Menor Diâmetro (0,177 a 0,342 mm)			
	SFE		SFE+US		SFE		SFE+US	
	A (g) F=20,0677	B (g) F=20,7010	A (g) F=20,4855	B (g) F=20,4132	A (g) F=20,0653	B (g) F=20,1653	A (g) F=20,056	B (g) F=21,043
5	0,007	0,006	0,0234	0,0372	0,0366	0,03783	0,0243	0,0193
10	0,0162	0,0394	0,073	0,0753	0,0979	0,09936	0,1008	0,1028
15	0,0341	0,0781	0,1233	0,1194	0,1673	0,17176	0,1632	0,1822
20	0,0565	0,126	0,1866	0,1727	0,2424	0,24686	0,2212	0,2372
30	0,1232	0,2253	0,2993	0,2664	0,4128	0,41738	0,3971	0,4101
40	0,2232	0,3288	0,4034	0,3680	0,6187	0,62448	0,5183	0,5283
50	0,3078	0,426	0,5043	0,4664	0,8056	0,8105	0,6615	0,6695
60	0,3951	0,5109	0,5848	0,5657	0,9175	0,9256	0,7951	0,8011
80	0,5391	0,6077	0,6885	0,7053	1,1227	1,1308	1,0396	1,0436
100	0,629	0,6729	0,7597	0,7858	1,2406	1,2507	1,1978	1,1998
120	0,6843	0,7256	0,8178	0,8503	1,3232	1,3343	1,2778	1,2778
150	0,7414	0,7821	0,9077	0,9290	1,4427	1,4558	1,3994	1,3974
180	0,7821	0,8265	0,9614	1,0015	1,5286	1,5437	1,4897	1,4857
210	0,8164	0,8597	1,0077	1,0402	1,5946	1,60782	1,5672	1,5612
240	0,8462	0,8929	1,042	1,0740	1,6459	1,66032	1,645	1,637
270	0,901	0,9213	1,0809	1,1027	1,6845	1,69904	1,6898	1,6798
300	0,9232	0,9518	1,1101	1,1312	1,7104	1,72714	1,7334	1,7214
330	0,9437	0,9783	1,132	1,1560	1,7337	1,75244	1,7766	1,7626
360	0,9636	0,9925	1,1724	1,1801	1,7581	1,77684	1,822	1,806
390	0,9823	1,0084	1,1985	1,2002	1,7742	1,79394	1,8905	1,8725
420	1,0013	1,0246	1,2251	1,2222	1,7981	1,81984	1,9293	1,9093
450	1,0153	1,0431	1,2481	1,2422	1,814	1,83774	1,9884	1,9664
480	1,0324	1,0635	1,2684	1,2649	1,8295	1,85136	2,0193	1,9953

A e B– Réplicas dos experimentos; SFE – Extração supercrítica; US – Ultrassom; F – Massa de matriz vegetal alimentada em g.