



SUZARA SANTOS COSTA

EXTRAÇÃO DE ESPILANTOL ASSISTIDA POR MICRO-
ONDAS A PARTIR DE FLORES, FOLHAS E CAULES DE
JAMBU (*Acmella oleracea* (L.) R. K. Jansen)

CAMPINAS

2014



UNICAMP

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ENGENHARIA QUÍMICA

SUZARA SANTOS COSTA

EXTRAÇÃO DE ESPILANTOL ASSISTIDA POR MICRO-ONDAS A PARTIR
DE FLORES, FOLHAS E CAULES DE JAMBU (*Acmella oleracea* (L.) R. K.
Jansen)

Tese apresentada à Faculdade de Engenharia Química da
Universidade Estadual de Campinas como parte dos
requisitos exigidos para a obtenção do título de Doutora
em Engenharia Química.

Orientadora: Prof^ª Dr^ª. Sandra Cristina dos Santos Rocha

ESTE EXEMPLAR CORRESPONDE À VERSÃO FINAL DA TESE
DEFENDIDA PELA ALUNA SUZARA SANTOS COSTA, E ORIENTADA
PELA PROF(A). DR(A). SANDRA CRISTINA DOS SANTOS ROCHA

Assinatura do Orientador

CAMPINAS

2014

iii

Ficha catalográfica
Universidade Estadual de Campinas
Biblioteca da Área de Engenharia e Arquitetura
Elizangela Aparecida dos Santos Souza - CRB 8/8098

C823e Costa, Suzara Santos, 1983-
Extração de espilantol assistida por micro-ondas a partir de flores, folhas e caules de jambu (*Acmella oleracea* (L.) R. K. Jansen) / Suzara Santos Costa. – Campinas, SP : [s.n.], 2014.

Orientador: Sandra Cristina dos Santos Rocha.
Tese (doutorado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia Química.

1. Jambu - Sementes. 2. Extração. 3. Microondas. 4. *Spilanthes oleracea*. I. Rocha, Sandra Cristina dos Santos, 1957-. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia Química. III. Título.

Informações para Biblioteca Digital

Título em outro idioma: Microwave extraction of spilanthol from flowers, leaves and stems of jambu (*Acmella oleracea* (L.) R. K. Jansen)

Palavras-chave em inglês:

Jambu-Seeds

Extraction

Microwave

Spilanthes oleracea

Área de concentração: Engenharia de Processos

Titulação: Doutora em Engenharia Química

Banca examinadora:

Sandra Cristina dos Santos Rocha [Orientador]

Vijaya Grama Seetharamiengar Raghavan

Nádia Rosa Pereira

Osvaldir Pereira Taranto

Cesar Augusto Agurto Lescano

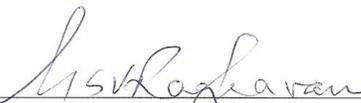
Data de defesa: 21-03-2014

Programa de Pós-Graduação: Engenharia Química

Tese de Doutorado defendida por Suzara Santos Costa e aprovada em 21 de março de 2014
pela banca examinadora constituída pelos doutores:



Prof^ª Dr^ª Sandra Cristina dos Santos Rocha – Orientador



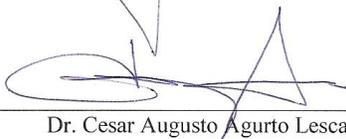
Prof. Dr. Vijaya Grama Seetharamiengar Raghavan



Prof^ª Dr^ª Nádía Rosa Pereira



Prof. Dr. Osvaldir Pereira Taranto



Dr. Cesar Augusto Agurto Lescano

RESUMO

Jambu (*Acmella oleracea* (L.) R. K. Jansen) é uma planta que está despertando o interesse de empresas e pesquisadores, devido a sua amida, espilantol. A extração assistida por micro-ondas é uma técnica de irradiação que tem revelado excelentes resultados em termos de desempenho do processo. O sistema de aquecimento fornece energia suficiente para romper as estruturas celulares, melhorando a introdução do solvente na matriz e aumentando o rendimento do processo. Este trabalho reporta a extração de espilantol assistida por micro-ondas. Avaliou-se o efeito da temperatura (40 – 60 °C) e do tempo de extração (10 – 30 min) no rendimento do componente majoritário, através de um planejamento composto central de face centrada (FCCCD), onde a variável resposta foi quantificada a partir de um padrão de espilantol obtido em escala de laboratório. Antes da execução do planejamento, um procedimento de calibração do forno foi desenvolvido. Além disso, determinou-se as propriedades dielétricas do sistema sólido-solvente, em diferentes níveis de frequência e temperaturas. Os modelos ajustados durante a calibração do forno, racional ($R^2 = 0,9988$) e linear ($R^2 = 0,9999$), foram capazes de atingir e manter a temperatura-objetivo constante na cavidade durante todo o processo e os valores preditos estiveram em concordância com os dados experimentais. GC/MS foi capaz de identificar o pico de espilantol e a biblioteca NIST confirmou a presença do composto através do seu espectro de massas. A equação linear ajustou muito bem os resultados ($R^2 = 99,8 \%$) e foi utilizada na quantificação dos resultados do planejamento experimental. Os rendimentos mínimos e máximos de espilantol obtidos a partir do FCCCD foram 1,71 e 4,47 g/ 100 g de matéria seca para as flores, 0,75 e 1,90 g/ 100 g de matéria seca para as folhas e 0,40 e 0,63 g/ 100 g de matéria seca para os caules. Os resultados foram reproduzíveis e indicaram baixa variabilidade para o rendimento de espilantol nos pontos centrais do planejamento, tais como, $3,85 \pm 0,07$ g/ 100g de matéria seca para as flores, $1,67 \pm 0,15$ g/ 100 g de matéria seca para as folhas e $0,45 \pm 0,02$ g/ 100 g de matéria seca para os caules. Os termos lineares e quadráticos, combinados ou não, da temperatura e tempo de extração mostraram um efeito estatístico significativo para todas as partes da planta, utilizando 90 % de confiança e $\alpha = 0,1$. As propriedades dielétricas foram afetadas pela frequência (0,45 – 10,45 GHz) e temperatura (20 – 60 °C).

ABSTRACT

Jambu (*Acmella oleracea* (L.) R. K. Jansen) is a plant, which is gaining attention both from research community and Brazilian companies, due to its great value, spilanthol. The microwave extraction is an irradiation technique that has shown excellent results in terms of process performance. Its heating system provides enough energy to rupture the cell structure improving the solvent penetration in the matrix and increasing the process recovery. This work reports a microwave extraction of the jambu. The effect of temperature (40 – 60 °C) and time of extraction (10 – 30 min) for the spilanthol yield were evaluated following a face-centered central composite design (FCCCD), where the response variable was quantified by the spilanthol yield that was obtained at a laboratory scale. Before the experimental design, a calibration procedure of the oven was developed. Besides, the dielectric properties of the system solid-solvent were determined for different frequency and temperature levels. The adjusted models during the calibration, rational ($R^2 = 0.9988$) and linear ($R^2 = 0.9999$), were able to attain and maintain the temperature constant in the cavity throughout the process and the predicted values were in accordance with the experimental data. GC/MS was able to identify the spilanthol peak and the NIST library showed a high match for the compound, confirmed by its mass spectrum. The linear equation fitted very well the results ($R^2 = 99.8\%$) and it has been used in the experimental design results. The minimum and maximum spilanthol yields obtained from the FCCCD were of 1.71 and 4.47 g/ 100g of dry matter for flowers, 0.75 and 1.90 g/ 100 g of dry matter for leaves, and 0.40 and 0.63 g/ 100 g of dry matter for stems. The results were reproducible and indicated low variability for the spilanthol yield in the central points of the design, such as, 3.85 ± 0.07 g/ 100g of dry matter for flowers, 1.67 ± 0.15 g/ 100g of dry matter for leaves and 0.45 ± 0.02 g/ 100 g of dry matter for stems. Linear and quadratic terms, combined or not, of temperature and time of extraction showed a statistical significant effect for flowers, leaves and stems, using 90 % of confidence and $\alpha = 0.1$. The dielectric properties were influenced by frequency (0.45 – 10.45 GHz) and temperature (20 – 60 °C).

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	1
1.1 OBJETIVOS	2
1.1.1 Objetivos específicos	3
2 REVISÃO DA LITERATURA	5
2.1 JAMBU (<i>Acmella oleracea</i> (L.) R. K. Jansen)	5
2.2 MERCADO BRASILEIRO PARA COMPOSTOS BIOATIVOS	10
2.3 TECNOLOGIA DE MICRO-ONDAS	12
2.3.1 Considerações gerais	12
2.3.2 Propriedades dielétricas	14
2.4 PROCESSO DE EXTRAÇÃO ASSISTIDO POR MICRO-ONDAS	21
2.4.1 Considerações gerais	21
2.4.2 Características do equipamento para extração assistida por micro-ondas	25
2.4.3 Fatores de limitação de processo	26
2.4.3.1 Características da matriz vegetal	26
2.4.3.2 Natureza do solvente	27
2.4.3.3 Temperatura de extração e potência de micro-ondas	29
2.4.3.4 Tempo de extração	31
3 MATERIAIS E MÉTODOS	35
3.1 MATERIAIS	35
3.1.1 Matéria-prima	35
3.2 METODOLOGIA	37
3.2.1 Determinação da umidade do material	37

3.2.2 Determinação das propriedades dielétricas	38
3.3 EQUIPAMENTOS EXPERIMENTAIS	41
3.3.1 Calibração do forno micro-ondas	43
3.3.2 Processo de extração com micro-ondas	46
3.4 ANÁLISE DA COMPOSIÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL	47
3.5 CROMATOGRAFIA EM CAMADA DELGADA	48
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	51
4.1 PROPRIEDADES DIELÉTRICAS	51
4.1.1 Propriedades dielétricas da água	51
4.1.2 Efeito da frequência nas propriedades dielétricas	53
4.1.3 Efeito da temperatura nas propriedades dielétricas a 2,45 GHz	59
4.1.4 Profundidade de penetração das micro-ondas (D_p)	61
4.2 RESULTADOS DE CALIBRAÇÃO DO FORNO	67
4.3 RESULTADOS DO PROCESSO DE EXTRAÇÃO	74
4.4 QUANTIFICAÇÃO DO ESPILANTOL (CROMATOGRAFIA EM CAMADA DELGADA)	82
5 CONCLUSÕES	87
6 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	89
REFERÊNCIAS	91

DEDICATÓRIA

Para todos os paraenses que saíram do conforto de viver em sua terra natal em busca da realização dos seus sonhos profissionais.

AGRADECIMENTOS

Meu projeto de Doutorado teve diversas mudanças, seja de matéria-prima, seja de processo, até a adaptação do formato final, como apresentado nessa tese. Essas modificações ocorreram por diversos motivos: infraestrutura, falta de fornecedor, limitações de equipamento, além da mudança de laboratório, devido ao Doutorado Sanduíche.

Por esses motivos, tenho que quebrar o protocolo e agradecer à todos aqueles que durante os meus 4 anos de curso contribuíram, não só com esse formato final, mas também, com a minha caminhada até aqui.

A minha orientadora Prof^a. Dr^a. Sandra Cristina dos Santos Rocha, atual colaboradora da Faculdade de Engenharia Química, por todos esses anos dedicados não só pela supervisão dos meus projetos, mas também, pela preocupação, carinho, atenção e sobretudo, compreensão, dedicados a mim. Sem sombra de dúvida, parte das minhas conquistas profissionais e da minha formação como Pesquisadora são reflexo de todos os ensinamentos muito bem transmitidos por ela. Sou grata pelas metas anuais requeridas, reuniões quinzenais – mesmo por Skype – correções minuciosas dos meus trabalhos e projetos, disponibilidade em submeter meus formulários de solicitação e relatórios de ajuda de custo para viagens internacionais, artigos publicados em conjunto, e principalmente, por acreditar em mim. MUITO OBRIGADA!!!

Um obrigada especial ao Prof. Dr. Marco Aurélio Cremasco do Departamento de Engenharia de Processos da Faculdade de Engenharia Química da Unicamp, pelas sugestões fornecidas durante a apresentação do meu Projeto de Qualificação I, pelo empréstimo de instrumentos de laboratório para os ensaios preliminares de extração de óleo essencial de hortelã e pela indicação do, então aluno de Mestrado, Carlos Eduardo Lima de Oliveira, para um “*experimental brainstorm*” sobre o assunto.

Ao Prof. Dr. Osvaldir Pereira Taranto do Departamento de Engenharia de Processos da Faculdade de Engenharia Química da Unicamp por ter disponibilizado parte do Laboratório de Processos Termofluidodinâmicos para a montagem e posterior utilização da unidade de extração de óleos essenciais em escala de laboratório. Meu muito obrigada pela compreensão!

Aos técnicos do Laboratório de Fluidodinâmica e Secagem, Milene Moreira e Allan D'Amato Nascimento pela contribuição operacional e pelas horas de paciência dedicadas a separação do material vegetal e aos ensaios preliminares dos projetos iniciais de Doutorado.

Ao Prof. Dr. Vijaya Raghavan do Bioresource Engineering Department da Faculty of Agricultural and Environmental Sciences da McGill University, por ter me recebido de braços abertos no Canadá. O Dr. Raghavan foi com certeza a chave para que toda a parte experimental dessa tese se tornasse possível. Sou muito grata a ele por todos os esforços dedicados para a realização da minha pesquisa no formato que ela tem hoje. Jamais esquecerei as suas palavras que muito me inspiraram e me deram força nos momentos mais difíceis do trabalho em laboratório. Acredito que o *“Suzara, you can do whatever you want”* ficará para sempre em minha memória e servirá como mantra para a ir em busca dos meus novos sonhos (mesmo que a frase tenha sido dita para um contexto operacional). **MUITO OBRIGADA POR TUDO!!!**

Ao Dr. Yvan Gariepy do Bioresource Engineering Department da Faculty of Agricultural and Environmental Sciences da McGill University, pela orientação e confiança. Não tenho palavras para descrever a gratidão que sinto por tantas horas direcionadas ao meu trabalho, que apresentou dificuldades desde a compra das sementes de jambu até o momento da calibração do cromatógrafo a gás. Sempre que precisei, pude contar com a experiência do Dr. Gariepy que sempre demonstrou paciência e tranquilidade com meus questionamentos e resolução dos problemas técnicos. **OBRIGADA!**

Ao Dr. Darwin Lyew do Bioresource Engineering Department da Faculty of Agricultural and Environmental Sciences da McGill University, por ter ajudado com questões burocráticas de regularização de matrícula na universidade, compras de alguns materiais necessários e fundamentais para a minha pesquisa, como também, com a revisão dos meus artigos científicos para publicação em revistas internacionais. Agradeço também pela amizade e conversas durante o almoço, as vezes técnicas, as vezes sobre o cotidiano, mas sempre muito divertidas. **OBRIGADA!**

A M.Sc. Deepika Arumugam, então aluna de mestrado da McGill University, por ter aceitado o desafio de obter o espilantol sólido com prazos bem reduzidos. A Deepika foi peça fundamental para que essa tese de doutorado alcançasse voos maiores do que o previstos inicialmente. Sou grata por ter dividido comigo essa responsabilidade e também pela paciência em transmitir seus conhecimentos sobre cromatografia em camada delgada. Obrigada pela

amizade e pelas palavras de carinho ao longo de todo esse trabalho. Certamente fizeram a diferença não só no meu projeto, mas como também, nos meus dias mais difíceis.

A Dr^a. Simona Mihaela Nemes, então aluna de Doutorado da McGill University, pelas dicas sobre o equipamento de micro-ondas e planejamento experimental. As poucas oportunidades que tivemos de nos encontrar, foram sem dúvida nenhuma, momentos decisivos para que eu pudesse direcionar a minha pesquisa para um caminho menos tortuoso e complicado. Obrigada pela atenção e ajuda!

Aos amigos Angie Rappazzo, Angie Ciarla, Marcos Pires, Elma e Flávio Pereira, Hugo e Cecília Ayres, Yashi Huang, Winny Routray, Siddharta Joshi, Priyanka Kapoor, Kirupa Krishnan, Ineke Victor, Maryam Kargar, Yanti Jusoh, Yung-Chien Sun, Wei Que, Raphaelle e Eric Magalhães, Carolina Vergolino, Alexandre Martini e Gustavo Rodrigues por terem contribuído para que a minha experiência canadense fosse o momento mais inesquecível da minha vida! Obrigada por me receberem em suas casas e/ou por ouvirem pacientemente todos os meus medos e anseios durante esse projeto.

Aos queridos amigos Carlos Alexandre Silva, Clairon Pinheiro, Gisele Alves, Cristiane Leal, Gabriela Rosa, Kaciane Andreola e José Butzge pela contribuição de livros, teses dissertações, normas e comentários técnicos durante a reta final do Doutorado. Obrigada mesmo!

Ao meu irmão, Luis Cesar, cunhada Marina e sobrinhos Arthur e Elisa, por permitir que eu escrevesse a minha tese no ambiente tranquilo e harmonioso da casa deles, mesmo que isso interferisse no conforto e dinâmica da família. Nesses 7 meses tive a felicidade de estar perto de quem amo e ao mesmo tempo, dispor de um lugar calmo para elaborar artigos e finalizar o meu Doutorado. Obrigada pelo apoio financeiro, carinho e amizade.

Aos meus pais, Sônia e Luiz pelo carinho e, principalmente, apoio financeiro me deram durante essa caminhada do curso. Muito Obrigada pelo amor incondicional!

A Deus por ter colocado todas essas pessoas no meu caminho para que minha jornada se tornasse mais agradável e feliz!

Aos órgãos de fomento, Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de Doutorado e auxílio viagem para eventos internacionais, e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela bolsa de Doutorado Sanduíche.

Invictus

By William Henley

“Out of the night that covers me,
Black as the pit from pole to pole,
I thank whatever gods may be
For my unconquerable soul.

In the fell clutch of circumstance
I have not winced nor cried aloud.
Under the bludgeonings of chance
My head is bloody, but unbowed.

Beyond this place of wrath and tears
Looms but the horror of the shade,
And yet the menace of the years
Finds and shall find me unafraid.

It matters not how strait the gate,
How charged with punishments the scroll,
I am the master of my fate,
I am the captain of my soul.

LISTA DE FIGURAS

Figura 2.1 – Jambu (<i>Acmella oleracea</i> (L.) R. K. Jansen); (a) sementes, (b) planta com 90 dias	6
Figura 2.2 – Representação estrutural e de massas do componente espilantol	8
Figura 2.3 – Faturamento brasileiro no setor de higiene, perfumaria e cosméticos	11
Figura 2.4 – Profundidade de penetração em função da temperatura para água pura	21
Figura 3.1 – Preparo do material vegetal; (a) sementes de jambu (<i>Acmella oleracea</i> (L.) R. K. Jansen); (b) jambu com 30 dias; (c) jambu coletado com 90 dias; (d) flores, folhas e caules de jambu antes da liofilização; (e) armazenamento das flores, folhas e caules de jambu, respectivamente, secos e triturados	36
Figura 3.2 – Amostra de flores, folhas e caules de jambu para determinação de conteúdo de umidade inicial	38
Figura 3.3 – Composição do equipamento para determinação das propriedades dielétricas; (a) sistema de aquisição de dados; (b) sonda de alta temperatura; (c) módulo de calibração eletrônica; (d) software	39
Figura 3.4 – Equipamentos para o processo de extração; (a) forno de micro-ondas; (b) tubo reator; (c) condensador	42
Figura 3.5 – Configuração esquemática do extrator de micro-ondas; (a) vista frontal, (b) vista lateral	42
Figura 3.6 – Cromatógrafo a gás acoplado com espectrômetro de massas	48
Figura 4.1 – Propriedades dielétricas em função da frequência para água a 20 °C	52
Figura 4.2 – Constante dielétrica em função da frequência; (a) solvente + flores, (b) solvente + folhas, (c) solvente + caules, (d) solvente	53

Figura 4.3 – Fator de perda dielétrico em função da frequência; (a) solvente + flores, (b) solvente + folhas, (c) solvente + caules, (d) solvente	55
Figura 4.4 – Propriedades dielétricas em função da temperatura; (a) flores + solvente, (b) folhas + solvente, (c) caules + solvente, (d) solvente	59
Figura 4.5 – Profundidade de penetração para os sistemas flores + solvente, folhas + solvente, caules + solvente e solvente a 2,45 GHz	62
Figura 4.6 – D_p em função da frequência; (a) flores + solvente, (b) folhas + solvente, (c) caules + solvente e (d) solvente	64
Figura 4.7 – Temperatura do solvente em função do tempo, $T_{\text{objetivo}} = 40\text{ }^{\circ}\text{C}$	68
Figura 4.8 – Temperatura do solvente em função do tempo, $T_{\text{objetivo}} = 50\text{ }^{\circ}\text{C}$	69
Figura 4.9 – Temperatura do solvente em função do tempo, $T_{\text{objetivo}} = 60\text{ }^{\circ}\text{C}$	70
Figura 4.10 – Valores experimentais e preditos para temperatura x tempo	74
Figura 4.11 – Espalhamento dos dados em torno da média; (a) flores, (b) folhas, (c) caules	77
Figura 4.12 – Gráfico de Pareto; (a) flores, (b) folhas, (c) caules	80
Figura 4.13 – Identificação do espilantol sob luz UV	83
Figura 4.14 – Espectro CG/MS; (a) solução de 0,1 mg/mL, (b) espectroscopia de massa do componente em 17,67 minutos, (c) espectroscopia de massa do espilantol pela biblioteca NIST	84
Figura 4.15 – Curva de calibração para quantificação do espilantol	85
Figura 4.16 – Gráfico normal de probabilidade para o espilantol	86

LISTA DE TABELAS

Tabela 2.1 – Composição nutricional do jambu	7
Tabela 2.2 – Rendimento de espilantol encontrado na literatura	9
Tabela 2.3 – Comparação energética entre fótons de micro-ondas e ligações químicas a 2,45 GHz	13
Tabela 2.4 – Constantes físicas e dielétricas, e fator de dissipação de solventes para extração com micro-ondas	29
Tabela 3.1 – Variáveis de entrada para o planejamento 2^2 e $\alpha = 1$	46
Tabela 3.2 – Matriz experimental do planejamento de face centrada (FCCCD)	47
Tabela 4.1 – Resultados médios experimentais e teóricos para a água a 20 °C	52
Tabela 4.2 – Propriedades dielétricas para as flores + solvente, folhas + solvente, caules + solvente e solvente	61
Tabela 4.3 – Resultados para a profundidade de penetração em função da temperatura a 2,45 GHz	63
Tabela 4.4 – Variação da profundidade de penetração (D_p) em função da frequência	67
Tabela 4.5 – Calibração – primeira etapa, T = 40 °C	68

Tabela 4.6 – Calibração – primeira etapa, T = 50 °C	69
Tabela 4.7 – Calibração – primeira etapa, T = 60 °C	70
Tabela 4.8 – Função racional e valores preditos	72
Tabela 4.9 – Função linear e valores preditos	73
Tabela 4.10 – Condições experimentais médias iniciais	74
Tabela 4.11 – Rendimento de espilantol (Rd) em 100 g de matéria seca	75
Tabela 4.12 – Variância de dados espalhados para condição de ponto central, 50 °C e 20 min	77
Tabela 4.13 – Análise de variância do modelo linear para quantificação do espilantol	86

1 INTRODUÇÃO

O setor de higiene pessoal, perfumaria e cosméticos tem apresentado crescimento mais intenso que os demais setores industriais no Brasil (representando um crescimento médio de 10% nos últimos 16 anos), e os motivos que são atribuídos a isso são: a utilização de tecnologia de ponta (gerando aumento de produtividade), os lançamentos de novos produtos continuamente atendendo cada vez mais às necessidades do mercado, a participação crescente da mulher brasileira no mercado de trabalho e o aumento na expectativa de vida (proporcionando uma necessidade na impressão de juventude), conforme dados da Associação Brasileira de Indústria de Higiene Pessoal, Perfumaria e Cosméticos (ABIHPEC, 2013). Dessa forma, esse setor requer alta demanda por novos produtos; produtos esses que podem basear-se em elementos naturais. O interesse maior a esse respeito está na variedade molecular da biomassa, a qual é superior à de produtos derivados dos processos de síntese mesmo diante de consideráveis avanços tecnológicos (NISBET; MOORE, 1997; LUPE, 2007).

Além do setor de higiene pessoal, perfumaria e cosméticos, a área de ciências médicas também tem direcionado cada vez mais suas pesquisas para produtos naturais. Como exemplo, cita-se a Relação Nacional de Plantas Medicinais, divulgada em fevereiro de 2009 pelo Ministério da Saúde, composta de 71 plantas de interesse do Sistema Único de Saúde (SUS) com o objetivo de direcionar estudos e pesquisas que possam subsidiar a produção de fitoterápicos para o uso da população brasileira (BRASIL, 2009).

Atualmente, muitos estudos científicos são voltados para a composição química dos óleos das plantas e para a comprovação de seu efeito medicinal através do isolamento do seu princípio ativo. Algumas dessas pesquisas (Burt, 2004; Ratnasooriya et al., 2004; Lahlou, 2005; Toloza et al., 2006; Al-Bayati, 2009) já confirmaram a “sabedoria popular”. No entanto, ainda há necessidade de ampliar os estudos, devido à infinidade de espécies vegetais existentes e pela dificuldade em estabelecer critérios que podem ser decisivos na ação terapêutica, tais quais: forma de cultivo, época da colheita, adubação, parte da planta utilizada, método de secagem, entre outros.

O jambu (*Acmella oleracea* (L.) R. K. Jansen) é uma planta típica da região Norte do Brasil, apreciada em diversos pratos da culinária paraense. A sua principal característica é o seu sabor “picante” que causa um leve efeito anestésico na língua. Recentemente, o jambu tem sido alvo de pesquisas de muitas universidades brasileiras (Armond, 2007; Cavalcanti 2008; Costa 2010; Borges, 2012) e empresas de cosméticos por causa do seu potencial terapêutico e componente principal do seu óleo essencial, o espilantol. Desde 2005, essa amida é responsável por algumas das patentes geradas por empresas brasileiras e multinacionais relacionadas a tratamentos estéticos (PATENTSTORM, 2006, 2009).

Os óleos essenciais podem ser removidos das plantas através de diversos métodos, tais como, prensagem, enfloração (*enfleurage*) e hidrodestilação. Contudo, é importante ressaltar que essas técnicas podem ocasionar a perda de componentes voláteis durante o processo, baixa eficiência de extração e degradação térmica dos compostos (SHREVE; BRINK Jr., 1997; BAYRAMOGLU et al., 2008).

Nesse sentido, novas tecnologias de extração estão desencadeando uma série de pesquisas que objetivam reduzir perdas dos compostos ativos, principalmente pelo motivo do longo tempo de permanência do produto no processo. A extração assistida por micro-ondas tornou-se uma excelente estratégia em diversas áreas, mas, atualmente, vem ganhando destaque em pesquisas mundiais voltadas para efeitos medicinais (WANG; WELLER, 2006; MANDAL et al., 2007; CHAN et al., 2011; NEMES, 2012).

1.1 OBJETIVOS

Assim, motivado pelo estudo incipiente de produtos provenientes da região Amazônica e por inserir novas ferramentas tecnológicas no universo das pesquisas brasileiras, esse trabalho propõe analisar a extração de espilantol a partir do óleo essencial das flores, folhas e caules de jambu (*Acmella oleracea* (L.) R. K. Jansen) utilizando tecnologia de micro-ondas.

1.1.1 Objetivos específicos

- Determinar as propriedades dielétricas do solvente, assim como, da mistura, solvente e amostra sólida (flores, folhas e caules de jambu);
- Definir as variáveis de processo, assim como, as condições operacionais de trabalho para o equipamento de micro-ondas;
- Avaliar a influência individual e/ou combinada das variáveis operacionais na variável de resposta: rendimento do componente principal (espilantol), para as flores, folhas e caules de jambu;
- Obter o padrão do espilantol para utilização nas análises de cromatografia gasosa.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 JAMBU (*ACMELLA OLERACEA* (L.) R. K. JANSEN)

O jambu (*Acmella oleracea* (L.) R. K. Jansen) é uma espécie típica de grande ocorrência na Amazônia. Trata-se de uma planta herbácea, da família *Asteraceae*, geralmente rasteira com folhas pequenas e flores amarelas (Figura 2.1). Popularmente, é conhecida por diversos nomes: agrião-do-Pará, agrião-do-norte, jambuaçú, botão-de-ouro, agrião-bravo, “*cresson de Para*” (na França), “*Parakresse*” (na Alemanha), entre outros. Suas folhas e caules são bastante utilizados na culinária da região norte no preparo de pratos típicos como o tacacá e o pato no tucupi. Uma característica peculiar é o sabor picante que causa leve formigamento e entorpecimento da língua (HIND; BIGGS, 2003; CAVALCANTI, 2008; COSTA, 2010; MONDIN et al., 2014).

Como característica botânica do jambu, acrescenta-se que atinge cerca de 40 cm de altura, sua raiz é axial com várias ramificações, a haste é do tipo rastejante ramificada em dicásio, podendo ocorrer tricásio. As flores são amareladas e apresentam longos pedunculados. As sementes são achatadas e estão localizadas nas inflorescências (ALBUQUERQUE, 1989; CARDOSO; GARCIA, 1997; BORGES, 2009; COSTA, 2010).

A cultura do jambu tem geralmente ciclo de 45 a 70 dias. Sua germinação ocorre em torno de 5 a 7 dias e exige pouca tecnologia para o seu manuseio. A colheita na região Norte é realizada entre 35 a 50 dias após o transplante. A planta apresenta bom valor nutritivo para 100 gramas de folhas conforme apresentado na Tabela 2.1 (CARDOSO; GARCIA, 1997; BRASIL, 2002; BORGES, 2009).

Figura 2.1 – Jambu (*Acmella oleracea* (L.) R. K. Jansen); (a) sementes, (b) planta com 90 dias.



(a)



(b)

Tabela 2.1 – Composição nutricional do jambu.

Quantidade por 100g*						
Valor energético (kcal)	Proteínas (g)	Gorduras Totais (g)	Carboidratos (g)	Fibra (g)	Cálcio (mg)	
32	1,9	0,3	7,2	1,3	162,0	
Fósforo (mg)	Ferro (mg)	Vitamina A (mg)	Vitamina B1 (mg)	Vitamina B2 (mg)	Vitamina C (mg)	Niacina (mg)
41,0	4,0	392,0	0,03	0,21	20,0	1,0

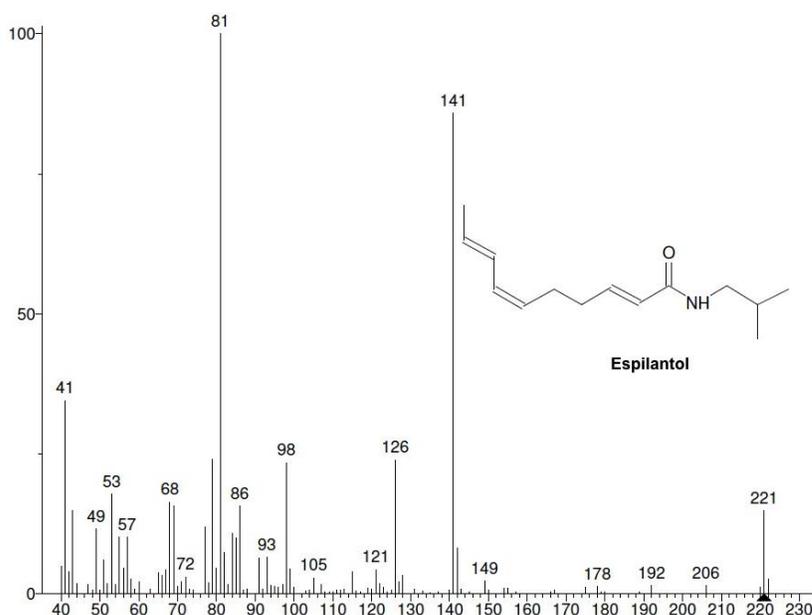
* Fonte: BRASIL, 2002

A planta apresenta ainda algumas sinonímias como *Acmella ciliata* Kunth, *Cotula pyretharia* L., *Spilanthus fusca* MART, *Spilanthus oleracea* e *Bidens fervida* Lan. Há relatos de estudos do gênero *Spilanthus* (família *Asteraceae*) com espécies coletadas em diversas regiões do continente americano – México, Colômbia, Brasil, Estados Unidos – e continente africano – região oriental da África. Torres e Chávez (2001) explicam que a ampla distribuição do gênero *Spilanthus* em regiões tropicais e subtropicais influenciaram na consideração de espécies do gênero *Acmella* ser do gênero *Spilanthus*, o que de certa forma dificulta e confunde as informações já disponíveis na literatura sobre as espécies (Cavalcanti, 2008). Desta maneira, as denominações *Spilanthus oleracea* ou *Spilanthus acmella* var *oleracea* referem-se à mesma espécie, mas são consideradas ilegítimas por especialistas da área. Atualmente, o nome correto e aceito para a identificação da planta é *Acmella oleracea* (L.) R. K. Jansen (MONDIN et al., 2014).

Atualmente, o jambu tem despertado o interesse de pesquisadores e empresas nacionais e multinacionais, devido às propriedades promissoras do seu extrato, tais como: atividade ovicida e larvicida contra mosquitos *Aedes aegypti*, *Anopheles culicifacies* e *Culex quifaciatus* (Saraf; Dixit, 2002; Simas et al., 2012), atividade diurética (Ratnasooriya et al., 2004), atividades antioxidante e anti-inflamatória (Dias et al., 2012), além das patentes na área dos cosméticos (Patentstorm, 2006; Patentstorm, 2009).

Todas essas propriedades da planta são atribuídas aos diferentes componentes constituintes do óleo essencial do jambu, mas, principalmente ao espilantol, N-isobutil-2(E), 6(Z),8(E)-decatrienamida. O espilantol (Figura 2.2) é um composto não disponível comercialmente, o que proporciona a busca de metodologias para extrair o componente da planta, evitando assim o uso de “componentes de referência”, ácido dodeca-2(E), 4(E)-dienóico isobutilamida, por exemplo, ou comparações de picos em análises cromatográficas.

Figura 2.2 – Representação estrutural e de massas do componente espilantol.



Fonte: NIST MS Search 2.0

Existem poucos relatos na literatura sobre a quantificação do teor de espilantol no jambu. A Tabela 2.2 apresenta alguns desses resultados obtidos por diferentes processos de extração do componente. Em geral, os rendimentos de espilantol são relativamente baixos, variando no intervalo de 0,18 % - 3,8 % (Cavalcanti, 2008). Alguns processos, tais como a extração supercrítica e Soxhlet, revelaram resultados bem elevados (25,7 % - 65,4 %), no entanto, os autores (Dias et al., 2012) utilizaram várias etapas de recuperação do componente na operação. Observa-se também, que alguns dados, como a quantidade e os tipos de solvente utilizados durante os procedimentos, nem sempre são divulgados nas publicações, o que dificulta comparações entre os trabalhos.

Tabela 2.2 – Rendimento de espilantol encontrado na literatura.

Autor	Processo de Extração	Massa de sólido (g)	Tipo de solvente	Volume total de solvente (L)	Diâmetro da partícula (mm)	Tempo total de processo (h)	Rendimento de espilantol (% b.s.)
Cavalcanti, 2008	Maceração	50	Hexano e metanol	0,5	0,180	216	0,26
Cavalcanti, 2008	Refluxo	50	Etanol	0,5	0,180	2	0,25
Cavalcanti, 2008	Supercrítica	10	CO ₂ puro	600	0,180	10 ^b	0,27
Cavalcanti, 2008	Supercrítica	10	CO ₂ e etanol	400	0,180	6,7 ^b	0,37
Cavalcanti, 2008	Supercrítica	10	CO ₂ e acetato de etila	250	0,180	4,2 ^b	0,34
Dias et al., 2012	Hidrodestilação	- ^a	Água	- ^a	0,767	2	2,8-18,8
Dias et al., 2012	Soxhlet	- ^a	Etanol	- ^a	0,767	2	9,7-25,7
Dias et al., 2012	Supercrítica	5-8	CO ₂	0,9 ^b	0,767	3,5	19,7-65,4
Dias et al., 2012	Supercrítica	5-8	CO ₂ , etanol, água	3 ^b	0,767	3,5	5,62-11,51

^a Parâmetros não fornecidos pelos autores ou sem dados suficientes no texto para a determinação; ^b Valor aproximado.

A literatura também reporta o lento processo de extração do espilantol com solventes (Ramsewak et al., 1999; Saraf; Dixit, 2002; Dias et al., 2012; Singh; Chaturvedi, 2012). Ramsewak et al. (1999) verificaram a atividade da amida contra larvas de *Aedes aegypti* e *Helicoverpa zea*, Saraf e Dixit, (2002) reportaram os seus efeitos ovicidas, larvicidas e pupicidas em mosquitos do gênero *Anopheles*, *Culex* e *Aedes*, Dias et al. (2012) avaliaram os efeitos antioxidantes em diferentes métodos de extração do espilantol e Singh e Chaturvedi (2012) desenvolveram um protocolo para regeneração do jambu e quantificaram o teor do componente

principal na população amostral. Nos trabalhos citados, extratos foram obtidos a partir das flores e/ou folhas de *Spilanthes acmella* e *Spilanthes acmella* Murr utilizando hexano, éter de petróleo, álcool e metanol como solvente por diversas horas – 48, 12, 8 e 12 h, respectivamente. Ainda que os objetivos tenham sido diferentes, essas pesquisas necessitam de um processo que facilite a retirada do componente ativo. Sendo assim, inserir novas tecnologias que diminuam tempo de processo, gasto de energia e volume de solventes e, ainda, aumentem o rendimento do produto final, viabilizam e facilitam diversos projetos do ramo.

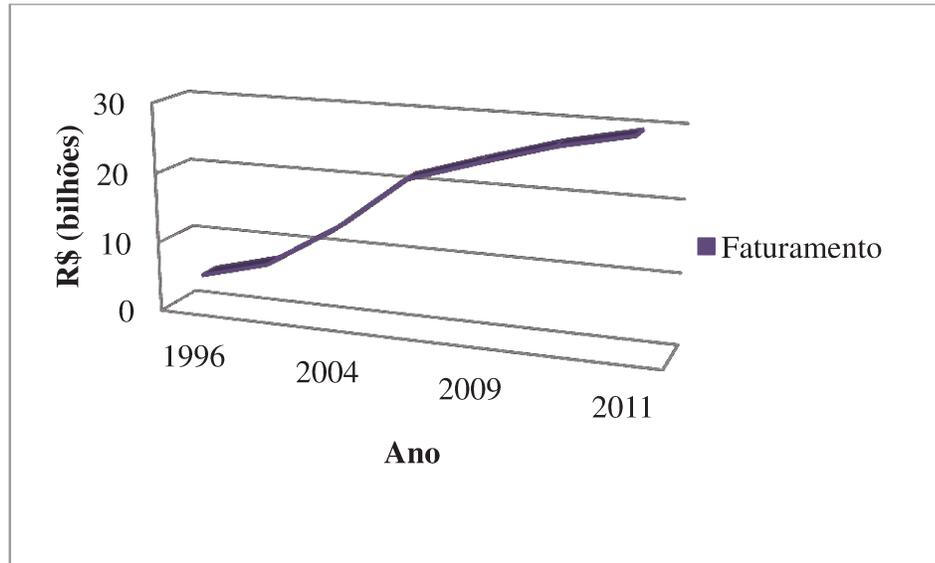
2.2 MERCADO BRASILEIRO PARA COMPOSTOS BIOATIVOS

Entre lipídios, fito-químicos, sabores, fragrâncias e pigmentos, os compostos bioativos das plantas tem se transformado em objeto de pesquisa, quanto a sua eficácia, para medicamentos e cosméticos por todo o mundo. O reflexo disso no Brasil está nos dados da Associação Brasileira de Indústria de Higiene Pessoal, Perfumaria e Cosméticos (ABIHPEC), como também, na lista *Renisus*, Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS, divulgada em fevereiro de 2009 pelo Ministério da Saúde (WANG; WELLER, 2006; BRASIL, 2009; ABIHPEC, 2013).

De acordo com a ABIHPEC, o Brasil no ano de 1996 aumentou o seu faturamento de R\$ 4,9 bilhões para R\$ 29,4 bilhões em 2011, representando um crescimento médio de 10 % nos últimos 16 anos no setor de higiene pessoal, perfumaria e cosméticos (Figura 2.3). Segundo a instituição, esses índices são associados a diversos fatores, entre eles, inovação e desenvolvimento de novos produtos, aumento da produtividade, participação da mulher brasileira no mercado de trabalho e o aumento na necessidade de conservar uma impressão de juventude do ser humano (ABIHPEC, 2013).

Os dados de exportação e importação desses produtos também são bastante promissores. Entre os anos de 2002 e 2011, a indústria do setor acumulou um crescimento de 293,5 % nas exportações e 340,9 % nas importações e os produtos para cabelos, higiene bucal e sabonetes são os itens brasileiros mais exportados da lista. Em relação ao mercado mundial, dados do *Euromonitor International* revelam o Brasil ocupando a terceira posição no setor e o primeiro especificamente para perfumaria e desodorantes (BRASIL, 2013; ABIHPEC, 2013).

Figura 2.3 –Faturamento brasileiro no setor de higiene, perfumaria e cosméticos.



Fonte: ABIHPEC, 2013.

Além da indústria de higiene pessoal, perfumaria e cosméticos, o Brasil tem avançado em medidas incentivadoras para o uso de medicações elaboradas a partir de biomassa. A ideia de utilizar plantas como base para a preparação de medicamentos é bastante antiga. Os Portugueses, durante a colonização do Brasil, incorporaram algumas espécies nativas da região (brasileira) na medicina Europeia, através do conhecimento alcançado pela observação e convívio com nativos daquela região (BRANDÃO et al., 2012; OLIVEIRA et al., 2012).

Como exemplo, cita-se o *Teriac (Triaga)* utilizado para tratar febres, cuja receita Europeia foi gradualmente modificada com a incorporação de raízes (*Chondrodendron* spp. *Piper umbellatum* L., *Angelica archangelica* L., etc.) e sementes (*Xylopia* spp. *Bixa orellana* L., etc.) do Brasil. O botânico Francês Auguste de Saint-Hilaire (1779 – 1853) foi um dos cientistas pioneiros a obter permissão para viajar em território brasileiro e, assim, conseguir catalogar mais de 6000 espécies vegetais, sendo que 4500 eram totalmente desconhecidas da época. No cenário atual, o Brasil está entre as maiores potências do planeta em biodiversidade, com mais de 40000 plantas diferentes, representando 20 % da flora mundial (BRANDÃO et al., 2012; OLIVEIRA et al., 2012).

Embora existam diversas vantagens comprovadas no uso de material vegetal, é importante lembrar que podem surgir efeitos colaterais no uso das plantas causados por toxicidade intrínseca, contaminação da matéria-prima, erro na identificação botânica, adulteração genética da espécie, entre outros. Por isso, são totalmente relevantes estudos que se dirijam à qualidade e segurança do material, através de boa, rápida e efetiva extração dos compostos ativos, técnicas e metodologias analíticas de padronização terapêutica, entre outros (ZHOU et al., 2004; MANDAL, et al., 2007).

2.3 TECNOLOGIA DE MICRO-ONDAS

2.3.1 Considerações gerais

James Clerk Maxwell foi o físico que formulou os primeiros fundamentos da teoria eletromagnética moderna, em 1870. Maxwell propôs hipóteses para a propagação da onda eletromagnética baseado em considerações matemáticas, que, posteriormente, foram validadas empiricamente por Heinrich Hertz, no final de 1880 (Pozar, 1998). Segundo as equações de Maxwell, campos elétricos e magnéticos se propagam no vácuo com a velocidade da luz ($c_0 = 2,998 \times 10^8$ m/s) e operam em planos perpendiculares à direção de propagação. Micro-ondas são ondas eletromagnéticas, cuja frequência e comprimento de onda variam entre 300 MHz a 300 GHz e 1 m a 0,001 m (1 mm), respectivamente, o que quer dizer, sinais de 300 milhões a 300 bilhões de períodos por segundo que se encontram entre ondas de rádio, televisão e raios-X (GARDIOL, 1984; ROSENTHAL, 1992; POZAR, 1998; NEMES, 2007).

A interação das micro-ondas com a matéria ocorre através da emissão e absorção de unidades chamadas *quanta* ou *fótons* (Nemes, 2012). A energia de um fóton de micro-onda (E) é quantificada em *Joule* e é dada pela Eq. 2.1; contudo, essa energia não é suficiente alta para romper ligações químicas, tais como pontes de hidrogênio, pois é muito menor em magnitude do que a energia de uma ligação molecular, conforme pode ser observado na Tabela 2.3 (ROSENTHAL, 1992; WILL et al., 2004; NEMES, 2007).

$$E = h \cdot f = \frac{h \cdot c_0}{\lambda} \quad \text{Eq. 2.1}$$

Onde: E é a energia do fóton de micro-onda (J), h é a constante de Planck (J.s), f é a frequência (Hz), c_0 é a velocidade da luz (m/s) e λ é o comprimento de onda (m).

Tabela 2.3 – Comparação energética entre fótons de micro-ondas e ligações químicas.

Energia em	Fótons de micro-onda (2,45 GHz)	Movimento Browniano	Pontes de Hidrogênio	Ligações Covalentes	Ligações Iônicas
eV	1×10^{-5}	0,025*	0,04 – 0,44	5,0	7,6

*Temperatura = 200 K. Fonte: Will et al., 2004; Nemes, 2012.

Após a Segunda Guerra Mundial, a teoria sobre a tecnologia de micro-ondas começou a ser foco de muitos pesquisadores devido ao desenvolvimento de radares. Atualmente, a energia de micro-onda é usada em muitos outros processos como secagem, branqueamento, pasteurização, vulcanização, desidratação e esterilização de alimentos. O uso das micro-ondas na Engenharia de Processos vem crescendo cada vez mais, devido aos seus benefícios: menor tempo de processo e aquecimento volumétrico do material. No entanto, é importante ressaltar que existe uma regra para o uso desse tipo de energia, já que outros setores como os de radiocomunicação, telefones móveis e transmissões por radar também fazem uso dessa tecnologia. Dessa forma, um intervalo de frequência de micro-ondas para uso industrial, científico e médico (ISM) foi adotado e determinado pela *Federal Communications Commission* em 1959, e atualmente, as frequências de 915 MHz e 2,45 GHz são as mais utilizadas (COPSON, 1975; SANGA; MUJUMDAR; RAGHAVAN, 2000; ORSAT; RAGHAVAN; MEDA, 2005; NEMES, 2007).

As micro-ondas podem ser geradas por meio de dispositivos chamados geradores. O *magnetron* é o mais comum e consiste basicamente em uma estrutura coaxial com um cátodo cilíndrico de alto potencial negativo, que está situado no centro de um tubo a vácuo circundado por um ânodo. O cátodo, aquecido por um filamento interno, emite elétrons que são acelerados em direção ao ânodo, o qual gera uma voltagem positiva produzindo um campo elétrico radial.

Magnetrons operam em fornos micro-ondas de 300 a 3000 W e em 5 a 100 kW para aplicações de alta potência (POZAR, 1975; GARDIOL, 1984; ORSAT; RAGHAVAN; MEDA, 2005).

Como sistema de transmissão, as micro-ondas são transmitidas do gerador para a cavidade ressonante através de guias de onda. Guia de onda é um condutor de forma retangular ou cilíndrica, onde as ondas são conduzidas. A cavidade de aplicação é onde ocorre a interação entre o produto e as micro-ondas. As micro-ondas são refletidas pelas paredes da cavidade e, então, criam modos diversos de propagação. Devido às reflexões, ondas estacionárias são formadas dentro da cavidade pelas superposições das ondas incidentes e ondas refletidas. Uma onda estacionária possui nós e anti-nós, que são definidos pelo mínimo de amplitude do campo quando ondas incidentes e refletidas estão em fases opostas e pelo máximo de amplitude de campo quando as ondas estão em mesma fase, respectivamente (DECAREAU; PETERSON, 1986; BUFFLER, 1993; MARSAIOLI, 1991; ORSAT; RAGHAVAN; MEDA, 2005; NEMES, 2007; ROSA, 2012).

2.3.2 Propriedades Dielétricas

As propriedades dielétricas são as propriedades físicas mais importantes de um material quando se trata de aquecimento com micro-ondas. Seus parâmetros estão relacionados às equações de Maxwell e, por isso, influenciam significativamente na eficiência da energia eletromagnética, na distribuição do campo elétrico e na conversão dessa energia em energia térmica dentro dos materiais (TANG, 2005).

Ao direcionar radiação de micro-ondas a um material, uma parte dessa energia é refletida e outra é transmitida através da superfície. Da energia transmitida, apenas uma parcela é convertida como calor pelo material. A quantificação dessas energias é dada através da permissividade, constante dielétrica e tangente do ângulo de perda. A permissividade relativa complexa (ϵ^*) descreve as propriedades dielétricas de um material através da Eq. 2.2 (VENKATESH; RAGHAVAN, 2004; MEDA; ORSAT; RAGHAVAN, 2005; NEMES, 2007).

$$\varepsilon^* = \varepsilon' - j\varepsilon'' \quad \text{Eq. 2.2}$$

Onde: ε' é a constante dielétrica, ε'' é o fator de perda dielétrico e $j = \sqrt{-1}$.

A constante dielétrica (ε') determina a parte real da equação e indica a habilidade do material em armazenar energia quando submetido a um campo elétrico. A parte imaginária é o fator de perda dielétrico (ε'') que influencia a conversão de energia eletromagnética para energia térmica, já que está associado a dissipação e absorção de energia a partir de um campo elétrico alternado para o material (NELSON, 1994; TANG, 2005).

A razão entre as partes imaginária e real representa a tangente do ângulo de perda ($\tan \theta$) - fator de dissipação ou ainda, perda dielétrica – que indica a capacidade do material de ser penetrado por um campo elétrico e de dissipar essa energia na forma de calor. A Eq. 2.3 caracteriza a tangente do ângulo de perda (TANG, 2005).

$$\tan \theta = \frac{\varepsilon''}{\varepsilon'} \quad \text{Eq. 2.3}$$

Onde: $\tan \theta$ é a tangente do ângulo de perda, ε' é a constante dielétrica, ε'' é o fator de perda dielétrico.

A proporção da energia refletida (P_r) é função da constante dielétrica e do ângulo de incidência. Para a Eq. 2.4, o ângulo de incidência é 90° . A proporção de energia transmitida (P_{trans}) para o material é calculada pela Eq. 2.5 (VENKATESH; RAGHAVAN, 2004).

$$P_r(90^\circ) = \frac{(\sqrt{\varepsilon' - 1})^2}{(\sqrt{\varepsilon' + 1})^2} \quad \text{Eq. 2.4}$$

Onde: $P_r(90^\circ)$ é a proporção de energia refletida para um ângulo de incidência de 90° e ε' é a constante dielétrica.

$$P_{trans} = (1 - P_r) \quad \text{Eq. 2.5}$$

Onde: P_{trans} é a proporção de energia transmitida para um material e P_r é a proporção de energia refletida.

O aquecimento de materiais agro-alimentícios pode ser explicado por dois mecanismos moleculares: rotação dipolar e condução iônica, e o dipolo responsável pelo aquecimento da maioria desses produtos é a água. Com a oscilação do campo elétrico, os dipolos respondem ao mesmo, aumentando as energias rotacional e vibracional que por meio de fricção geram calor. A intensidade dessa resposta depende da simetria da molécula (VENKATESH; RAGHAVAN, 2004).

No aquecimento por condução iônica, o campo elétrico gera a separação de íons de carga positiva e negativa que migram em direção a regiões de cargas opostas, resultando na transformação de energia cinética em calor pela aceleração das cargas. Com esses efeitos, ocorre a geração de calor. O fator de perda é mais influenciado por esse tipo de mecanismo do que a constante dielétrica, pois aumenta com a densidade de cargas livres (VENKATESH; RAGHAVAN, 2004).

As propriedades dielétricas não são valores únicos para um dado material, pois variam com diversos fatores: frequência do campo aplicado, temperatura, conteúdo de umidade, composição, densidade, estrutura do material, etc. (NELSON, 1994; VENKATESH; RAGHAVAN, 2004).

Guo et al. (2013) reportaram a influência da temperatura (5 °C a 40 °C), entre outros parâmetros, tais como, frequência do campo elétrico (10^{-6} a 10^{-3} GHz), conteúdo de umidade (10,4 % b.u a 20,3 % b.u.) e densidade *bulk* do material (47,2 a 108,1 kg/m³), nas propriedades dielétricas de sistemas formados por palha de trigo (de 3 a 5 cm de comprimento) e ar. Os autores observaram que as propriedades dielétricas do sistema aumentaram linearmente com o aumento da temperatura, utilizando uma frequência de 0,0001 (10^{-4}) GHz e faixa de densidade de 87,8 a 108,1 kg/m³. Esse aumento foi mais significativo para umidades maiores (15,4 % b.u, 17,9 % b.u. e 20,3 % b.u), variando de 5 a 10, 10 a 15 e 15 a 30 para a constante dielétrica e de 5 a 10, 10 a 25 e 30 a 60 para o fator de perda dielétrico, respectivamente, na faixa de temperatura considerada. Já para conteúdos de umidade entre 10,4 % b.u. e 12,8 % b.u., as propriedades permaneceram entre 0 e 5. Não houve uma discussão abrangente a respeito da interação da temperatura com as mudanças nas propriedades dielétricas, no entanto, os autores obtiveram modelos precisos para as propriedades ($R^2 > 0,86$), utilizando todos os parâmetros avaliados.

Sólyom et al. (2013) investigaram os efeitos da temperatura (28 °C, 39 °C e 50 °C) e conteúdo de umidade (59,7 % b.u., 50,9 % b.u. e 42,8 % b.u.) nas propriedades dielétricas de sistemas compostos de uva (casca, semente e casca + semente) e ar em 2,45 GHz de frequência. Os autores reportaram que, quanto maior a umidade do material, maior a quantificação da constante dielétrica e fator de perda para um mesmo tipo de sistema, independente da temperatura. Os sistemas com maiores e menores resultados para as propriedades dielétricas foram a mistura de casca e sementes moídas – 11 a 12 e 2,0 a 2,5 para constante dielétrica e fator de perda, respectivamente, em 59,7 % b.u. – e sementes moídas – 9 a 10 e 1,5 a 2,0 para constante dielétrica e fator de perda, respectivamente, em 49,2 % b.u. –. Em relação aos efeitos da temperatura, de maneira geral, nenhuma tendência significativa foi observada. Os autores atribuíram o comportamento das propriedades dielétricas, em relação a esse último parâmetro, a presença de sais nos sistemas, já que para o processamento da matéria-prima, houve um tratamento com metabissulfito de potássio.

Wang et al. (2013) apresentaram resultados para as propriedades dielétricas da amêndoa de macadâmia e ar para a faixa de frequência e temperatura de 0,01 a 1,8 GHz e 25 a 100 °C, respectivamente. O material foi dividido em amostras com conteúdos de umidade de 3, 6, 12, 18 e 24 % b.u. As propriedades dielétricas diminuíram com o aumento da frequência, sendo que para baixos conteúdos de umidade (3 a 6 % b.u.), a quantificação das propriedades dielétricas atingiu um valor máximo de 9 em todas as temperaturas medidas. Para conteúdos de umidade maiores (12 – 24 % b.u.), os valores das propriedades dielétricas foram bem superiores e atingiram seu valor máximo, 45 – constante dielétrica – e 450 – fator de perda – para amostras com 24 % b.u. de umidade. Em relação à temperatura, os autores observaram que houve um aumento significativo nos valores das propriedades dielétricas (9,3 a 29,2 e 5,7 a 173,5, para constante dielétrica e fator de perda, respectivamente) quando a temperatura foi aumentada (25 a 100 °C), considerando a faixa de conteúdo de umidade de 12 a 24 % b.u. e frequência de 0,027 GHz.

Segundo os autores (Wang et al., 2013), a predominância da condução iônica (que ocorre em baixas frequências e altos conteúdos de umidade) pode ter sido o fator predominante para esse tipo de comportamento das propriedades em função da temperatura. Já para conteúdos de umidade menores, tais como, 3 e 6 % b.u., os efeitos desse tipo de aquecimento são menores e há menos dispersão de água livre. Dessa forma, houve um aumento menos significativo nos

valores das propriedades dielétricas (4,3 a 7,4 e 0,3 a 2,9, para constante dielétrica e fator de perda, respectivamente) com o aumento da temperatura.

Rosa (2012) determinou as propriedades dielétricas do polímero poli (3-hidroxitirado), ou PHB, com conteúdo de umidade total (água + solvente) de 31,3 % b.u. e 0,38 % b.u. em 5,7 GHz e 20 °C. Os valores médios para a constante dielétrica, 4,69 e 1,79 e fator de perda, 0,42 e 0,008, respectivamente para o PHB úmido e seco, ressaltam a influência da umidade nos resultados observados.

Sacilik e Colak (2010) reportaram resultados de 3,5 a 6,0 para a constante dielétrica e 0,2 a 2,0 para o fator de perda de um sistema formado por sementes de milho e ar, onde o material sólido apresentava conteúdos de umidade na faixa de 9,7 % b.u. a 21,5 % b.u., em frequências variando de 0,001 GHz a 0,01 GHz. Os autores verificaram que as propriedades dielétricas foram fortemente influenciadas pelo conteúdo de umidade do material de 9,71 % b.u. a 21,51 % b.u. e que os valores eram maiores a baixas frequências (a partir de 0,005 GHz).

Sharma e Prasad (2002) observaram o comportamento das propriedades dielétricas do alho (*Allium sativum* L.) com a temperatura e o conteúdo de umidade a 2,45 GHz. Através de modelos matemáticos, os autores estabeleceram a dependência da constante dielétrica e do fator de perda para intervalos da temperatura de 35 °C a 75 °C e do conteúdo de umidade de 0,06 g H₂O/g matéria seca a 1,85 g H₂O/g matéria seca. Os autores concluíram que a constante dielétrica e o fator de perda aumentaram de 2,2 para 54,2 e de 0,82 para 8,5 respectivamente, em 35 °C, quando o conteúdo de umidade foi aumentado de 0,06 para 1,85 g H₂O/g matéria seca, e que para alto nível de umidade (0,81 a 1,85 g H₂O/g matéria seca), as propriedades dielétricas diminuíram linearmente com o aumento da temperatura. Para baixa umidade (0,06 g H₂O/g matéria seca), foi observado aumento linear das propriedades com o aumento da temperatura. Os autores explicam que em baixa umidade, o efeito do aquecimento por condução iônica sobressaiu ao efeito pela rotação dipolar, e por isso, sais e minerais foram os principais responsáveis pela tendência ao efeito reverso observado.

Segundo Venkatesh e Raghavan (2004), isso também pode ser observado em carboidratos e xaropes, onde os efeitos estão relacionados à estabilização das pontes de hidrogênio padronizadas pela interação água/hidroxila (KUDRA et al., 1992; TULASIDAS et al., 1995).

Além das propriedades dielétricas, a profundidade de penetração das micro-ondas (Eq. 2.6 e Eq. 2.7) também é outro parâmetro importante para descrever a forma de aquecimento de um material. Usualmente, é definido como a distância em que a potência se reduz a $1/e$ do valor transmitido à superfície do material e tem forte influência sobre a natureza volumétrica de aquecimento das micro-ondas. A profundidade de penetração é considerada infinita em materiais transparentes e zero em materiais refletivos (metais) (COPSON, 1975; METAXAS; MEREDITH, 1983; VENKATESH; RAGHAVAN, 2004; NEMES, 2007).

$$D_p = \left(\frac{\lambda_0}{2 \cdot \pi \cdot \sqrt{2 \cdot \epsilon'}} \right) \cdot \left[\left(\sqrt{1 + \left(\frac{\epsilon''}{\epsilon'} \right)^2} \right) - 1 \right]^{-1/2} \quad \text{Eq. 2.6}$$

Onde: ϵ' é a constante dielétrica, ϵ'' é o fator de perda dielétrico e λ_0 é o comprimento de onda no espaço livre.

Quando:

$$\frac{\epsilon''}{\epsilon'} \ll 1$$

$$D_p = \frac{\lambda_0 \cdot \sqrt{\epsilon'}}{2 \cdot \pi \cdot \epsilon''} \quad \text{Eq. 2.7}$$

Onde: $\lambda_0 = 12,2$ cm para 2,45 GHz.

De acordo com Metaxas e Meredith (1983), a tendência esperada para produtos alimentícios é que a profundidade de penetração das micro-ondas aumente em frequências mais baixas. As equações Eq. 2.6 e Eq. 2.7 confirmam essa teoria, já que existe uma dependência diretamente proporcional de D_p com o comprimento de onda, em outras palavras, o parâmetro diminui com o aumento da frequência.

Guo et al. (2010) relataram uma diminuição da profundidade, D_p , com o aumento da frequência (0,01 GHz a 4,5 GHz) a 25 °C para diferentes soluções (18 %, 30,3 % e 42,6 %) feitas com variedades de mel, constituídos por 32-40 % de glicose, 37-46 % de frutose e 1,6-2,0 % de sacarose. Os autores observaram que D_p atingiu valores maiores que 20 mm quando a frequência foi inferior a 0,96 GHz para todas as variedades de mel. Na prática, segundo os autores, valores

de profundidade de penetração acima de 20 mm são suficientes para desenvolver sensores que possam prever conteúdos de água e açúcares nesse tipo de produto.

Pesquisas na literatura também relatam o comportamento de D_p em função da temperatura. Observa-se que essa relação é bastante complexa, porque o fator de perda dielétrico pode apresentar efeitos sobre os dipolos e íons devido à condutividade dos sais no material.

Tanaka et al. (2008) obtiveram resultados para a profundidade de penetração das micro-ondas de ¹mirin para o intervalo de frequência de 0,3 GHz a 3 GHz. Os autores observaram que D_p diminuiu com o aumento da temperatura para região de baixas frequências, devido à perda da condutividade iônica do material e ocorreu uma suave diminuição com o aumento da temperatura para a região de altas frequências, por causa de efeitos de perda na polarização do dipolo.

Ahmed et al. (2007b) calcularam D_p para a pasta de farinha de arroz (20 g de farinha em 100 g de água) em frequências de 0,915 GHz e 2,45 GHz, utilizando a equação Eq. 2.6. Os autores não observaram nenhuma tendência geral em função da temperatura, mas verificaram que para a frequência de 0,915 GHz, a profundidade de penetração aumentou (10 cm até 15 cm) quando a temperatura aumentou de 20 °C para 50 °C e, então, diminuiu (15 cm até 11 cm) até alcançar a zona de temperatura para gelatinização do material (mínimo de 70 °C) e aumentando em seguida (15 cm) até a temperatura final de 80 °C. Para a frequência de 2,45 GHz, D_p manteve-se praticamente o mesmo, sem variações estatisticamente significativas, para o mesmo intervalo de temperatura de 20 °C a 80 °C, em torno de 2 cm.

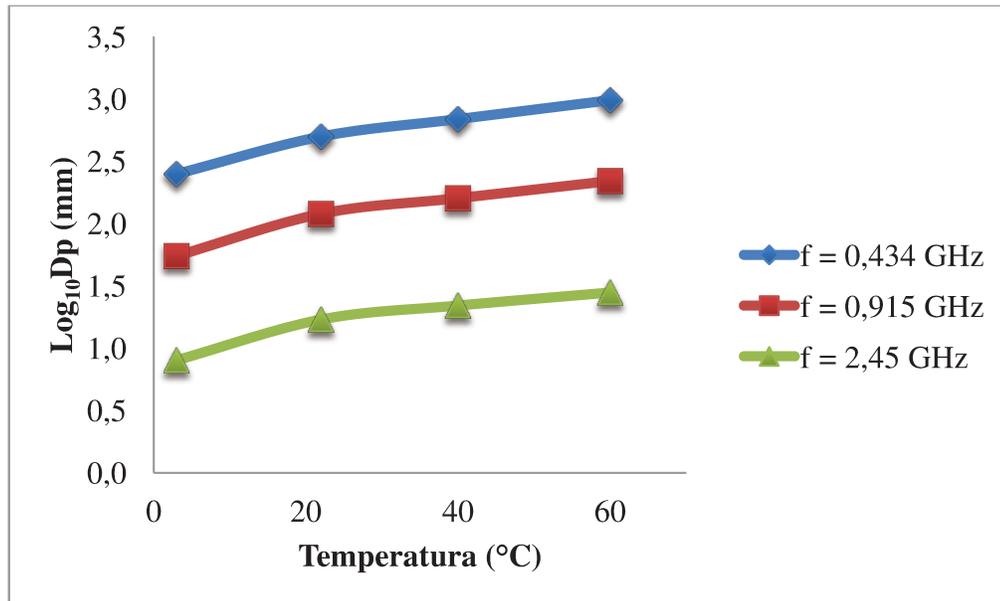
Sharma e Prasad (2002) verificaram que a temperatura não influenciou significativamente a profundidade de penetração das micro-ondas nas amostras de alho (*Allium sativum* L.), muito embora, observassem que para um mesmo conteúdo de umidade do material, D_p tenha aumentado, utilizando frequência de 2,45 GHz. Segundo os autores, a geometria do material pode ser um fator limitante ao processo.

Ohlsson et al. (1974) *apud* Metaxas e Meredith (1983) reportaram resultados para a profundidade de penetração de micro-ondas para a carne vermelha (crua) na frequência de 0,915 GHz. O trabalho reportou uma redução na profundidade de penetração de 150 mm para 20 mm, quando a temperatura aumentou de -20 °C para 20 °C. Esse tipo de comportamento não foi

¹ Mirin – vinho de arroz similar ao saquê. Condimento utilizado na cozinha japonesa constituído de 40-50 % de açúcar, até 1,5 % de sal e com conteúdo de álcool até 14 %.

verificado para a água pura (Figura 2.4), pois D_p foi aumentado quando a temperatura aumentou de 3 °C para 60 °C em frequências usualmente utilizadas na indústria – 0,434 GHz, 0,915 GHz e 2,45 GHz – destacando os efeitos dos sais nas propriedades dielétricas, e conseqüentemente, na profundidade de penetração das micro-ondas (Eq. 2.6 e Eq. 2.7).

Figura 2.4 – Profundidade de penetração em função da temperatura para água pura.



Fonte: Adaptado de Ohlsson et al. (1974) *apud* Metaxas e Meredith (1983).

2.4 PROCESSO DE EXTRAÇÃO ASSISTIDO POR MICRO-ONDAS

2.4.1 Considerações gerais

O uso de forno de micro-ondas, para fins de pesquisas em laboratório, surgiu em 1975 com Abu-Samra et al. para análises de vestígios de metais em amostras biológicas. Já na década de 80, pesquisas (Ganzler; Salgó; Valkó, 1986; Ganzler; Salgo, 1987) revelaram as primeiras vantagens (rapidez e aumento de rendimento) do uso de micro-ondas na extração de analitos provenientes de sementes, alimentos e solo, em relação aos métodos tradicionais de Soxhlet e agitação (*shake-flask*) (ESKILSSON; BJÖRKLUND, 2000; NEMES, 2012).

Em 1989, o grupo brasileiro do Laboratório de Produtos Naturais da Universidade Federal do Ceará associado à equipe francesa da *Faculté de Pharmacie* de Paris desenvolveu um forno de micro-ondas, criando um sistema de extração de óleo essencial de folhas de *Lippia sidoides* Cham. (alecrim-pimenta) assistida por micro-ondas e convecção. Os autores reportaram que o processo foi rápido (5 minutos), sem adição de solvente e com necessidade de pouca alimentação de matéria-prima (30-40 g) para o seu desenvolvimento (Craveiro et al., 1989).

Na última década, o uso do processo de extração assistido por micro-ondas tem recebido maior atenção em muitos campos da ciência, mas em particular em pesquisas com biomassa. A resposta dessa tendência está no seu particular mecanismo de aquecimento, custo financeiro e bom desempenho sob condições atmosféricas, ao contrário do que é observado nos métodos tradicionais, tais como, Soxhlet, hidrodestilação e maceração, que exigem muito tempo de extração e alto consumo de solvente, o que pode ocasionar a degradação térmica da maioria dos constituintes e aumento da poluição do meio (WANG; WELLER, 2006; MANDAL et al., 2007; CHAN et al., 2011).

Conforme explicado no item 2.3.2, o aquecimento por energia de micro-ondas ocorre nas moléculas, através de dois mecanismos: condução iônica e rotação do dipolo, e sua eficiência depende das propriedades dielétricas do material. O processo de extração consiste na rápida distribuição dessa energia no volume total de solvente e da matriz sólida (ESKILSSON; BJÖRKLUND, 2000; CHAN et al., 2011; ROUTRAY; ORSAT, 2012).

A água presente dentro da planta absorve a energia de micro-ondas e por superaquecimento, ocasiona a ruptura da estrutura celular que permite uma melhor penetração do solvente através da matriz (WANG; WELLER, 2006; ROUTRAY; ORSAT, 2012).

Em geral, os sistemas de aplicação de micro-ondas, entre eles os de extração, são classificados de duas formas: multimodo e monomodo (ou *focused-mode*). O primeiro apresenta como característica uma distribuição aleatória da radiação de micro-ondas na cavidade, e a maioria dos sistemas possui um modo de agitação que ajuda a fornecer potência de uma maneira mais uniforme. O segundo restringe a radiação de micro-ondas em uma região da cavidade. Em geral, o sistema *multi-mode* está associado a altas pressões, enquanto o *mono-mode*, à pressão atmosférica, embora também possa funcionar a altas pressões. Assim, para evitar confusão de entendimento, as expressões “sistema fechado” (*closed system*) e “sistema aberto” (*open system*)

foram criadas para designar a diferença entre “operar em pressões acima da atmosférica” e “sob pressão atmosférica” (CHAN et al., 2011; NEMES, 2012).

Segundo Mandal et al. (2007), existem diversas vantagens e desvantagens entre os sistemas fechados e abertos. Podem-se enumerar as seguintes vantagens do sistema fechado:

1. É possível alcançar altas temperaturas, pois o aumento da pressão interna do compartimento eleva o ponto de ebulição do solvente utilizado. Aumentando a temperatura, diminui o tempo de aplicação de micro-ondas;
2. A perda de compostos voláteis durante a irradiação de micro-ondas é bastante reduzida;
3. Diminuição na quantidade de solvente requerido. Como não ocorre evaporação, não há necessidade em adicionar mais solvente para manter o volume inicial do processo e, conseqüentemente, diminui descarte de amostra devido à contaminação;
4. As fumaças produzidas durante a extração de um ácido são mantidas dentro do compartimento da amostra, evitando manuseios e inspiração de fumaças prejudiciais à saúde.

Como desvantagens do sistema fechado, tem-se:

1. As altas pressões atingidas apresentam riscos de segurança (explosões);
2. A quantidade de amostra que pode ser processada é limitada;
3. O compartimento de amostra feito de politetrafluor etileno (PTFE) não permite soluções a altas temperaturas;
4. O compartimento da amostra deve ser resfriado antes de sua abertura para evitar perdas de voláteis.

Para o sistema aberto, enumeram-se as seguintes vantagens:

1. Aumento da segurança, a partir da operação à pressão atmosférica com compartimentos abertos;
2. A possibilidade de usar compartimentos feitos de diferentes materiais, incluindo PTFE, vidro e quartzo;
3. A facilidade de retirada do solvente em excesso;
4. A utilização de grandes quantidades de amostra;
5. A ausência de qualquer procedimento de resfriamento ou despressurização;
6. O custo do equipamento é menor, quando comparado ao sistema fechado;
7. A possibilidade de trabalhar com produtos termolábeis.

Como desvantagens do sistema aberto, citam-se:

1. Menor precisão;
2. O rendimento é menor, já que os sistemas não podem processar diferentes amostras simultaneamente;
3. Maior tempo operacional.

Os sistemas fechados foram às primeiras unidades de micro-ondas que se tornaram disponíveis comercialmente para laboratórios e consistiam em compartimentos feitos de Teflon resistentes até 700 kPa de pressão. No entanto, esses compartimentos eram o ponto fraco dos equipamentos até o início do ano 2000, pois demonstravam ser propensos à ventilação quando os limites de pressão fossem excedidos. A partir de então, os sistemas começaram a ser revestidos e mais seguros, e podem suportar pressões de 1 a 15 MPa (ERICKSON, 1998).

Os sistemas abertos foram desenvolvidos em função das limitações existentes dos sistemas fechados. Embora o nome sugira a ideia de um equipamento aberto à atmosfera, comparado a sistemas de pratos quentes (*hot plates*), a técnica não é necessariamente “aberta”, podendo ser purgada com gás ou acoplada a condensadores. A primeira unidade, comercialmente disponível, foi baseada na tecnologia de direcionar as micro-ondas através de uma guia de onda diretamente à amostra evitando a dispersão de energia na cavidade inteira do equipamento (ERICKSON, 1998).

2.4.2 Características do equipamento para extração assistida por micro-ondas

As primeiras configurações experimentais do equipamento para a extração assistida por micro-ondas foram sistemas construídos em laboratório, baseados em fornos de micro-ondas domésticos. No entanto, essa técnica é menos eficiente e não apresenta possibilidade de monitoramento do processo, exigindo cada vez mais equipamentos modernos e adaptados com instrumentos necessários para a extração de produtos (ESKILSSON; BJÖRKLUND, 2000; CHAN et al., 2011).

Nos dias de hoje, os equipamentos desenvolvidos em escala de laboratório são mais seguros e disponibilizam diversas maneiras de ajuste e controle para o usuário realizar o processo. As companhias mais conhecidas do setor são Milestone, CEM e Sineo, que vendem diferentes modelos de acordo com sua aplicação: síntese, digestão e extração, bem como, diferentes adaptações: sistema fechado ou aberto, monitoramento da temperatura com fibra óptica, controle da pressão, sistema de agitação, etc. O equipamento MES-1000, fornecido pela CEM (Matthews, NC, USA), é um dos mais populares nas publicações científicas. Trata-se de um sistema fechado, que permite a irradiação simultânea de até 12 compartimentos de extrações (ESKILSSON; BJÖRKLUND, 2000; CHAN et al., 2011).

O controle de parâmetros, tais como temperatura e pressão, foi o grande avanço da década de 90. Através do monitoramento dessas variáveis, pesquisadores conseguiram controlar a digestão de gases durante reações químicas, podendo assim investigar os seus mecanismos. Até então, a metodologia padrão era baseada nas configurações de potência de micro-ondas, o que se tornou um procedimento limitado, devido as suas flutuações de uma unidade para outra. O controle inadequado do método produzia resultados não reprodutíveis, mesmo quando dois sistemas construídos pelo mesmo fabricante eram utilizados (ERICKSON, 1998).

Após a descrição da instrumentação e configuração do equipamento, são apresentados na próxima seção, os principais fatores que afetam o desempenho do processo de extração com micro-ondas.

2.4.3 Fatores de limitação de processo

O ponto inicial para tornar um processo mais eficiente, é reconhecer os fatores que limitam o seu desenvolvimento. Para a extração assistida por micro-ondas, alguns parâmetros operacionais, como temperatura e tempo, e de matéria-prima, composição do solvente e conteúdo de água da matriz sólida, podem influenciar fortemente o desempenho do processo e o rendimento do produto.

Alguns desses fatores, relevantes em especial a esse projeto de pesquisa, são apresentados a seguir.

2.4.3.1 Características da matriz vegetal

Na Engenharia de Processos, as características físicas do material são muito importantes e podem influenciar o rendimento do produto final (Eskilsson; Björklund, 2000; Venkatesh; Raghavan, 2004; Costa; Rocha, 2011; Chan et al., 2011). Normalmente, para a extração com micro-ondas, as amostras são secas, particuladas e peneiradas em etapas de pré-processamento objetivando um rendimento de extração ótimo (CHAN et al., 2011).

No entanto, partículas muito pequenas causam dificuldades em separar o resíduo sólido do extrato, ocasionando etapas adicionais de filtração, centrifugação e purificação do material. Em geral, o tamanho recomendado das partículas para esse tipo de processo varia de 100 μm a 2 mm, pois fornecem áreas superficiais maiores que melhoram o contato entre a matriz e o solvente, além de proporcionar um maior alcance de penetração das micro-ondas (MANDAL et al., 2007; CHAN et al., 2011).

Kwon et al. (2003) reportaram a eficiência de extração por solvente – 50 mL de etanol – assistida por micro-ondas (250 W, 30 s) de saponinas a partir de 5 g de raízes secas de *ginseng* (*P. ginseng* Meyer), utilizando três faixas diferentes de tamanhos da amostra, 0,149 mm, 0,250 mm e 2-4 mm e concentração de solvente de 60 %. Os resultados mostraram que o rendimento total do extrato foi maior para partículas menores: 24,3 %, 23,6 % e 17,8 %, respectivamente. A mesma tendência aconteceu para a quantificação de saponinas, 4,4 %, 4,3 % e 3,1 %, respectivamente.

respectivamente. Os autores relataram ainda a dificuldade de separar as partículas de 0,149 mm durante a filtração, e, portanto, a faixa de 0,250 mm seria o tamanho ótimo para o processo.

Diferente do tamanho da partícula, o conteúdo de umidade da matriz é um parâmetro extensamente discutido na literatura (Nelson, 1994; Sharma; Prasad, 2002; Guo et al., 2010; McKeown et al., 2012), principalmente quando relacionado as propriedades dielétricas (ver item 2.3.2). Em alguns casos, o aumento do conteúdo de umidade do material melhora o rendimento, principalmente em processos de extração de óleo essencial (ESKILSSON; BJÖRKLUND, 2000; LUCCHESI et al., 2004; WANG; WELLER, 2006; MANDAL et al., 2007).

O efeito deste parâmetro (rendimento), é claro, também depende do solvente escolhido para o processo. A água naturalmente dentro da amostra (ou adicionada à amostra) sempre terá um efeito na habilidade de absorção das micro-ondas e, facilitará o processo de aquecimento do material. Sendo assim, o solvente consegue solubilizar cada vez mais os componentes químicos, de acordo com sua polaridade (ESKILSSON; BJÖRKLUND, 2000).

Mas, assim como a água pode facilitar o processo, também pode dificultar, dependendo da quantidade. Molins et al. (1997) investigaram os efeitos do conteúdo de água (0 – 45 %) na extração sólido-líquido assistida por micro-ondas de um grupo de pesticidas, do tipo organoclorados, utilizando amostras de solo e hexano como solvente. Os autores observaram que a adição de água entre 15 % e 25 % ocasionou uma extração eficiente, revelando que, para um bom desempenho do processo, amostras nem tão secas nem tão úmidas devem ser utilizadas associadas ao hexano (ESKILSSON; BJÖRKLUND, 2000).

2.4.3.2 Natureza do solvente

A escolha do solvente mais adequado para o processo de extração com micro-ondas depende da solubilidade do analito que se deseja obter, da interação com a matriz da amostra e sua constante dielétrica. A toxicidade do solvente também deve ser levada em consideração (ZHOU; LIU, 2006; MANDAL et al., 2007; CHAN et al., 2011).

Preferencialmente, o solvente deve ter algumas características, tais como, alta “seletividade” pelo analito de interesse de forma a excluir os componentes não desejáveis da matriz e compatibilidade com as etapas finais das análises (cromatografia, por exemplo). Além

disso, é importante considerar as propriedades de absorção de micro-ondas do solvente (Eskilsson; Björklund, 2000). Em geral, o etanol é o solvente mais utilizado, pois é um bom absorvedor de micro-ondas e é capaz de extrair muitos compostos ativos de plantas (MANDAL et al., 2007; CHAN et al., 2011).

É importante lembrar que, a decisão de qual solvente utilizar no processo não deve ser baseada em métodos convencionais de extração, tais como Soxhlet, destilação a vapor ou hidrodestilação, já que, o desempenho e as características do processo não são as mesmas. Como exemplo, cita-se dietil-éter que é amplamente utilizado como solvente para a solubilização de esteroides da família *Saxifragaceae*, mas, que não é recomendado para extração com micro-ondas (LU et al., 2007; CHAN et al., 2011).

Segundo Eskilsson e Björklund (2000), existem três tipos de mecanismos para extração com solventes assistida por micro-ondas: no mecanismo I, a amostra é imersa em um único tipo de solvente ou mistura de solventes, que possuem alto poder de absorção de energia de micro-ondas. O mecanismo II é representado por misturas de solventes em diversas proporções, com alto e baixo valor de perda dielétrica, respectivamente. Etanol ou água, por exemplo, podem ser adicionados em fracos absorvedores de micro-ondas, tais como o hexano, para melhorar a eficiência de extração.

Mas, caso a amostra já tenha um alto valor de perda dielétrica, então, pode-se utilizar solventes transparentes. Moléculas polares e soluções iônicas (ácidos, por exemplo) absorvem muito mais energia devido ao seu momento dipolo que sofrerá influência das micro-ondas. Contudo, solventes não polares, tal como hexano, não aquecerão quando expostos às micro-ondas (ESKILSSON; BJÖRKLUND, 2000).

A Tabela 2.4 apresenta tipos de solventes frequentemente utilizados em extração com micro-ondas juntamente com suas constantes físicas, constante dielétrica e fator de dissipação.

De acordo com a Tabela 2.4, a água é o solvente com maior constante dielétrica e quando comparada ao metanol, por exemplo, apresenta um fator de dissipação bem menor. Esses valores indicam que, o metanol tem menor habilidade em obstruir as micro-ondas quando elas o atravessam, mas, possui uma maior habilidade para dissipar energia de micro-ondas em calor (ESKILSSON; BJÖRKLUND, 2000).

Tabela 2.4 – Constantes físicas e dielétrica, e fator de dissipação de solventes para extração com micro-ondas.

Solvente	Constante dielétrica ^a	Momento Dipolo ^b	Fator de dissipação (x10 ⁻⁴)	Ponto de ebulição ^c (°C)	Temperatura em sistema fechado ^d (°C)
Acetona	20,7			56	164
Etanol	24,3	1,96	2500	78	164
Hexano	1,89			69	- ^e
Metanol	32,6	2,87	6400	65	151
Água	78,3	2,30	1570	100	156

^aT = 20°C, ^bT = 25°C ^cP = 101,4 kPa, ^dP = 1207 kPa, ^eNenhum aquecimento com micro-ondas. Fonte: Eskilsson; Björklund (2000) e Jassie et al. (1997).

O volume de extração também é outro fator crítico. De maneira geral, a literatura reporta que o volume deve ser suficiente para que a matriz esteja completamente imersa no solvente do início ao fim do tempo da irradiação das micro-ondas. Isso quer dizer que, não necessariamente maiores razões entre amostra/solvente fornecerão maiores rendimentos de produto, já que, pode haver a inadequada agitação do solvente ou diferente absorção das micro-ondas (WANG; WELLER, 2006; MANDAL et al., 2007).

2.4.3.3 Temperatura de extração e potência de micro-ondas

A temperatura de extração é o parâmetro mais investigado quando se trata de extração por micro-ondas. Assim como, em técnicas tradicionais de extração, esse é um importante fator que contribui para o aumento no rendimento do produto final. Temperaturas elevadas podem resultar no aumento da eficiência do processo, uma vez que, a dessorção dos analitos dos sítios ativos na matriz aumenta com a temperatura. Além disso, os solventes tem a capacidade de solubilização aumentada em temperaturas maiores. Contudo, os efeitos da temperatura não são sempre tão intuitivos e a escolha desse parâmetro depende, principalmente, da estabilidade e do rendimento do composto ativo desejado (ESKILSSON; BJÖRKLUND, 2000; WANG; WELLER, 2006; MANDAL et al., 2007; CHAN et al., 2011).

Font et al. (1998) reportaram baixos rendimentos para a extração de alguns compostos herbicidas do grupo das sulfonil ureias a 100 °C, devido a decomposição dos analitos a essa temperatura. Outras condições foram investigadas, e apenas temperaturas abaixo de 70 °C indicaram bons rendimentos no processo.

Como outro exemplo, cita-se a extração de aminoácidos livres a partir de produtos alimentícios de origem vegetal (couve-flor) e animal (queijo). De acordo com Kovács et al. (1998), no processo de extração por solvente assistida por micro-ondas (5 g : 15 mL HClO₄, 300 W), os valores de temperatura na faixa de 40 °C a 80 °C não tiveram nenhum efeito significativo nos resultados obtidos para couve-flor. Já para as amostras de queijo, um leve aumento no rendimento dos aminoácidos livres foi observado para temperaturas entre 40 °C e 50 °C.

Tsubaki et al. (2010) concluíram que a temperatura ótima para a extração de compostos fenólicos do chá de Oolong foi 170 °C, quando temperaturas entre 110 °C e 230 °C foram testadas. Os autores reportaram um rendimento máximo de 74 % para a temperatura em questão, e um rendimento mínimo de 54 % para a temperatura de 110 °C. No entanto, foi observado, que, o aumento adicional na temperatura de extração após 170 °C reduziu o rendimento do processo.

A potência de micro-ondas é um fator que está fortemente ligado à temperatura, ou seja, o seu aumento revela um aumento na temperatura do produto. Esse aumento gera o rápido aquecimento dos constituintes polares e da água localizada no interior da matriz, o que aumenta a taxa de extração. Contudo, esse efeito estendido por muito tempo pode ocasionar perdas de solvente no sistema, como também, redução no rendimento de extração caso ocorra aumentos acima da condição ótima do processo (TSUBAKI et al., 2010, CHAN et al., 2011; DESAI et al., 2010).

Nesse último caso, as perdas estão relacionadas à degradação dos compostos termicamente sensíveis. De maneira geral, o rendimento do processo aumenta proporcionalmente com o aumento da potência de micro-ondas, até um limite, em que, o aumento torne-se insignificante ou diminua (CHAN et al., 2011).

O protocolo usual para o controle da temperatura de processo possui duas etapas: configuração do nível de potência para a temperatura-objetivo; e configuração do tempo para manter a temperatura constante sem superaquecer o sistema. Segundo Collins e Leadbeater (2007), a energia de micro-ondas deve ser direcionada à amostra durante a etapa inicial de

aquecimento e, uma vez atingida à temperatura desejada, a potência é reduzida para manter a mistura (ou reação) sob a mesma condição. Qualquer que seja o estágio, o processo requer cálculos, tais como, para a porcentagem de potência nominal do equipamento e duração da distribuição de energia (COLLINS; LEADBEATER, 2007; NEMES; ORSAT, 2011; NEMES, 2012).

2.4.3.4 Tempo de extração

Esse parâmetro de processo é um dos grandes diferenciais quando se trata de extração assistida por micro-ondas. O tempo de operação pode ser extremamente curto, de 3 a 30 minutos, por exemplo, quando comparados a técnicas convencionais, Soxhlet, por exemplo, de 3 a 48 horas (ESKILSSON; BJÖRKLUND, 2000).

No entanto, os efeitos desse fator devem ser avaliados simultaneamente com outros parâmetros de processo, tais como, temperatura de extração e potência de micro-ondas, já que processos operando com longas exposições, ainda que em baixas temperaturas ou baixas potências, podem ocasionar diminuição no rendimento do processo. A literatura reporta que casos como esse são justificados devido a perdas, modificações ou oxidações dos compostos ativos (HAO et al., 2002; WANG et al., 2009; CHAN et al., 2011).

Pan et al. (2003) reportaram os efeitos do tempo de extração (0,5 a 8 minutos), entre outras condições operacionais – concentração do solvente, razão solvente/amostra e tempo de umidificação da amostra – sobre o rendimento de polifenóis e cafeína de folhas de chá verde. Os resultados para os polifenóis mostraram um aumento no rendimento do composto (até 28,5 g/g) com o aumento do tempo até 4 minutos, e a partir de então permaneceu constante. Já para a cafeína, o rendimento atingiu um valor máximo de 26 g/g aos 4 minutos, e posteriormente (4 – 8 minutos), houve uma diminuição da quantidade extraída (24 g/g).

Dai et al. (2010) investigou os efeitos do tempo de extração (5, 10, 30 e 60 minutos), utilizando planejamento de experimentos ortogonais, sobre o rendimento de compostos químicos (mentol, mentona e mentofurano) do óleo essencial de folhas de hortelã (*Mentha piperita* L.). Os resultados mostraram que para o processo de extração com micro-ondas (sistema aberto, 150 W), a quantidade obtida dos compostos aumentou no intervalo de 5 a 10 minutos, atingindo um valor

máximo em torno de 30 minutos (12, 4 e 1,5 mg, respectivamente para mentol, mentona e mentofurano) e diminuindo a partir disso (9, 2, 1 mg em 60 minutos, respectivamente). Os autores reportaram que o aumento no tempo da extração nos últimos 30 minutos, ocasionou o aumento da temperatura na mistura amostra/solvente, e, portanto, governou a degradação dos compostos.

Li et al. (2012) realizaram a extração de compostos fenólicos de tomates utilizando tecnologia de micro-ondas com o etanol como solvente. Os autores utilizaram um planejamento composto central, onde avaliaram os efeitos das variáveis de temperatura, tempo de extração e concentração do solvente no rendimento dos compostos antioxidantes do tomate (através de análises de determinação de redução do ferro e absorção de oxigênio). Os autores observaram que os efeitos do tempo de extração não foram significativos, ao passo que, os efeitos da temperatura e concentração do solvente foram significativos. Os autores reportaram que usando a metodologia de superfície de resposta, os parâmetros ótimos para o processo foram 96,5 °C, 2,06 minutos e 66,2 % de etanol para a redução da quantidade de ferro e 96,5 °C, 1,66 minutos e 61,1 % de etanol para a absorção do oxigênio.

O comportamento das variáveis desse processo depende de cada caso e, por isso, muitos pesquisadores têm usado planejamentos de experimentos (fatorial, central composto ou ortogonal) para avaliar os seus efeitos e aperfeiçoar as condições de extração do composto desejado. As variáveis citadas anteriormente são algumas das mais estudadas na literatura (ESKILSSON; BJÖRKLUND, 2000).

O planejamento composto central (CCD) é bastante utilizado na Engenharia Química como ferramenta para a verificação da máxima informação sobre o processo, a partir de um número mínimo de experimentos e obtenção de constantes, termos lineares e quadráticos. Esse tipo de planejamento consiste em um planejamento fatorial completo (ou planejamento fracionário de resolução V) associado às corridas axiais (ou estrela) e corridas centrais (CALADO; MONTGOMERY, 2003; LEARDI, 2009; YANG et al., 2009; MARAN et al., 2013).

Nesse tipo de planejamento, dois parâmetros devem ser especificados, e são eles: à distância a partir do centro do planejamento até os pontos axiais e os números de pontos centrais. No primeiro caso, tem-se a indicação da rotabilidade (α) de um planejamento composto central governado, principalmente, pela região de interesse. Os números de pontos centrais servem para

verificar a variância da resposta prevista, e quando a região de interesse é uma esfera, recomenda-se utilizar de três a cinco pontos centrais (JONES, 1996; CALADO; MONTGOMERY, 2003).

Uma desvantagem desse tipo de planejamento, é que se deve apresentar cinco níveis para cada variável ($0, \pm 1, \pm \alpha$), o que, muitas vezes não é viável em função das limitações de equipamento e/ou processo. Uma alternativa seria apresentar o planejamento com três diferentes níveis de configuração para as variáveis definidas. Nesse caso, α é igual a 1 e o planejamento, denominado de planejamento composto de face centrada (FCCCD), não é rotacionável (JONES, 1996).

A construção da matriz do FCCCD é muito simples: a partir de k variáveis, os primeiros 2^k experimentos são exatamente os mesmos de um planejamento fatorial. Então, os próximos $2 \times k$ experimentos são obtidos mantendo uma das variáveis no ponto de nível central e variando as demais em -1 e $+1$. Finalmente, os últimos n experimentos são as repetições com todas as variáveis no ponto central (Leardi, 2009). Um exemplo da construção da matriz de experimentos é apresentado no Capítulo 3 (Tabela 3.2).

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 MATERIAIS

3.1.1 Matéria-prima

Sementes de jambu (*Acmella oleracea* (L.) R. K. Jansen) – Figura 3.1a – foram adquiridas *on line* de fornecedor Canadense, localizado na província de Quebec (<http://solanaseeds.netfirms.com>) no mês de Dezembro de 2011. Esse material não pode ser disponibilizado por produtores Brasileiros, devido às dificuldades de encaminhamento internacional de biomassa viva.

No mês de Janeiro de 2012, as sementes de aproximadamente 2 mm foram plantadas em uma estufa comercial localizada em Saint-Lazare/Canadá (<http://www.jardiniere.ca>) e cultivadas em pequenos vasos de polipropileno de 10 cm de diâmetro, na razão 3 sementes/vaso (Figura 3.1b). O manejo do material foi realizado baseando-se em critérios encontrados na literatura (Homma et al., 2011; Gusmão et al., 2003).

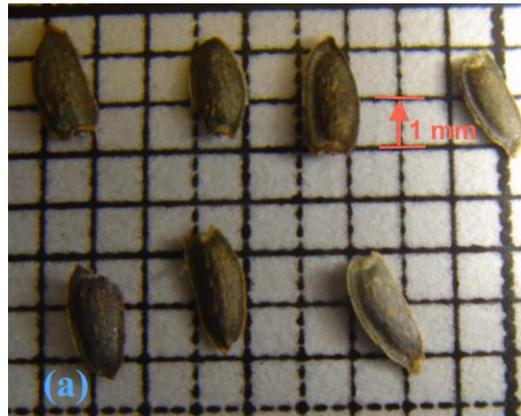
As plantas cresceram em ambiente climatizado, temperatura média de 25 °C e aproximadamente 80 % de umidade relativa, utilizando luzes artificiais, já que o período de Dezembro a Março corresponde à estação inverno no Canadá, caracterizando, portanto, dias com pouco sol e extremamente frios. A temperatura externa média do período de cultivo – Dezembro, 2011/Março, 2012 – foi de -3,35 °C, segundo dados meteorológicos encontrados na página oficial do governo Canadense (<http://climate.weather.gc.ca/>).

A planta foi coletada após 90 dias (Figura 3.1c), lavada com água destilada e limpa, separando as partes escuras ou doentes do maço. O excesso de água superficial foi eliminado utilizando um sistema de centrifugação e o material foi separado. Flores, folhas e caules foram alojados separadamente em embalagens plásticas perfuradas (Figura 3.1d), acondicionadas em câmara frigorífica (-5 °C) no laboratório e, posteriormente, secas por 24 horas utilizando *freeze-dryer* (Christ, Gamma 1-16 LSC, Canadá), em condições médias de -55 °C, 0,537 mbar de

pressão de vácuo e 21,7 °C de temperatura de prateleira. As condições de secagem foram pré-determinadas através do sistema padrão do equipamento para esse tipo de material.

Após a secagem, cada parte foi triturada por um processador (Homeland Housewares, model: MB1001/Magic Bullet[®], EUA) e armazenada em condição ambiente dentro de frascos de vidro hermeticamente fechados (Figura 3.1e). A Figura 3.1 mostra todas as etapas do preparo do material vegetal do plantio até a sua armazenagem.

Figura 3.1 – Preparo do material vegetal; (a) Sementes de jambu (*Acmella oleracea* (L.) R. K. Jansen); (b) Jambu com 30 dias; (c) Jambu coletado com 90 dias; (d) Flores, folhas e caules de jambu antes da liofilização; (e) Armazenamento das flores, folhas e caules de jambu, respectivamente, secos e triturados.





3.2 METODOLOGIA

3.2.1 Determinação da umidade do material

O conteúdo de umidade inicial das amostras secas e trituradas (Figura 3.1e) foi determinado utilizando o método direto de aquecimento (método estufa), descrito em Jacobs (1973), utilizando a infraestrutura do *Post Harvest Technology Laboratory* na McGill University em Sainte-Anne-de-Bellevue.

Uma alíquota representativa do todo da amostra (0,5000 g) foi separada antes dos experimentos de extração e determinação das propriedades dielétricas e, em seguida, foi alojada em pratos de alumínio (Figura 3.2)

O material permaneceu à temperatura de 105 °C em estufa convectiva até massa constante. Em seguida, o material foi retirado da estufa, resfriado em dessecador, e a massa foi novamente medida em balança analítica. As medidas foram realizadas em triplicatas.

Figura 3.2 - Amostras de flores, folhas e caules de jambu para determinação de conteúdo de umidade inicial.



A perda de massa do material é equivalente ao seu conteúdo de umidade, que é calculado conforme Eq. 3.1 e Eq. 3.2.

$$U_{b.s.}(\%) = \left(\frac{m_{(i)} - m_{(ss)}}{m_{(ss)}} \right) \cdot 100 \quad \text{Eq. 3.1}$$

$$U_{b.u.}(\%) = \left(\frac{U_{b.s.}}{1 + U_{b.s.}} \right) \cdot 100 \quad \text{Eq. 3.2}$$

Onde: $U_{b.s.}$ e $U_{b.u.}$ é o conteúdo de umidade, em base seca e em base úmida, $m_{(i)}$ é a massa inicial antes de entrar na estufa e $m_{(ss)}$ é a massa de sólido seco.

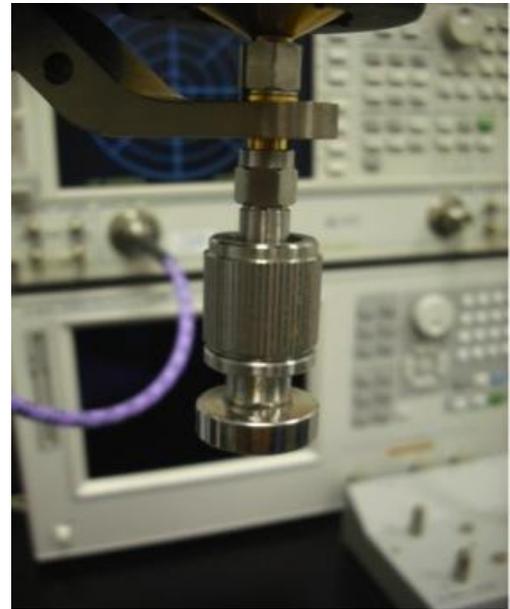
3.2.2 Determinação das propriedades dielétricas

As propriedades dielétricas foram determinadas utilizando o mesmo equipamento descrito por Dev et al. (2008). O sistema (Figura 3.3) consiste em (a) uma rede de aquisição de dados, *Agilent 8722 ES s-parameter Network Analyzer*, que é associada a (b) uma sonda de alta temperatura (*probe* – modelo 85070B), (c) a um módulo de calibração eletrônica (N4693A) e a (d) um software de computador denominado *Agilent 85070D Dielectric Probe Kit Software* (versão E01.02, USA). A precisão do equipamento é de $\pm 5 \%$.

Figura 3.3 – Composição do equipamento para determinação das propriedades dielétricas; (a) sistema de aquisição de dados; (b) sonda de alta temperatura; (c) módulo de calibração eletrônica; (d) software.



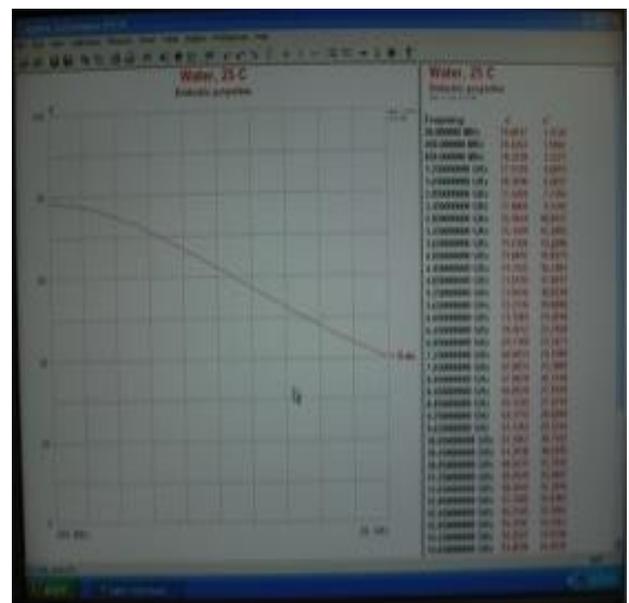
(a)



(b)



(c)



(d)

Todas as medidas para a constante dielétrica e fator de perda, tanto para o procedimento de calibração do equipamento (com água) quanto para o procedimento experimental (com amostras de solvente, solvente + flores, solvente + folhas e solvente + caules), foram realizadas no intervalo de frequência de 0,45 a 10,45 GHz, que é a faixa padrão do equipamento e que incluem a faixa de frequência permitida para o uso científico de micro-ondas estabelecido pela *Federal Communications Commission* (Capítulo 2, item 2.3.1).

O procedimento de calibração do equipamento foi realizado utilizando água à temperatura ambiente (20 °C) inserida em tubos de polipropileno. Os resultados obtidos pelo software do computador foram comparados com dados disponíveis na literatura (Capítulo 4, Tabela 4.1). Os testes foram realizados em triplicatas.

As propriedades dielétricas foram determinadas para quatro tipos de sistema: solvente + flores, solvente + folhas, solvente + caules e somente solvente, que foram preparados com 40 mL de solvente, hexano (Hexanes HPLC Grade, Lot 115241, Fisher-Chemical, USA) e etanol (Anhydrous Ethyl Alcohol, Lot 10884, Commercial Alcohols, Canada) na proporção 7:3 v/v, respectivamente, e com a adição de 1,0000 g de flores, folhas e caules, quando requisitado. A composição do solvente e a proporção utilizada foram baseadas em trabalhos anteriores e em ensaios preliminares, conforme descrito neste Capítulo 3 no item 3.3.1.

Os sistemas foram preparados com o solvente ou misturas de solvente e amostras de flores, folhas e caules em tubos de polipropileno, e aquecidos em banho-maria dentro de uma capela. A temperatura do banho foi monitorada através de um termômetro digital (Control Company, model: 15-077-61/Extra-Long-Stemthermometer, USA, 2009) e as propriedades dielétricas foram determinadas durante o período de resfriamento dos sistemas a temperatura ambiente. A faixa teórica de temperatura utilizada para a determinação das propriedades dielétricas foi de 60 °C a 20 °C. Considerou-se para a definição desse intervalo de temperatura, a faixa de operação estabelecida para o processo de extração de espilantol assistido por micro-ondas (Capítulo 3, itens 3.3.1 e 3.3.2) e a temperatura inicial do solvente. Devido a dificuldades de controle experimental a faixa real de temperatura média foi de $52,9 \pm 4,1$ °C a $21,5 \pm 0,2$ °C. Todos os testes foram realizados em triplicatas.

Além das propriedades dielétricas, a profundidade de penetração das micro-ondas (D_p) nos sistemas solvente + flores, solvente + folhas, solvente + caules e solvente, também foi

determinada. Conforme já apresentado no Capítulo 2, item 2.3.2, esse parâmetro é definido como sendo a distância em que a potência se reduz a 1/e do valor transmitido à superfície do material e é um elemento importante para descrever a forma de aquecimento do material através da aplicação de micro-ondas.

A profundidade de penetração das micro-ondas (D_p) foi calculada pela Eq. 2.6 (Capítulo 2, item 2.3.2) e seus resultados são comparados com dados encontrados na literatura.

3.3 EQUIPAMENTOS EXPERIMENTAIS

O equipamento utilizado para a extração do óleo essencial das flores, folhas e caules do jambu consistiu em um forno de micro-ondas de sistema de vaso aberto (CEM Corporation, Star System 2TM, USA, 1997), conforme ilustrado nas Figuras 3.4 e 3.5. O sistema possui 45,72 x 33,4 x 35,5 cm de dimensões (largura x profundidade x altura), pesa 21,77 kg e apresenta duas cavidades disponíveis para extração, mas apenas uma foi utilizada para os experimentos. A potência nominal do equipamento é de 800 W e pode operar com temperaturas até 500 °C em 120 ± 10 % VAC e 60 Hz ou $220/240 \pm 10$ % VAC e 50 Hz.

Um tubo de vidro de capacidade de 250 mL foi usado como reator do equipamento e alojado dentro de uma das cavidades de micro-ondas, sendo associado a um condensador para o processo de extração.

O forno de micro-ondas possui um sensor infravermelho de temperatura interno, que mede unicamente a temperatura da base do reator dentro de cada cavidade. Foi observado em ensaios preliminares do processo de extração, diferenças significativas (± 10 °C) entre as leituras realizadas por esse instrumento de medida e um termômetro de fibra óptica inserido dentro do reator.

Não foi possível manter o termômetro de fibra óptica dentro do tubo reator durante as corridas experimentais para o processo de extração de espilantol assistido por micro-ondas, devido às limitações de equipamento. Dessa forma, foi necessário estabelecer um procedimento de calibração do forno (Costa et al., 2013b) para que a temperatura real do sistema se mantivesse estável e próxima da temperatura-objetivo (temperatura teórica), sem a necessidade da introdução do instrumento.

Figura 3.4 – Equipamentos para o processo de extração; (a) Forno de micro-ondas; (b) Tubo reator; (c) Condensador.

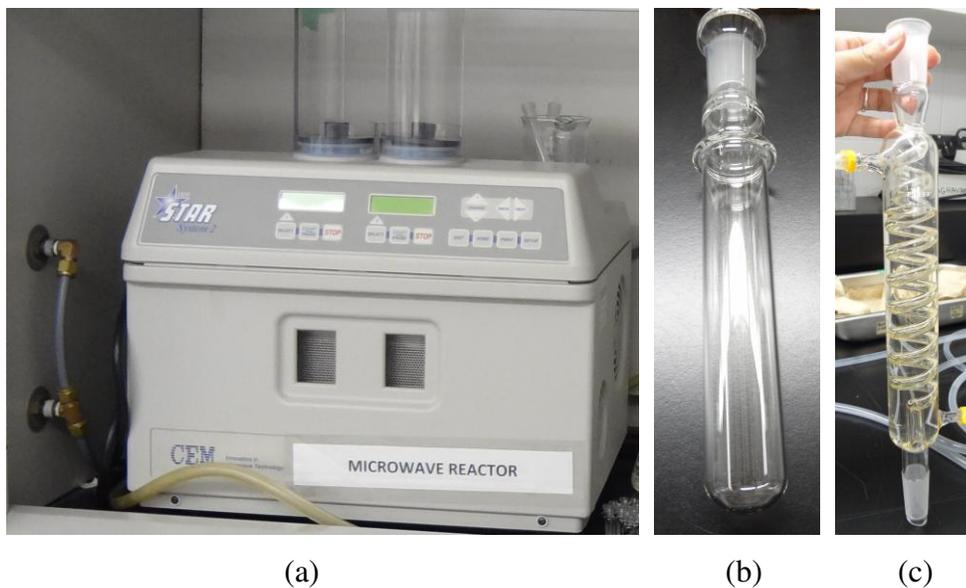
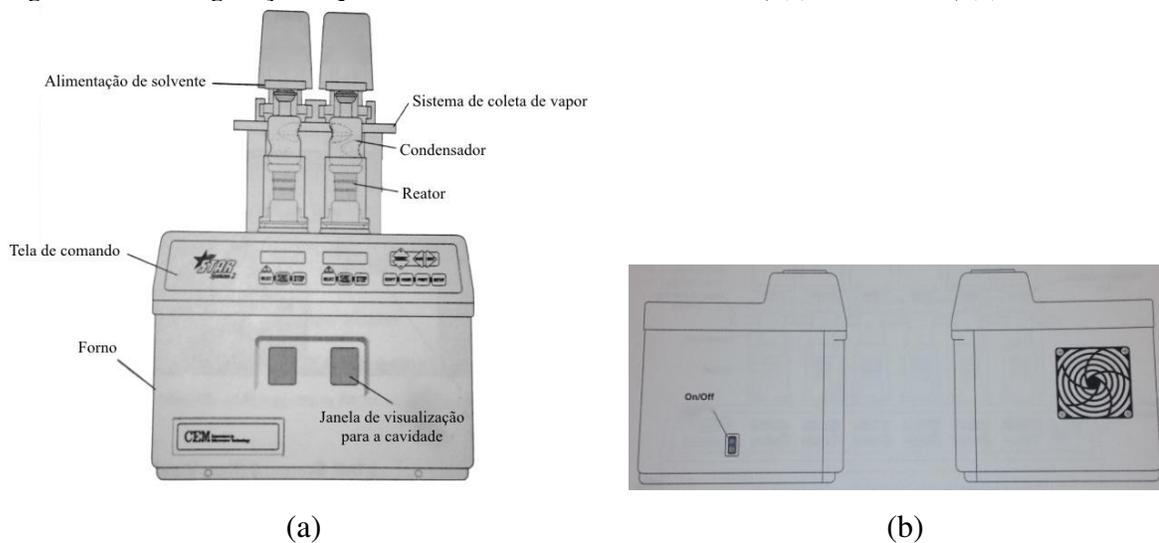


Figura 3.5 – Configuração esquemática do extrator de micro-ondas; (a) vista frontal, (b) vista lateral.



Fonte: Adaptado de: Manual do Fabricante CEM Corporation, Star System 2TM.

3.3.1 Calibração do forno micro-ondas

Em processos envolvendo micro-ondas, a temperatura pode aumentar em função do tempo durante os ensaios experimentais e para evitar que isso ocorra, é necessário calibrar o equipamento. Além disso, a calibração do forno é importante, pois alguns equipamentos de aplicação de micro-ondas apresentam sensores infravermelhos de temperatura que não conseguem realizar leituras precisas do sistema, pois medem a temperatura apenas na base do *container* (ou tubo reator).

Conforme já apresentado no Capítulo 2 – item 2.4.3.3, o procedimento frequentemente utilizado na literatura (Collins; Leadbeater, 2007; Nemes; Orsat, 2011; Nemes, 2012) inclui duas etapas: configuração do nível de potência para que a temperatura-objetivo seja atingida e configuração do tempo para manter a temperatura constante durante todo o procedimento experimental.

No entanto, alguns parâmetros operacionais necessitam ser pré-definidos antes de calibrar o equipamento, tais como: tipo e volume de solvente, temperatura de processo e tempo total de processo. Essas variáveis e suas faixas de trabalho foram baseadas na pesquisa realizada por Dai et al. (2010).

Em relação ao tipo de solvente, Dai et al. (2010) relataram que a combinação de 70 % (v/v) de hexano e 30 % (v/v) de etanol forneceu maior rendimento de mentona (4 mg), mentofurano (1,5 mg) e mentol (11 mg) na extração de óleos essenciais de hortelã (*Mentha piperita* L.). Baseando-se nesses resultados dos autores e em ensaios preliminares (Costa et al., 2012; Costa et al., 2013b), utilizou-se a mesma proporção de solventes, hexano e etanol, respeitando o volume mínimo necessário requerido pelo forno de micro-ondas para a realização do processo de extração.

A faixa de temperatura de processo utilizada foi definida, considerando que o solvente deveria ser aquecido até um valor próximo – viável de ser atingido pelo equipamento –, mas abaixo do seu ponto de ebulição para evitar perdas de volume, excesso de vapores perigosos e aumento exagerado da pressão interna e possíveis explosões dentro do tubo reator. Como se tratava de um sistema composto de hexano e etanol, a temperatura de ebulição da mistura teve que ser determinada, e por isso, foi calculada através de um simulador de equilíbrio líquido-vapor

considerando modelo ideal para líquido e vapor. O simulador está disponível *on line* pela Universidade de Coimbra no endereço eletrônico <http://labvirtual.eq.uc.pt>.

A temperatura de ebulição calculada foi de 73,6 °C para a mistura hexano e etanol na proporção, 7:3. Assim, considerando as limitações do equipamento, a temperatura máxima do solvente definida para a realização do processo de extração foi de 60 °C. Em relação à temperatura mínima, foi respeitado o valor mínimo alcançável pelo equipamento quando micro-ondas eram emitidas ao solvente dentro do reator. Dessa forma, foi proposta, então, uma variação de temperatura de 40 °C a 60 °C.

O tempo de processo foi estabelecido considerando-se que processos convencionais de extração de compostos químicos detêm períodos longos de operação (Capítulo 2, item 2.1, Tabela 2.2) como também, a partir de dados encontrados na literatura (Capítulo 2, item 2.4.3.4) para processos de extração assistidos por micro-ondas. Dessa forma, a faixa de tempo de processo foi definida como sendo de 10 a 30 minutos.

Com os parâmetros: tipo e volume de solvente, temperatura e tempo de processo já estabelecidos, o procedimento de calibração do forno foi iniciado. Primeiro, a temperatura do solvente em ciclos de aquecimento e resfriamento foi medida em triplicata. Em seguida, esses dados foram utilizados para definir uma função para o tempo, com o objetivo de manter a temperatura no valor desejado (40 °C, 50 °C e 60 °C).

Assim, micro-ondas foram emitidas ao solvente dentro da cavidade do forno durante um intervalo de tempo – 55 segundos ($T_{\text{objetivo}} = 40 \text{ °C}$), 90 segundos ($T_{\text{objetivo}} = 50 \text{ °C}$) e 120 segundos ($T_{\text{objetivo}} = 60 \text{ °C}$) – e a temperatura do solvente foi medida dentro do reator com o equipamento desligado, imediatamente após o término desse tempo. Essa emissão foi repetida até que valores extremamente próximos às temperaturas de 40 °C, 50 °C e 60 °C fossem atingidas.

Quando a diferença entre a temperatura medida e a temperatura-objetivo foi igual a $\pm 1 \text{ °C}$, as temperaturas referentes ao ciclo de resfriamento do solvente foram medidas, após agitação do solvente, em intervalos de 1 minuto até 5 minutos, em condições ambiente.

Todas essas medidas de temperatura foram acompanhadas por um termômetro digital (Control Company, model 15-077-61/Extra-Long-Stemthermometer, USA, 2009) inserido no reator com o forno desligado, devido à falta da disponibilidade de termômetro de fibra óptica nesta parte dos experimentos. Todas as medidas foram realizadas em triplicata.

A potência real necessária de micro-ondas utilizada para aquecer a amostra (P) e para atingir a temperatura-objetivo de processo foi calculada de acordo com as Eq. 3.3, Eq. 3.4, Eq. 3.5 e Eq. 3.6. Os calores específicos do solvente e do reator foram determinados utilizando dados do livro Perry's Chemical Engineers' Handbook (Green; Perry, 2008), sendo que, para o reator foi considerado o calor específico do vidro. Assim, para efeitos de cálculos, $c_{psolvente} = 2,4889 \text{ J/g}^\circ\text{C}$ e $c_{preator} = 0,84 \text{ J/g}^\circ\text{C}$.

$$Q_{total} = Q_{solvente} + Q_{reator} \quad \text{Eq. 3.3}$$

$$Q_{solvente} = m_{solvente} \cdot c_{psolvente} \cdot \Delta T \quad \text{Eq. 3.4}$$

$$Q_{reator} = m_{reator} \cdot c_{preator} \cdot \Delta T \quad \text{Eq. 3.5}$$

$$P = \frac{Q_{total}}{\Delta t} \quad \text{Eq. 3.6}$$

Onde: Q_{total} é o calor total (J); $Q_{solvente}$ é o calor do solvente (J); Q_{reator} é o calor do tubo reator (J); ΔT é a diferença entre as temperaturas inicial e final ($^\circ\text{C}$); Δt é a diferença entre os tempos inicial e final (s).

A configuração do tempo correspondeu ao desenvolvimento experimental da dinâmica dos ciclos, sem a necessidade de desligar o equipamento e objetivando manter a temperatura o mais estável possível para não superaquecer o sistema durante as corridas experimentais do processo de extração.

Dessa forma, foi necessário, inicialmente, ajustar os dados de aquecimento e resfriamento do solvente a funções matemáticas, que pudessem prever o tempo em função da temperatura. O software Curve Expert, versão 1.4 foi utilizado para esse fim e o melhor ajuste foi obtido a partir do maior coeficiente de correlação.

Após a configuração teórica do tempo, ensaios preliminares foram realizados e repetidos para adaptar os resultados obtidos pelas equações à prática experimental. Devido a viabilidade de instrumentação mais precisa, neste momento, as medidas de temperatura do solvente foram acompanhadas utilizando um termômetro de fibra ótica (NoEMI-TS Series, Nortech Fibronic Inc., Canada). Assim que o perfil do tempo foi bem desenvolvido com uma repetição sendo realizada.

3.3.2 Processo de extração com micro-ondas

A extração do óleo essencial de flores, folhas e caules foi desenvolvida segundo um planejamento composto central de face centrada (FCCCD), utilizando dois níveis e três repetições no ponto central. Os efeitos das variáveis de entrada foram avaliados estatisticamente na variável de resposta rendimento do composto majoritário da planta, espilantol.

Para cada planejamento experimental de extração foram utilizados 2 g de material processado com 60 mL de solvente composto por hexano (Hexanes HPLC Grade, Lot 115241, Fisher-Chemical, USA) e etanol (Anhydrous Ethyl Alcohol, Lot 10884, Commercial Alcohols, Canada) na proporção 7:3, respectivamente. A razão amostra/solvente foi fixada, baseando-se na pesquisa de Dai et al. (2010). Segundo os autores, essa variável foi o fator menos importante para o processo de extração assistido por micro-ondas de hortelã (*Mentha piperita* L.), em relação aos parâmetros analisados: método de extração, tipo de solvente, tempo e razão amostra/solvente.

Dessa forma, a quantidade de amostra e a composição e proporção de solvente (Capítulo 3, item 3.3.1) adotada neste trabalho foi a mesma utilizada pelos autores. E a mesma relação foi adotada para as flores, folhas e caules de jambu. A Tabela 3.1 mostra as condições do planejamento experimental.

Tabela 3.1 – Variáveis de entrada para o planejamento 2^2 e $\alpha = 1$.

Nível	$-\alpha$	-1	0	+1	$+\alpha$
Temperatura (°C)	(40)	40	50	60	(60)
Tempo (min)	(10)	10	20	30	(30)

As corridas experimentais do planejamento foram realizadas de forma randômica, para minimizar os efeitos de variabilidade não esperada nas respostas em função dos fatores externos. A Tabela 3.2 mostra a matriz de planejamento utilizada para os experimentos do processo de extração assistido por micro-ondas das flores, folhas e caules de jambu (*Acmella oleracea*).

A principal vantagem desse tipo de planejamento (FCCCD) é a diminuição do número de corridas experimentais com a possibilidade de avaliar os efeitos combinados das condições do

ponto central com os níveis mínimo e máximo. No caso apresentado na Tabela 3.2, as corridas de 5 a 8 representam essa configuração.

Após o término do processo, o extrato foi filtrado utilizando papel de filtro (GE Healthcare, Whatman, n.1 – 55 mm Ø x 100 circles) e armazenado em câmara fria a -5 °C até as análises de cromatografia gasosa.

Tabela 3.2 – Matriz experimental do planejamento de face centrada (FCCCD).

Corrida	X ₁	X ₂	Temperatura de extração (°C)	Tempo de extração (min)
1	-1	-1	40	10
2	+1	-1	60	10
3	-1	+1	40	30
4	+1	+1	60	30
5	- α	0	40	20
6	+ α	0	60	20
7	0	- α	50	10
8	0	+ α	50	30
9	0	0	50	20
10	0	0	50	20
11	0	0	50	20

3.4 ANÁLISE DA COMPOSIÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL

O extrato de jambu foi analisado por cromatografia gasosa acoplado com espectrômetro de massas (Agilent Technologies, HP 6890N, USA) – CG/MS. O equipamento (Figura 3.6) possui uma coluna HP-5MS (Agilent Technologies, 190915-433, 350 °C máximo) com dimensões capilares de 30 m x 250 µm x 0,25 µm nominal. Gás Hélio foi utilizado como o gás carregador em modo Split, 50:1 através da coluna.

A injeção foi realizada em modo automático, utilizando uma seringa de volume total de 10 µL, acoplada ao equipamento. O volume de injeção do extrato foi de 1 µL. Antes de cada

injeção, o equipamento limpava a seringa através de três injeções e descarte de amostras de hexano e extrato.

O forno interno do equipamento foi programado para iniciar em 70 °C, objetivando toda a evaporação do solvente durante 3 minutos. Em seguida, a temperatura foi aumentada à taxa de 10 °C/min até atingir 270 °C. O tempo total da corrida foi de 28 minutos.

Figura 3.6 – Cromatógrafo a gás acoplado com espectrômetro de massas.



O espilantol foi identificado através do seu espectro de massas e da biblioteca do software NIST. Os resultados foram quantificados e expressos em g /100g, a partir da curva padrão obtida para o espilantol com concentrações de 1 mg/mL, 0,5 mg/mL, 0,25 mg/mL, 0,1 mg/mL e 0,05 mg/mL (item 3.2.4).

3.5 CROMATOGRAFIA EM CAMADA DELGADA

A obtenção do espilantol sólido para a quantificação em massa (g /100g) para os experimentos do planejamento (FCCCD) foi realizada utilizando a técnica de cromatografia em camada delgada, baseada em metodologia encontrada na literatura (Dias et al., 2012; Costa et al., 2013a).

O composto foi removido a partir do processo de extração do óleo essencial das flores de jambu, assistido por micro-ondas (Capítulo 3, item 3.3.2). Esse procedimento não é o usual para a obtenção da amida, mas foi utilizado com o intuito de criar novas alternativas que sejam predominantemente mais rápidas e eficientes para a identificação do espilantol.

Dessa maneira, as condições de processo (50 °C e 30 minutos) para a posterior obtenção do composto sólido, foram estabelecidas a partir dos resultados preliminares em porcentagem de área dos componentes químicos encontrados através de cromatografia gasosa para o planejamento experimental (FCCCD, Capítulo 3, Tabela 3.2).

Após a preparação do extrato (Capítulo 3, item 3.3.2), o material foi armazenado em frasco âmbar e mantido sob temperatura constante em câmara frigorífica (-5 °C) até seu uso para purificação e quantificação.

O material filtrado foi concentrado utilizando um evaporador (rotavapor, Büchi, R-205, USA) conectado a um banho de aquecimento (Büchi, B-490, USA) a 40 °C e 55 rpm sob pressão reduzida, coletado com micropipetas (Corning, Pyrex[®] 100 microliters – Cat. n. 7099S-100, USA) e gotejado em placas limpas de sílica gel próprias para experimentos de camada delgada (Analtech, Uniplate[™] - Cat. n. 02015, USA) medindo 20 x 20 cm.

O material foi disposto cuidadosamente na placa em linha a 2 cm da base, em seguida, submetido a um tanque de vidro com 200 mL de hexano e acetato de etila na proporção 2:1 (v/v), de forma que o nível de solvente se mantivesse abaixo da linha da amostra. O sistema foi devidamente fechado para evitar perda do solvente por evaporação e mantido sem perturbação por 3 horas. Finalmente, a placa foi retirada e seca em temperatura ambiente. Luz UV de 265 nm foi utilizada para a observação das bandas.

O espilantol foi identificado pela banda de índice $R_f = 0,5$ (Eq. 3.7), removido com sílica, submetido à agitação magnética com 95 % (v/v) de etanol e filtrado duas vezes para a completa separação do sólido.

$$R_f = \frac{l_{amostra}}{l_{solvente}} \quad \text{Eq. 3.7}$$

Onde: $l_{amostra}$ é a distância percorrida pela amostra na placa e $l_{solvente}$ é a distância total percorrida pelo solvente na placa.

A solução clara e verde foi submetida à completa evaporação e o sólido seco foi pesado e solubilizado novamente em hexano e etanol (7:3) para concentrações de soluções conhecidas: 1 mg/mL, 0,5 mg/mL, 0,25 mg/mL, 0,1 mg/mL e 0,05 mg/mL.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados experimentais das propriedades dielétricas, calibração do forno e planejamento experimental, bem como a análise dos dados são apresentados neste capítulo e contextualizados à literatura já existente sobre o assunto.

4.1 PROPRIEDADES DIELÉTRICAS

Conforme já explicado no Capítulo 2, item 2.3.2, a constante dielétrica e o fator de perda dielétrico são as propriedades do material que governam o seu comportamento quando submetidos a radiação, e portanto, proporcionam informações importantes para o desenvolvimento de novos equipamentos de micro-ondas, tais como, aplicadores, potência de absorção e reflexão, processos, etc. Os resultados a seguir, retratam os resultados experimentais obtidos para os sistemas constituídos por solvente + amostra sólida (flores, folhas ou caules de jambu) e somente solvente.

O conteúdo de umidade do material sólido foi determinado anteriormente ao experimento, conforme descrito no Capítulo 3, item 3.2.1. A umidade da amostra foi de $14,9 \pm 0,2$ % b.u., $7,3 \pm 0,2$ % b.u. e $7,2 \pm 0,3$ % b.u. para flores, folhas e caules, respectivamente.

4.1.1 Propriedades dielétricas da água

A calibração do equipamento com água foi realizada para verificar a precisão dos resultados. A Figura 4.1 mostra os resultados da constante dielétrica e do fator de perda dielétrico obtidos para a água a 20 °C. As triplicatas foram reprodutíveis e apresentaram um desvio médio entre 0,2 e 0,5 e 0,02 e 0,3 para a constante dielétrica e fator de perda, respectivamente. Os resultados da Tabela 4.1 estão em concordância com aqueles reportados pela literatura e o desvio médio, entre a média das medidas experimentais e os dados da literatura, foi entre 0 – 1,2 e 0,25 – 1,75, para a constante dielétrica e fator de perda, respectivamente.

Figura 4.1 – Propriedades dielétricas em função da frequência para água a 20°C.

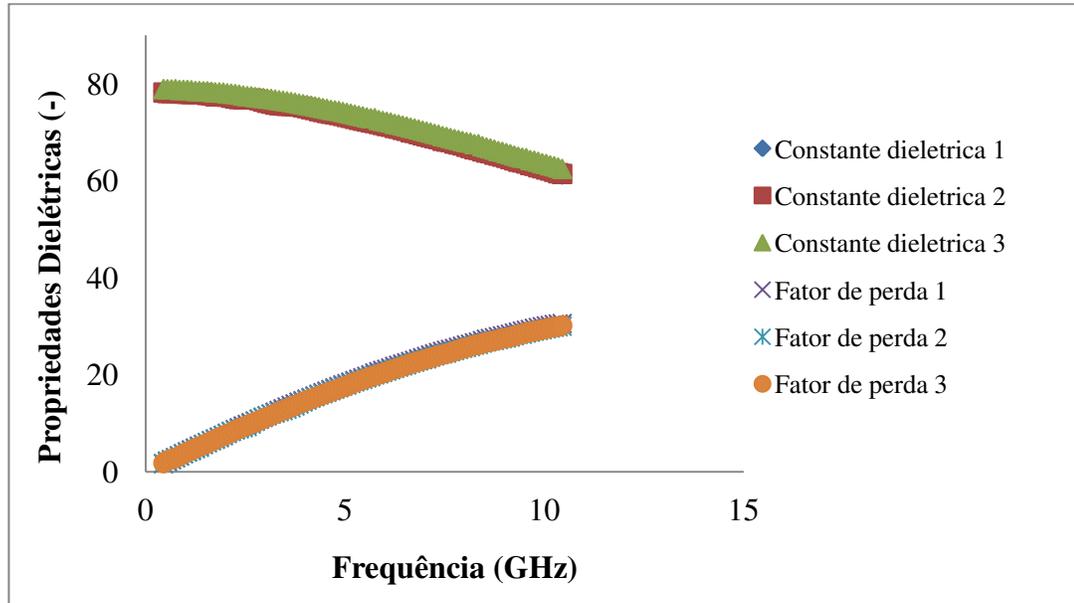


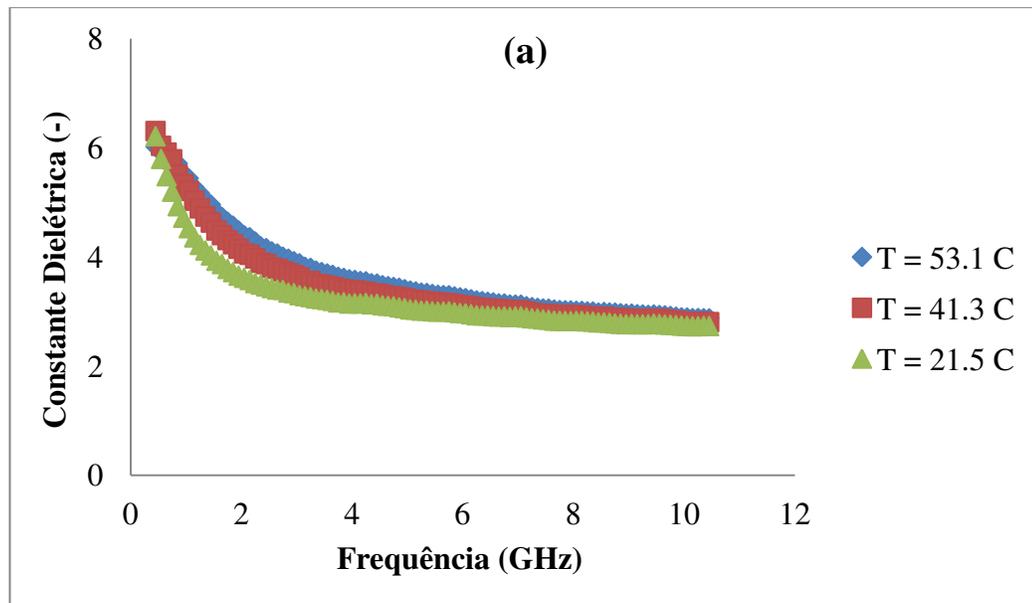
Tabela 4.1 – Resultados médios experimentais e teóricos para a água a 20°C.

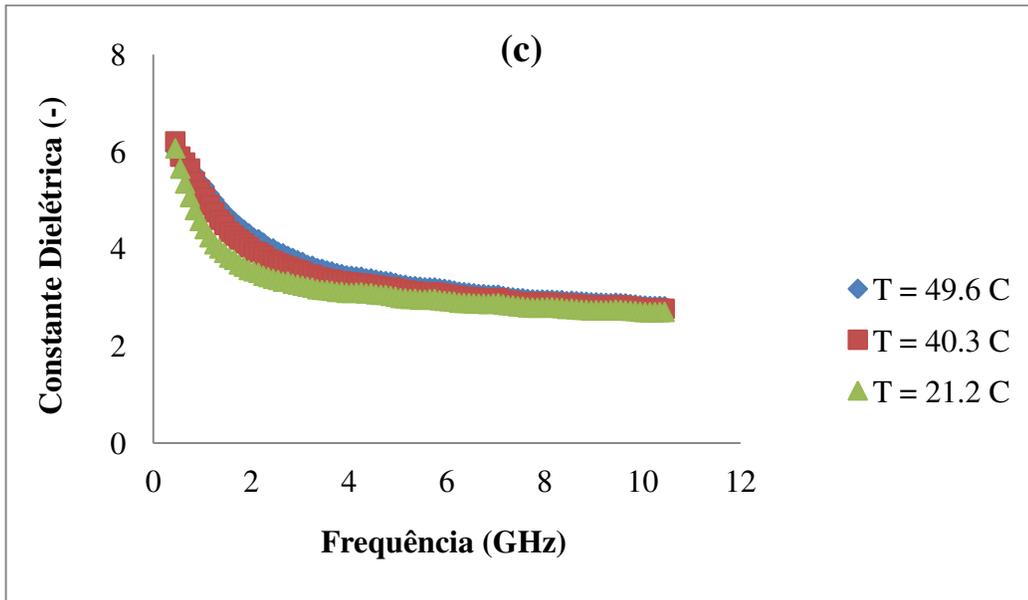
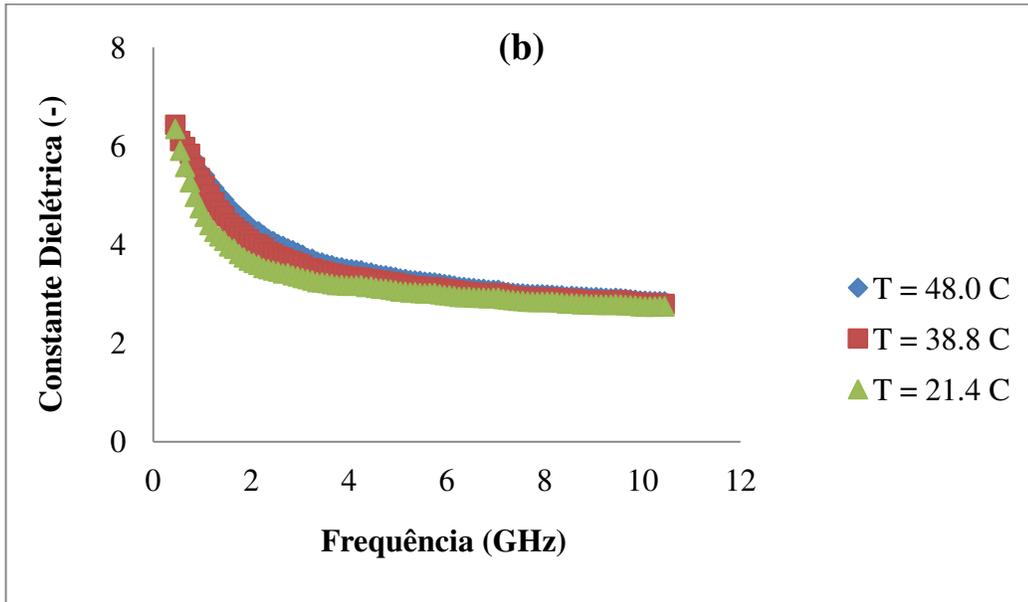
Frequência, GHz	Propriedades Dielétricas (resultados médios)				Desvio médio em relação à literatura	
	ϵ'	ϵ' (Literatura)	ϵ''	ϵ'' (Literatura)	Desvio (ϵ')	Desvio (ϵ'')
0,65	78,5	80,3	2,5	3,0	0,9	0,3
2,45	77,2	78,2	9,3	10,8	0,5	0,8
3,05	76,5	77,3	11,5	13,2	0,4	0,9
4,65	74,1	73,9	16,7	19,0	0,1	1,0
7,15	69,1	69,1	23,7	26,9	0	2,0
9,15	64,8	63,0	28	31,5	0,9	2,0
10,45	61,7	59,3	30,3	33,1	1,2	1,0

4.1.2 Efeito da frequência nas propriedades dielétricas

As propriedades dielétricas foram determinadas para quatro tipos de sistemas: solvente + flores, solvente + folhas, solvente + caules e somente solvente. A Figura 4.2 e a Figura 4.3 mostram o comportamento das propriedades dielétricas das misturas e do solvente – hexano e etanol 7:3 (v/v) –, respectivamente, em função da frequência (0,45 GHz a 10,45 GHz) para as temperaturas na faixa teórica de 20 °C a 60 °C. Devido às dificuldades de controle de temperatura durante o experimento, os resultados sofreram variação, resultando em valores aproximados, tais como, 21,5 °C, 41,3 °C e 53,1 °C para as flores, 21,4 °C, 38,8 °C e 48 °C para as folhas, 21,2 °C, 40,3 °C e 49,6 °C para os caules e 21,9 °C, 42,6 °C e 60,7 °C para os sistemas com apenas o solvente.

Figura 4.2 – Constante dielétrica em função da frequência; (a) solvente + flores, (b) solvente + folhas, (c) solvente + caules, (d) solvente.





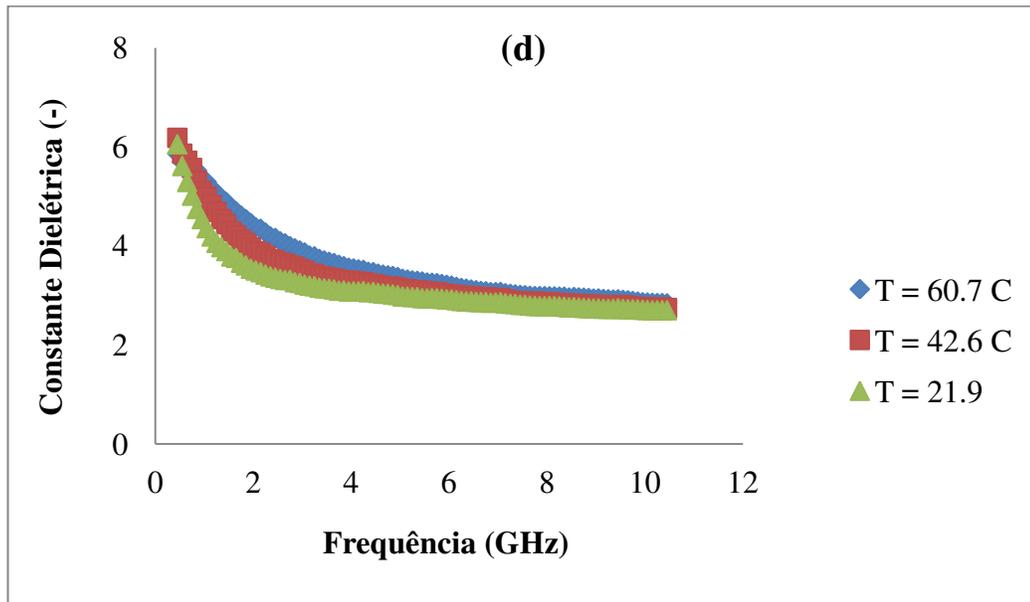
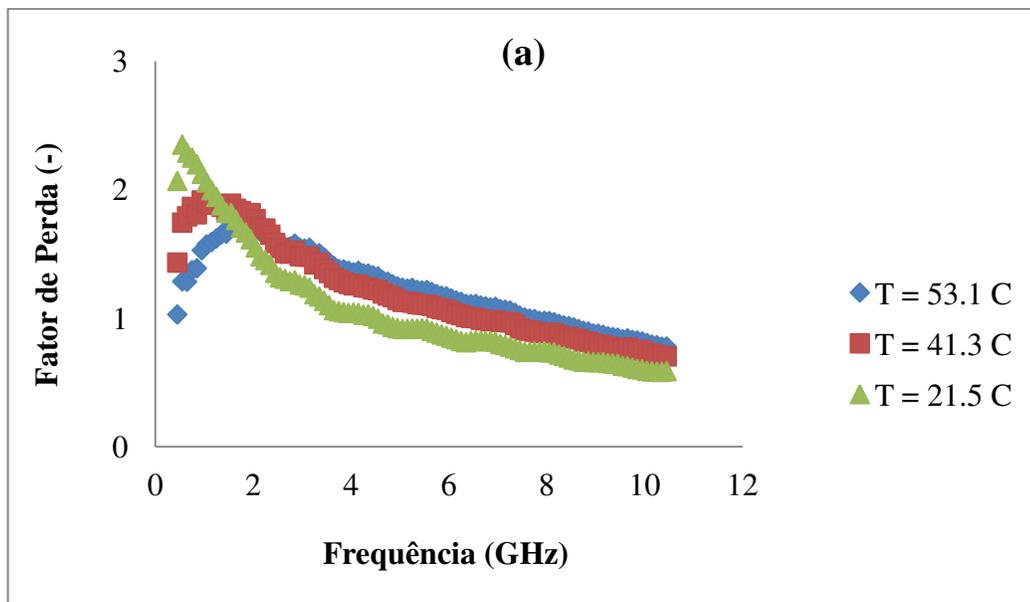
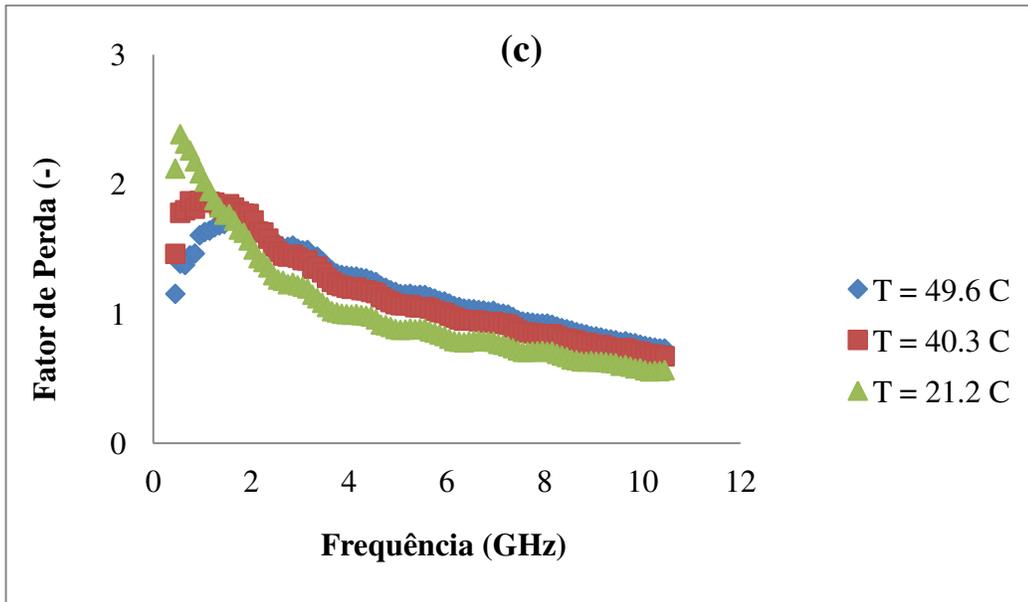
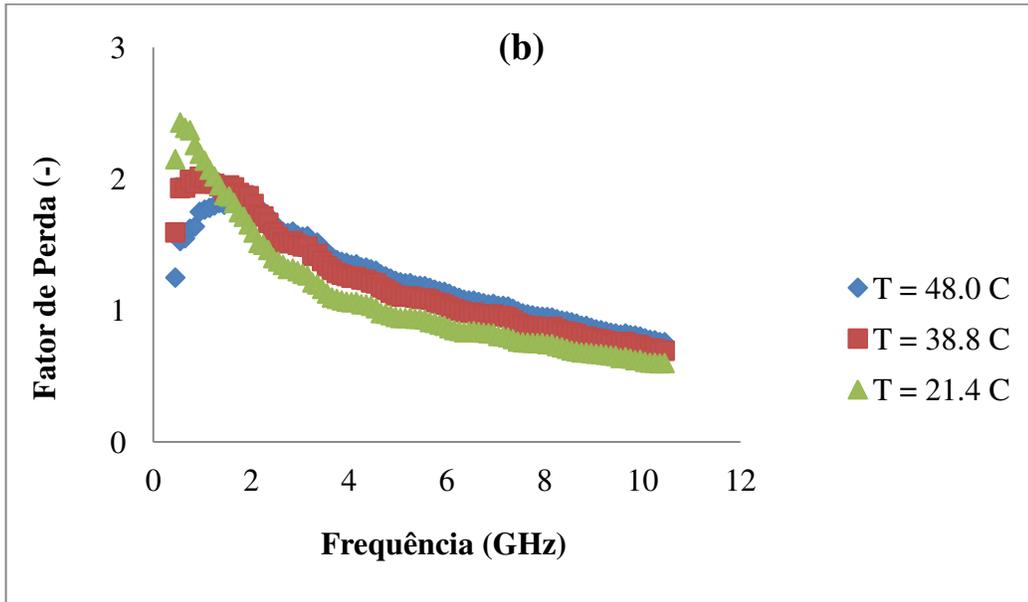
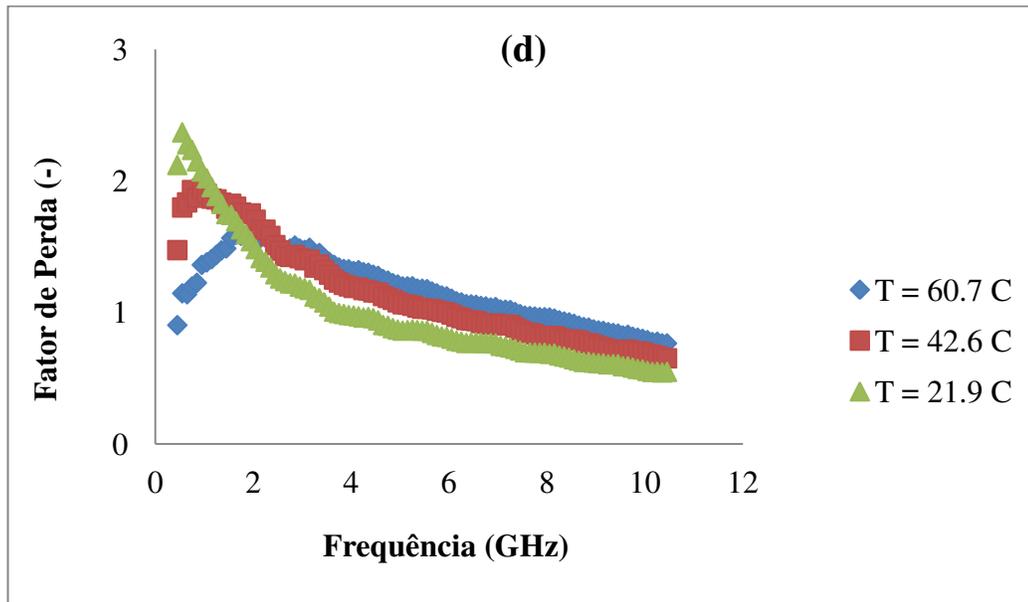


Figura 4.3 – Fator de perda dielétrico em função da frequência; (a) solvente + flores, (b) solvente + folhas, (c) solvente + caules, (d) solvente.







A constante dielétrica para as flores variou de 6,21 a 2,73 em 21,5 °C, 6,31 a 2,81 em 41,3 °C e 6,02 a 2,87 em 53,1 °C; para as folhas, a propriedade variou de 6,34 a 2,75 em 21,4 °C, 6,43 a 2,79 em 38,8 °C e 6,32 a 2,85 em 48 °C; para os caules, de 6,07 a 2,70 em 21,2 °C, 6,21 a 2,76 em 40,3 °C e 6,02 a 2,82 em 49,6 °C; e para o sistema com apenas solvente, variou de 6,05 a 2,70 em 21,9 °C, 6,18 a 2,75 em 42,6 °C e 5,86 a 2,84 em 60,7 °C, respectivamente, no intervalo de frequência considerado (0,45 GHz a 10,45 GHz).

Os valores para a constante dielétrica foram da mesma ordem de grandeza para todos os casos estudados, destacando que nenhum tipo de material sólido alterou a quantificação da propriedade em questão para a faixa de frequência considerada. Esses resultados indicam que o procedimento utilizado na calibração do forno (Capítulo 3, item 3.3.1) é, também, apropriado para o processo de extração, visto que a adição de material sólido não interfere no sistema.

A constante dielétrica foi decrescente com o aumento da frequência na faixa considerada. O perfil de comportamento dessa propriedade foi bastante semelhante com dados encontrados na literatura (Terigar et al., 2010).

Terigar et al. (2010), relataram a determinação das propriedades dielétricas para sistemas preparados com amostras sólidas de farinha de soja ou farelo de arroz com os solventes, etanol ou hexano em diferentes razões amostra/solvente (1:0,5; 1:1; 1:2 massa/massa) na faixa de

frequência de 0,3 e 3 GHz. Os autores observaram que a constante dielétrica diminuiu com o aumento da frequência para todas as amostras, sendo que, quando o hexano puro foi utilizado como solvente, esse parâmetro foi aumentado até um valor máximo (3,5 – 5,5) em 1,5 GHz e, então, diminuiu com a frequência.

O perfil gráfico (decrecente) da constante dielétrica em função da frequência dos sistemas com hexano e etanol 7:3 (v/v) deste trabalho foi bastante similar ao obtido por Terigar et al. (2010) para os sistemas sólidos (farinha de soja ou farelo de arroz) com etanol puro na razão 1:0,5; 1:1; 1:2 massa/massa, respectivamente. No entanto, o intervalo numérico de medida dessa propriedade foi equivalente ao obtido pelos mesmos autores, mas utilizando misturas de amostras sólidas e hexano puro ($2 < \epsilon' < 6$; $0,3 < \text{frequência} < 3 \text{ GHz}$) em 23 °C.

Esse comportamento pode ser devido a proporção do solvente 7:3 (v/v) de hexano para etanol, que se refletiu nos resultados experimentais, onde as características dielétricas do composto apolar foram predominantes (Capítulo 2, Tabela 2.4).

O fator de perda dielétrico apresentou valores na faixa de 2,07 a 0,59 em 21,5 °C; 1,43 a 0,70 em 41,3°C e 1,03 a 0,78 em 53,1 °C para as flores, 2,15 a 0,60 em 21,43 °C, 1,59 a 0,69 em 38,80 °C, e 1,25 a 0,76 em 48,0 °C para as folhas, e 2,12 a 0,56 em 21,2 °C, 1,46 a 0,67 em 40,3°C e 1,15 a 0,73 em 49,6 °C para os caules e 2,12 a 0,55 em 21,9 °C, 1,47 a 0,65 em 42,6 °C e 0,90 a 0,76 em 60,7 °C, usando o intervalo de frequência de 0,45 a 10,45 GHz.

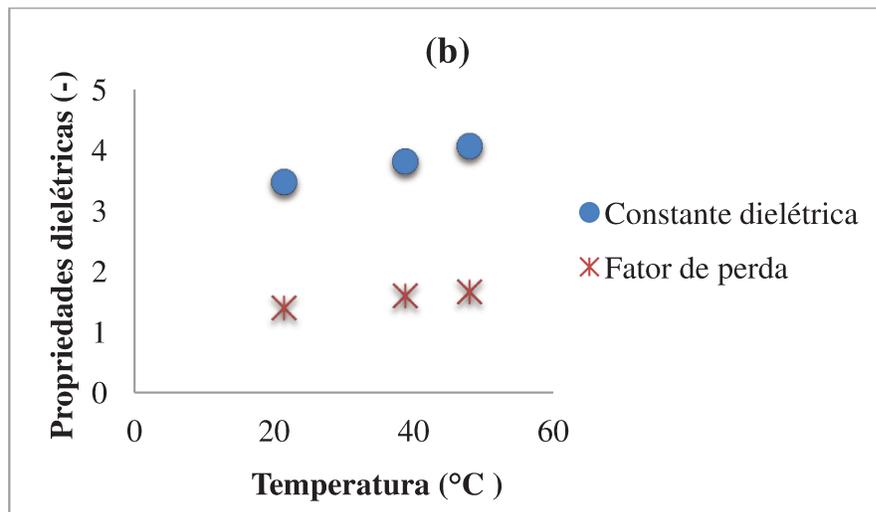
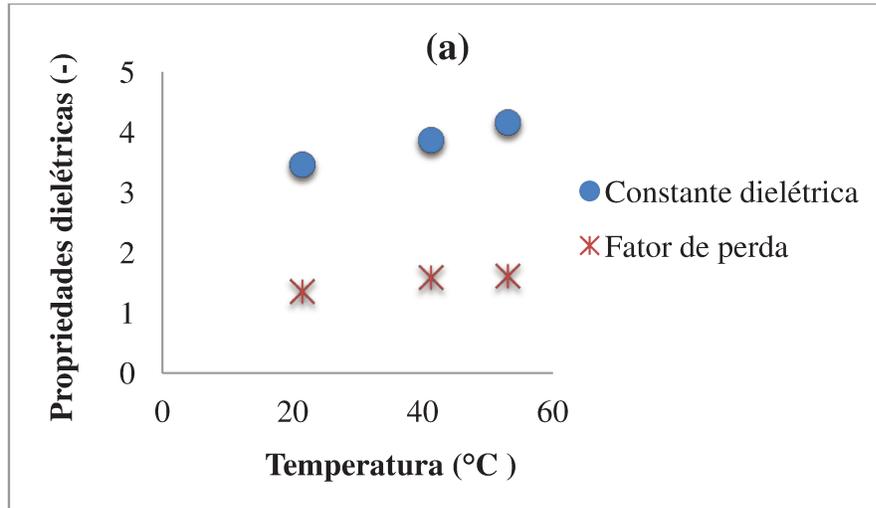
Essa propriedade dielétrica aumentou quando a frequência foi aumentada na faixa de 0,45 a 1,95 GHz. A partir de 2,05 GHz, o comportamento desse parâmetro se modificou e tornou-se decrescente com o aumento da frequência para todos os sistemas preparados na faixa de temperatura considerada (20 °C a 60 °C).

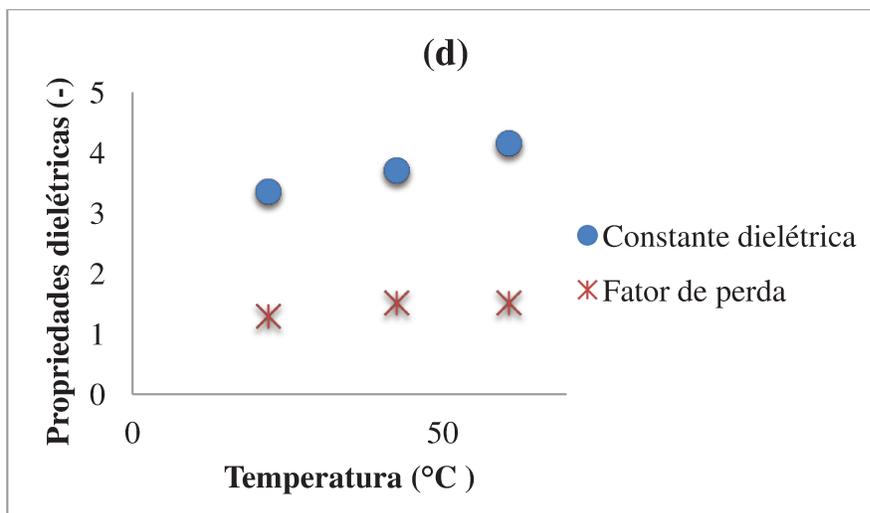
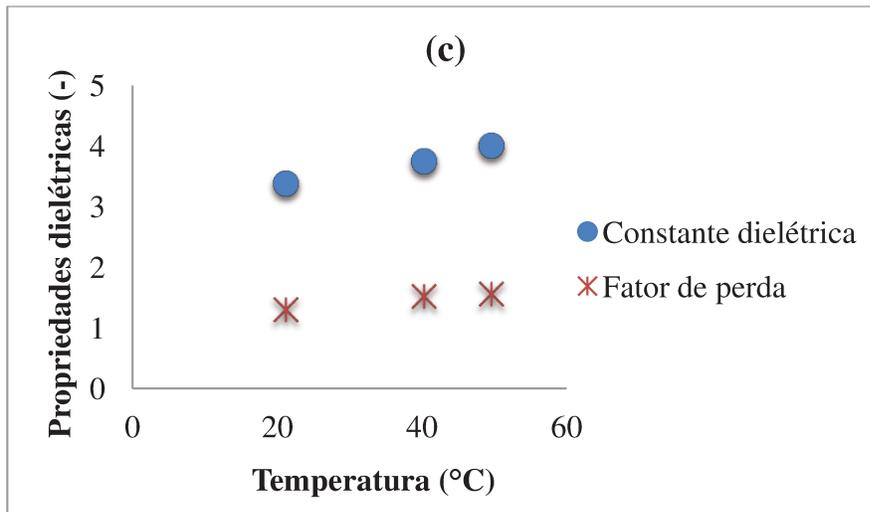
Assim como para a constante dielétrica, o fator de perda para os sistemas refletiu a predominância das características dielétricas do hexano, ou seja, suas características dielétricas influenciaram fortemente na baixa conversão de energia de micro-ondas em calor. No entanto, a existência do etanol na composição do solvente, mesmo que em pequena proporção, direcionou os resultados para valores um pouco mais expressivos. Terigar et al. (2010) reportou resultados para o fator de perda entre 0 e 0,5 para os sistemas de farinha de soja ou farelo de arroz na presença de hexano puro, na razão sólido/solvente de 1:0,5, 1:1 e 1:2 (massa/massa), respectivamente, para a faixa de frequência de 0,3 e 3 GHz.

4.1.3 Efeito da temperatura nas propriedades dielétricas a 2,45 GHz

O efeito da temperatura na constante dielétrica e fator de perda para os sistemas flores + solvente, folhas + solvente, caules + solvente e solvente a 2,45 GHz de frequência são apresentados na Figura 4.4. Essa frequência foi escolhida, por ser a mais comum entre o intervalo permitido para uso industrial e/ou científico (Capítulo 2, item 2.3.1 e 2.3.2) e é bastante utilizada em processamento de alimentos (Ahmed et al., 2007a).

Figura 4.4 – Propriedades dielétricas em função da temperatura; (a) flores + solvente, (b) folhas + solvente, (c) caules + solvente, (d) solvente.





A constante dielétrica média ($\bar{\epsilon}'$), o fator de perda médio ($\bar{\epsilon}''$) e seus respectivos desvios médios obtidos para os sistemas solvente + flores, solvente + folhas, solvente + caules e somente solvente, considerando uma frequência de 2,45 GHz, são apresentados na Tabela 4.2.

Observa-se pela Figura 4.4 e Tabela 4.2 que os resultados para as propriedades dielétricas pouco variaram entre um sistema composto por apenas solvente e outro formado por solvente + amostra sólida. Considerando uma faixa de temperatura de 20 °C a 60 °C, a faixa de valores para a constante dielétrica foi de $3,36 \pm 0,02$ a $4,16 \pm 0,06$ e para o fator de perda foi de $1,29 \pm 0,02$ a $1,66 \pm 0,13$, considerando todos os tipos de sistemas.

Isso indica que, o acréscimo do material sólido nas amostras não interferiram significativamente nos resultados, evidenciando uma predominância das características dielétricas do solvente sobre o comportamento do sistema na frequência e faixa de temperatura consideradas. Em função dessa pequena variação das propriedades dielétricas, considerou-se, para fins práticos, que os resultados obtidos no procedimento da calibração do forno (Capítulo 3, item 3.3.1 e Capítulo 4, item 4.2), onde apenas a mistura de hexano e etanol (7:3 v/v) foi utilizada, seriam equivalentes ao comportamento do sistema sólido-líquido dentro do reator durante o processo de extração do espilantol a partir de flores, folhas e caules de jambu.

Tabela 4.2 – Propriedades dielétricas para as flores + solvente, folhas + solvente, caules + solvente e solvente.

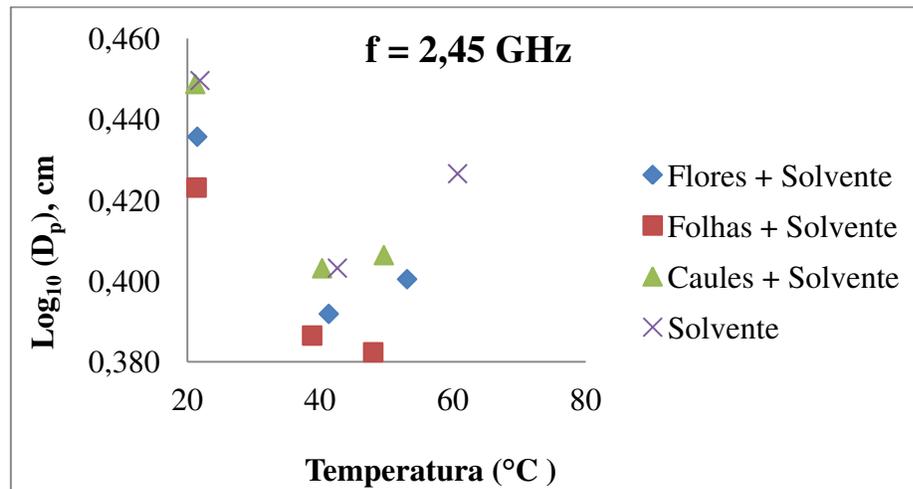
Frequência 2,45 GHz			
Sistema	Temperatura (°C)	$\bar{\epsilon}'$	$\bar{\epsilon}''$
Flores + Solvente	21,5	3,46 ± 0,02	1,35 ± 0,03
	41,3	3,87 ± 0,02	1,58 ± 0,03
	53,1	4,16 ± 0,03	1,61 ± 0,02
Folhas + Solvente	21,4	3,48 ± 0,10	1,40 ± 0,10
	38,8	3,81 ± 0,13	1,59 ± 0,11
	48,0	4,07 ± 0,19	1,66 ± 0,13
Caules + Solvente	21,2	3,38 ± 0,01	1,30 ± 0,02
	40,3	3,75 ± 0,03	1,52 ± 0,03
	49,6	4,01 ± 0,02	1,56 ± 0,03
Solvente	21,9	3,36 ± 0,02	1,29 ± 0,02
	42,6	3,71 ± 0,03	1,51 ± 0,03
	60,7	4,16 ± 0,06	1,51 ± 0,05

4.1.4 Profundidade de penetração das micro-ondas (D_p)

A profundidade de penetração das micro-ondas no material (D_p) foi calculada para todos os sistemas: flores + solvente, folhas + solvente, caules + solvente e somente solvente, utilizando a Eq. 2.6, descrita na seção 2.3.2 do Capítulo 2. Esse parâmetro é importante para a

caracterização do aquecimento de micro-ondas e torna-se bastante útil para trabalhos futuros relacionados à planta. O efeito da temperatura na profundidade de penetração das micro-ondas a 2,45 GHz é apresentado na Figura 4.5. Os resultados mostram uma variação do parâmetro bastante pequena, em relação ao tipo de sistema utilizado.

Figura 4.5 – Profundidade de penetração para os sistemas flores + solvente, folhas + solvente, caules + solvente e solvente a 2,45 GHz.



A Tabela 4.3 apresenta os resultados para a profundidade de penetração das micro-ondas em função da temperatura e do sistema adotado.

De maneira geral, a profundidade de penetração foi equivalente para todos os sistemas e sem variações significativas para o intervalo de temperatura de $21,5 \pm 0,2$ °C a $52,9 \pm 4,1$ °C e frequência de 2,45 GHz. Esses resultados eram esperados, já que os valores para as propriedades dielétricas nessa mesma frequência e faixa de temperatura foram praticamente os mesmos (Tabela 4.2). Além disso, através de análise matemática da Eq. 2.6 (Capítulo 2, item 2.3.2), observa-se que D_p é influenciado pela constante dielétrica e pelo fator de perda, e portanto, seu comportamento será governado pelas tendências dessas propriedades.

Ou seja, assim como nos resultados das propriedades dielétricas, a profundidade de penetração dos sistemas sólido-líquido foi similar aos resultados obtidos apenas para o solvente (hexano e etanol 7:3 v/v), refletindo a pouca influência do material sólido na composição e comportamento dos sistemas.

Tabela 4.3 – Resultados para a profundidade de penetração em função da temperatura a 2,45 GHz.

Frequência 2,45 GHz			
Sistema	Temperatura (°C)	D _p (cm)	Log ₁₀ (D _p)
Flores + Solvente	21,5	2,73	0,436
	41,3	2,47	0,392
	53,1	2,51	0,400
Folhas + Solvente	21,4	2,65	0,423
	38,8	2,44	0,386
	48,0	2,41	0,382
Caules + Solvente	21,2	2,81	0,449
	40,3	2,53	0,403
	49,6	2,55	0,406
Solvente	21,9	2,82	0,450
	42,6	2,53	0,403
	60,7	2,67	0,427

Esses valores apresentados na Tabela 4.3 para os sistemas com as flores, folhas e caules de jambu e solvente também estão dentro de faixas encontradas na literatura, mas utilizando outros tipos de sistemas. Sharma e Prasad (2002) reportaram profundidades de penetração de micro-ondas de 1,69 cm a 9 cm, no estudo da influência da temperatura na profundidade de penetração de micro-ondas (D_p), utilizando apenas amostras de alho (*Allium sativum* L.) como matéria-prima submetida a frequência de 2,45 GHz. Os autores observaram que para um dado conteúdo de umidade (0,06 g H₂O/g matéria seca – 1,85 g H₂O/g matéria seca), D_p aumentou com a temperatura (35 °C a 75 °C). No entanto, esse aumento não foi considerado estatisticamente significativo pela análise ANOVA.

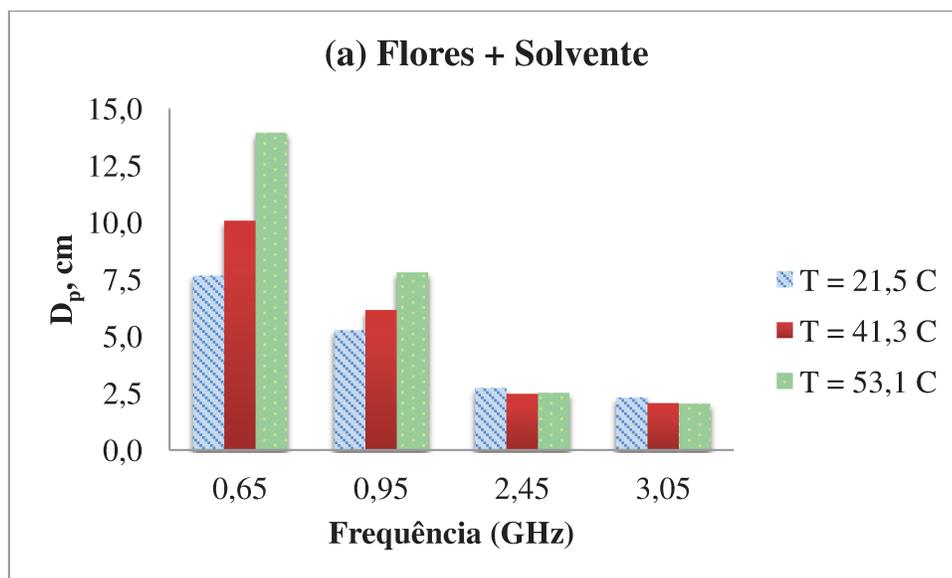
Ahmed et al. (2007a) determinaram a profundidade de penetração de micro-ondas para manteigas com e sem sal disponíveis comercialmente. Os autores reportaram que não houve nenhuma tendência generalizada entre D_p e a temperatura para os experimentos realizados com as manteigas derretidas. No entanto, como esperado, houve uma diminuição de valor (6 a 2 cm para manteiga sem sal e 1,5 a 0 cm para manteiga com sal) no parâmetro quando a frequência foi

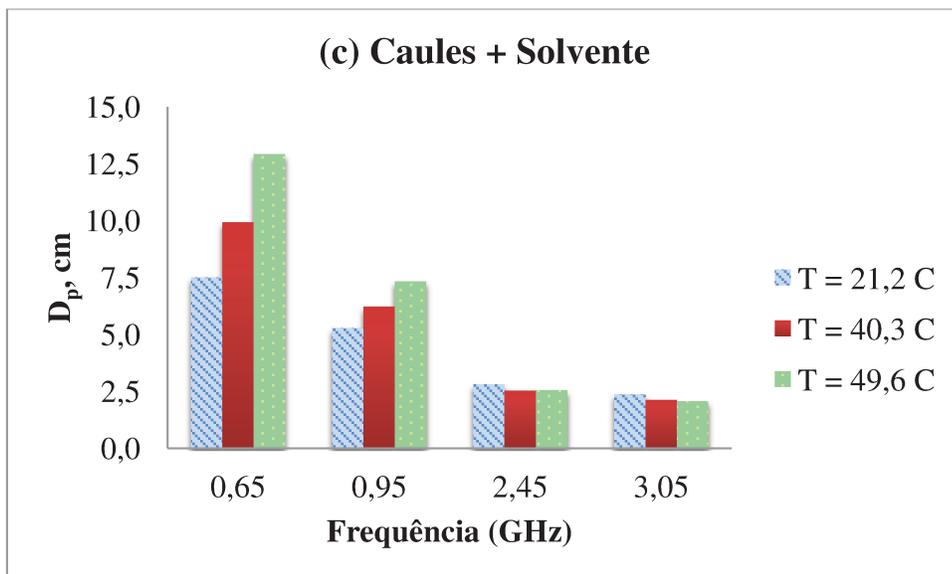
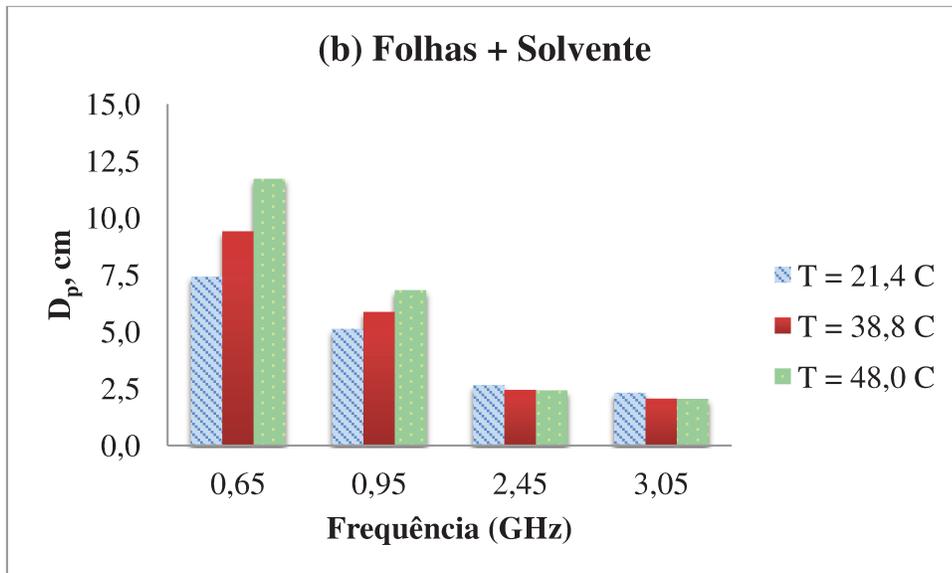
aumentada (0,915 GHz – 2,45 GHz). O comportamento de D_p foi bastante peculiar para a manteiga sem sal em 0,915 GHz: apresentou uma variação estatisticamente significativa para o intervalo de temperatura de 50 °C a 70 °C, variando de 4,5 a 6,5 cm, mas posteriormente, diminuiu (7 a 6 cm) para temperaturas maiores (70 °C a 80 °C).

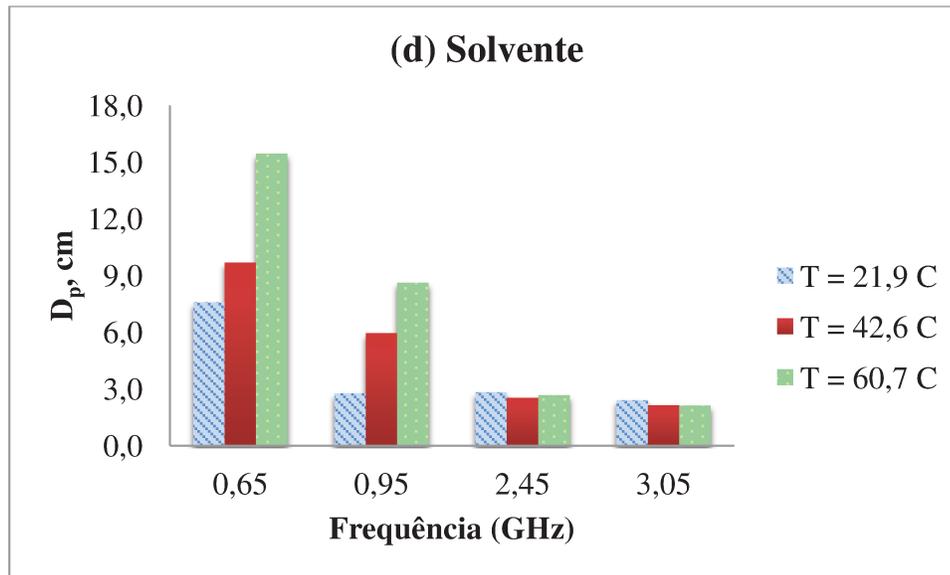
É importante lembrar que a relação de dependência entre a profundidade de penetração e a temperatura é bastante complexa, devido às interações iônicas e perdas dielétricas e, por isso, em alguns casos na literatura não são observadas tendências generalizadas (Ahmed et al., 2007a; Ahmed et al., 2007b; Guo et al., 2011).

Como esperado, o comportamento de D_p foi decrescente com a variação da frequência na faixa analisada (0,65 – 3,05 GHz) para todos as temperaturas consideradas dos sistemas sólido-líquido. Os valores do parâmetro foram maiores em 0,65 GHz quando comparados a 3,05 GHz, confirmando a relação inversamente proporcional com a frequência, conforme Eq. 2.6 (Capítulo 2, item 2.3.2). Já para o sistema com apenas solvente, o parâmetro foi decrescente até 0,95 GHz, teve um suave aumento em 2,45 GHz e, em seguida, diminuiu com o aumento da frequência na temperatura de 21,5 GHz. A Figura 4.6 ilustra a influência do parâmetro na profundidade de penetração das micro-ondas.

Figura 4.6 – D_p em função da frequência; (a) flores + solvente, (b) folhas + solvente, (c) caules + solvente e (d) solvente.







As Tabelas 4.3 (2,45 GHz) e 4.4 (0,65 a 3,05 GHz) apresentam os resultados para a profundidade de penetração para a faixa de frequência considerada. A distância do alcance das micro-ondas para os sistemas flores + solvente, folhas + solvente e caules + solvente, tanto em 0,65 GHz quanto em 0,95 GHz foi aumentada entre 20 °C e 50 °C. Já para frequências maiores, acima de 2,45 GHz, D_p diminuiu suavemente com o aumento da temperatura na frequência considerada. O sistema com apenas solvente apresentou um aumento em D_p (7,57 a 15,44 cm) na faixa de 0,65 GHz a 0,95 GHz quando a temperatura aumentou de 20 °C e 50 °C. Em 2,45 GHz, o parâmetro apresentou uma característica peculiar, diminuiu (2,82 cm para 2,53 cm) quando a temperatura aumentou de 20 °C para 45 °C e depois aumentou (2,53 cm para 2,67 cm) até atingir 60 °C. Em frequências acima de 2,45 GHz, D_p diminuiu suavemente quando a temperatura foi aumentada. Variações no comportamento de D_p em relação à temperatura e frequência já eram esperados, devido à influência desses dois últimos fatores nas propriedades dielétricas.

Tabela 4.4 – Variação da profundidade de penetração (D_p) em função da frequência.

Sistema	T (°C)	D_p , cm		
		0,65 GHz	0,95 GHz	3,05 GHz
Flores + Solvente	21,5	7,67	5,26	2,30
	41,3	10,07	6,15	2,05
	53,1	13,95	7,80	2,04
Folhas + Solvente	21,4	7,42	5,12	2,30
	38,8	9,40	5,86	2,05
	48,0	11,71	6,82	2,04
Caules + Solvente	21,2	7,50	5,28	2,37
	40,3	9,93	6,23	2,12
	49,6	12,92	7,33	2,07
Solvente	21,9	7,57	2,76	2,41
	42,6	9,68	5,95	2,14
	60,7	15,44	8,62	2,12

4.2 RESULTADOS DE CALIBRAÇÃO DO FORNO

Conforme exposto no item 3.3.1 do Capítulo 3, a calibração do forno foi uma fase trabalhosa e importante no processo, para garantir que a extração do óleo essencial do jambu ocorresse à temperatura constante. Os resultados e discussão do trabalho são apresentados seguindo a ordem das etapas do procedimento.

O objetivo da primeira etapa da calibração foi verificar as mudanças de temperatura causadas pela energia de micro-ondas em função do tempo. Esta parte do trabalho foi realizada utilizando 60 mL de solvente (hexano e etanol, 7:3 v/v) no reator e um termômetro digital. Os resultados são mostrados nas Tabelas 4.5, 4.6 e 4.7 e as Figuras 4.7, 4.8 e 4.9 mostram o comportamento da temperatura do solvente em função do tempo.

Tabela 4.5 – Calibração - primeira etapa, T = 40°C.

Teste 1		Teste 2		Teste 3		Análise estatística	
Tempo (s)	T (°C)	Tempo (s)	T (°C)	Tempo (s)	T (°C)	Média	Desvio médio
0	19,1	0	19,8	0	20,5	19,8	0,5
55	41,4	55	41,8	55	42,5	41,9	0,4
115	40,2	115	40,1	115	41,4	40,6	0,6
175	38,7	175	39,2	175	39,8	39,2	0,4
235	38,1	235	38,3	235	39,0	38,5	0,4
295	37,4	295	37,7	295	38,1	37,7	0,2
355	36,7	355	36,9	355	37,4	37,0	0,3
$Q_{solvente}$ (J)	2316,68		2301,94		2297,01	2305,21	7,65
Q_{reator} (J)	3965,00		3749,78		3805,22	3840,00	83,34
Q_{total} (J)	6281,68		6051,72		6102,23	6145,21	90,98
P (J/s)	114,21		110,03		110,95	111,73	1,65

Figura 4.7 – Temperatura do solvente em função do tempo, $T_{objetivo} = 40^{\circ}\text{C}$.

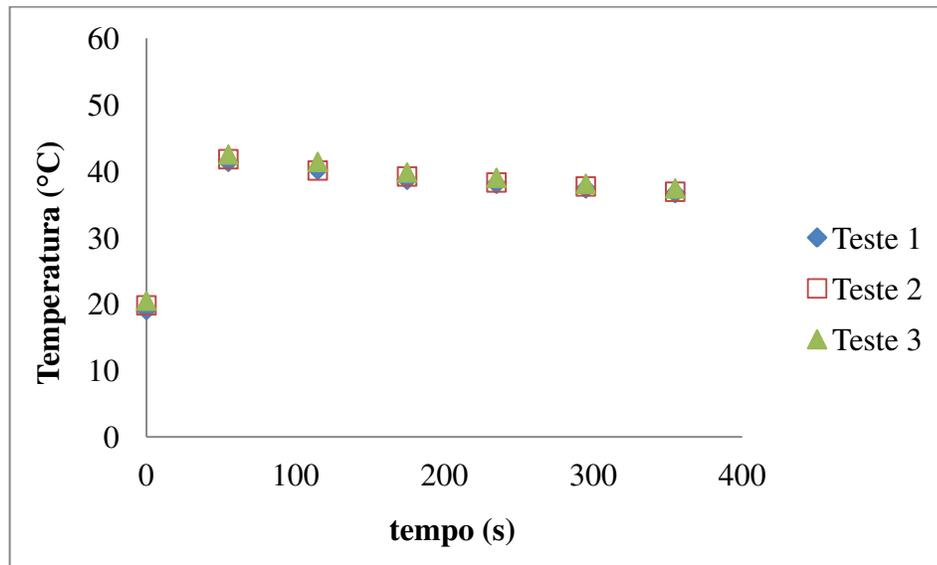


Tabela 4.6 – Calibração - primeira etapa, T = 50°C.

Teste 1		Teste 2		Teste 3		Análise estatística	
Tempo (s)	T (°C)	Tempo (s)	T (°C)	Tempo (s)	T (°C)	Média	Desvio médio
0	20,5	0	19,9	0	19,9	20,1	0,3
90	53,3	90	52,5	90	52,1	52,6	0,4
150	50,9	150	49,7	150	49,6	50,1	0,6
210	49,0	210	48,0	210	47,7	48,2	0,5
270	47,7	270	46,6	270	46,6	47,0	0,5
330	46,6	330	45,6	330	45,6	45,9	0,4
390	45,6	390	44,7	390	44,7	45,0	0,4
$Q_{solvente}$ (J)	3402,60		3419,17		3359,59	3393,78	22,80
Q_{reator} (J)	5831,11		5555,67		5569,45	5652,07	119,35
Q_{total} (J)	9233,70		8974,84		8929,04	9045,86	125,23
P (J/s)	102,60		99,72		99,21	100,51	1,39

Figura 4.8 – Temperatura do solvente em função do tempo, $T_{objetivo} = 50^{\circ}\text{C}$.

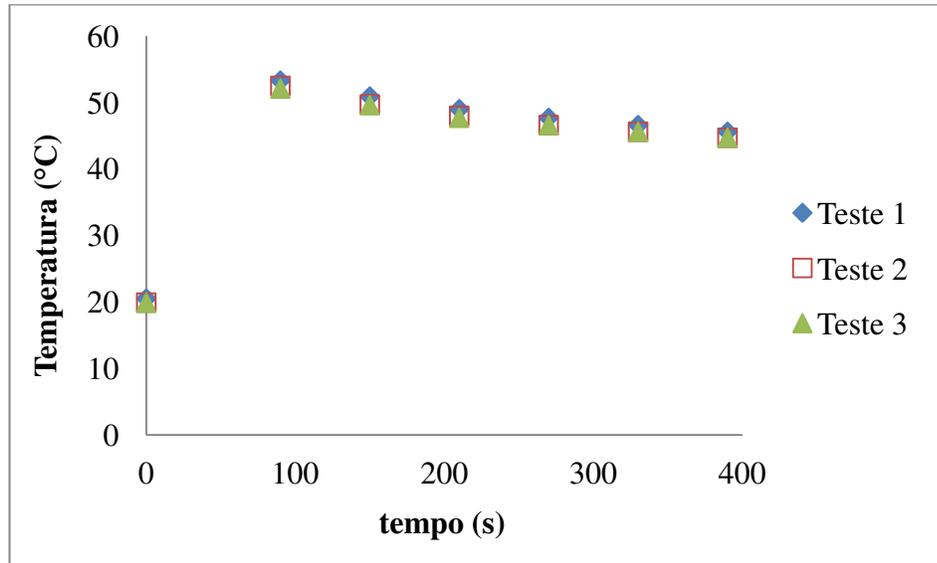
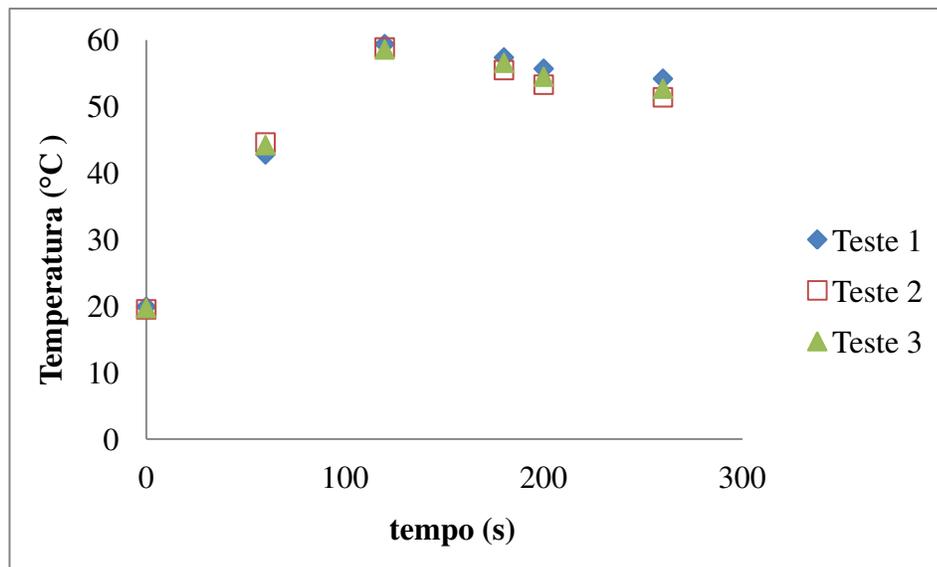


Tabela 4.7 – Calibração - primeira etapa, T = 60°C.

Teste 1		Teste 2		Teste 3		Análise estatística	
Tempo (s)	T (°C)	Tempo (s)	T (°C)	Tempo (s)	T (°C)	Média	Desvio médio
0	19,9	0	19,5	0	19,7	19,7	0,1
60	42,8	60	44,6	60	44,2	43,9	0,7
120	59,4	120	58,9	120	58,6	59,0	0,3
180	57,4	180	55,5	180	56,6	56,5	0,7
200	55,7	200	53,3	200	54,5	54,5	0,8
260	54,2	260	51,4	260	52,7	52,8	1,0
$Q_{solvente}$ (J)	4148,75		4050,97		4055,71	4085,14	42,40
Q_{reator} (J)	7034,16		6714,85		6729,62	6826,21	138,63
Q_{total} (J)	11182,91		10765,82		10785,34	10911,36	181,04
P (J/s)	93,19		89,72		89,88	90,93	1,51

Figura 4.9 – Temperatura do solvente em função do tempo, $T_{objetivo} = 60^{\circ}\text{C}$.



Os resultados apresentados nas Tabelas 4.5, 4.6 e 4.7 mostram o comportamento da temperatura em função do tempo no interior do reator. A temperatura experimental atingiu valores bem próximos às temperaturas objetivo de 40 °C (41,5, 41,8 e 42,5 °C), 50 °C (50,9, 49,7, 49,6 °C) e 60 °C (59,4, 58,9, 58,6 °C), após 55, 90 e 120 segundos de aplicação de micro-ondas e, com as medições feitas a partir do resfriamento do solvente, a temperatura diminuiu em 4,9 °C em 5 minutos (41,9 °C a 37 °C), 7,6 °C em 5 minutos (52,6 °C a 45 °C) e 6,2 °C em 3 minutos (59 °C a 52,8 °C), respectivamente.

As temperaturas médias iniciais e as temperaturas médias máximas do solvente foram $19,8 \pm 0,5$ °C; $20,1 \pm 0,3$ °C; $19,7 \pm 0,1$ °C e $41,9 \pm 0,4$ °C; $52,6 \pm 0,4$ °C; $59,0 \pm 0,3$ °C, respectivamente. As potências médias incidentes foram de $111,73 \pm 1,5$ J/s, $100,51 \pm 1,39$ J/s e $90,93 \pm 1,51$ J/s para 60 mL de solvente em 40 °C, 50 °C e 60 °C, respectivamente.

A potência incidente de micro-ondas apresentou medidas decrescentes com a temperatura, devido a diferentes intervalos de tempo utilizados durante o procedimento de aquecimento até a temperatura objetivo. No entanto, a quantidade de calor total foi crescente com a temperatura, como o esperado, alcançando valores de $6145,21 \pm 90,98$ J para $T = 40^\circ\text{C}$, $9045,86 \pm 125,23$ para $T = 50^\circ\text{C}$ e $10911,36 \pm 181,04$ para $T = 60^\circ\text{C}$.

O ajuste proposto e utilizado para determinar o tempo necessário para atingir a temperatura objetivo do forno (40 °C a 60 °C) a partir da temperatura ambiente do solvente foi a função racional, obtida pelo software Curve Expert, versão 1.4 através dos pontos experimentais da curva de 60 °C (19,7 °C a 59,0 °C).

A Tabela 4.10 mostra o tempo predito para o solvente desde a temperatura ambiente até alcançar a temperatura objetivo. A função racional, Eq. 4.1, que foi determinada pelo software Curve Expert, apresentou um coeficiente de correlação de 0,9988 e um erro padrão de 0,0728. Essa função é representada pelo quociente entre duas funções polinomiais de primeiro e segundo graus.

$$y = \frac{(a + bx)}{(1 + cx + dx^2)}$$

Eq. 4.1

Tabela 4.8 – Função racional e valores preditos.

Coeficientes			
a	b	c	d
$-3,9 \times 10^7$	2824852	3566988	-44055,9
x (°C)		y (min)	
20		0,33	
38		0,95	
40		1,03	
42		1,11	
45		1,24	
48		1,39	
50		1,50	
52		1,63	
55		1,85	
58		2,13	
60		2,36	
62		2,63	
65		3,17	

Quando a temperatura desejada predita (40 °C, 50 °C ou 60 °C) foi alcançada no equipamento, utilizando os resultados para o tempo obtidos pela Eq. 4.1, o tempo necessário para manter a temperatura constante foi predito utilizando a Eq. 4.2, considerando um desvio médio de ± 2 °C como oscilação de temperatura aceitável. Essa variação foi considerada o máximo permitido para se trabalhar, devido a ser um desvio comum em sensores de temperatura disponíveis comercialmente.

Assim, o tempo foi predito utilizando um modelo linear (Eq. 4.2), focalizando na oscilação da temperatura desejada. A Tabela 4.9 mostra os resultados preditos para o modelo linear ajustado, utilizando $38^{\circ}\text{C} \leq x \leq 42^{\circ}\text{C}$, $48^{\circ}\text{C} \leq x \leq 52^{\circ}\text{C}$ e $58^{\circ}\text{C} \leq x \leq 62^{\circ}\text{C}$ como condição de flutuação de temperatura.

$$y = ex + f$$

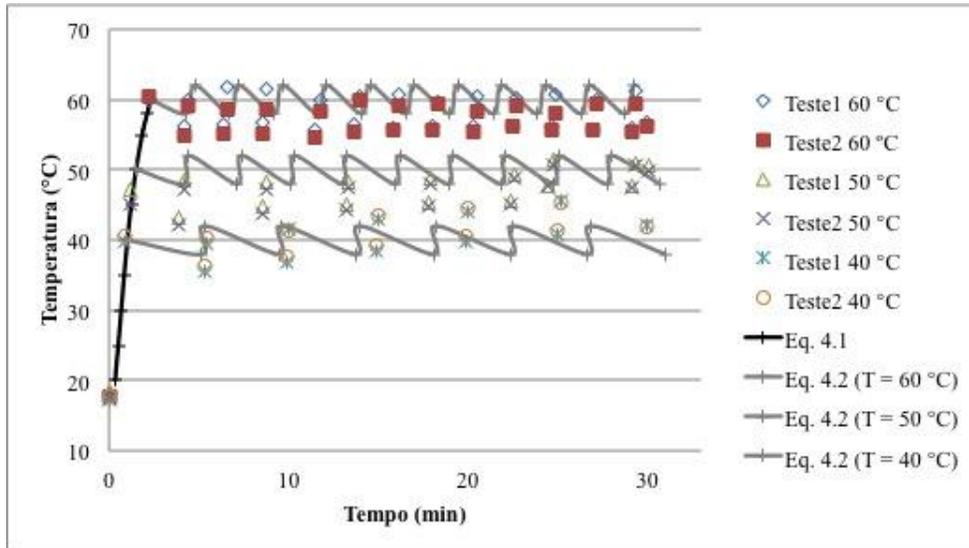
Eq. 4.2

Tabela 4.9 – Função linear e valores preditos.

Coefficientes para T = 40 °C	
e	f
-1,0365	43,912
x (°C)	y (min)
42	0,38
40	2,45
38	4,53
Coefficientes para T = 50 °C	
e	f
-0,6752	36,504
x (°C)	y (min)
52	1,39
50	2,74
48	4,09
Coefficientes para T = 60 °C	
e	f
-0,4854	30,531
x (°C)	y (min)
62	0,44
60	1,41
58	2,38

O comportamento esperado da temperatura utilizando os modelos ajustados e os dados experimentais obtidos para o processo em 40 °C, 50 °C e 60 °C são mostrados na Figura 4.10. Os dados experimentais foram bastante reprodutíveis e seguiram o comportamento esperado muito bem, confirmando a adequação do método de calibração.

Figura 4.10 – Valores experimentais e preditos para temperatura x tempo.



Após o estabelecimento da dinâmica do processo, foi elaborado um planejamento experimental para a extração de flores, folhas e caules do jambu.

4.3 RESULTADOS DO PROCESSO DE EXTRAÇÃO

As condições de entrada – conteúdo de umidade, temperatura inicial e massa da amostra, além do volume de solvente – para o desenvolvimento do planejamento experimental são apresentadas na Tabela 4.10, com seus respectivos desvios médios. Os resultados foram obtidos calculando-se a média das variáveis fixas entre as 11 corridas da matriz experimental.

Tabela 4.10 – Condições experimentais médias iniciais.

Material	Umidade (% _{b.u})	T inicial (°C)	m amostra (g)	V solvente (mL)
Flores	11,2 ± 2,0	21,5 ± 0,9	2,0003 ± 0,0003	58,8 ± 0,2
Folhas	9,0 ± 0,6	19,9 ± 0,7	2,0004 ± 0,0003	59,1 ± 0,3
Caules	9,0 ± 0,3	19,9 ± 0,4	2,0003 ± 0,0002	59,1 ± 0,1

Os resultados para o rendimento de espilantol (Rd) nas diferentes condições de extração da matriz do planejamento são apresentados na Tabela 4.11. Observa-se que o rendimento mínimo e máximo, em massa para 100 g de matéria seca, foi de 1,71 g (corrida 4, 60 °C e 30 min) e 4,47 g (corrida 7, 50 °C e 10 min) para as flores; 0,75 g (corrida 1, 40 °C e 10 min) e 1,90 g (corrida 11, 50 °C e 20 min) para as folhas; 0,40 g (corrida 3, 40 °C e 30 min) e 0,63 g (corrida 7, 50 °C e 10 min) para os caules.

Tabela 4.11 – Rendimento de espilantol (Rd) em 100 g de matéria seca.

Corrida	X ₁ (T, °C)	X ₂ (t, min)	Flores	Folhas	Caules
			Rd (g)	Rd (g)	Rd (g)
1	40	10	2,1150	0,7500	0,6000
2	60	10	2,7593	1,4610	0,5540
3	40	30	2,8601	1,0717	0,3999
4	60	30	1,7142	1,4017	0,5505
5	40	20	4,2701	0,7594	0,4337
6	60	20	3,7343	0,8286	0,4704
7	50	10	4,4675	1,3770	0,6255
8	50	30	2,0539	0,8776	0,5960
9	50	20	3,8297	1,5886	0,4643
10	50	20	3,9561	1,5179	0,4128
11	50	20	3,7545	1,8995	0,4666

De uma maneira geral, o rendimento de espilantol obtido neste trabalho está de acordo com aqueles encontrados na escassa literatura sobre o assunto (Capítulo 2, Tabela 2.2), mas com a vantagem da utilização de menor quantidade de matéria-prima, volume de solvente e tempo de processo. A menor quantidade obtida na faixa do planejamento experimental realizado foi

encontrada nos caules (corrida 3), mas mesmo assim, conseguiu-se atingir valor equivalente ao encontrado por Cavalcanti (2008) para extração de espilantol a partir de *Spilanthes acmella* var *oleracea*, utilizando processo de fluido supercrítico e co-solvente (CO₂ + etanol), sendo que a massa de material, volume de solvente e tempo de processo neste último foram 5, 6000 e 13 vezes maior do que a utilizada na extração com micro-ondas (2 g, 60 mL e 30 min).

Dias et al. (2012) obtiveram resultados bem superiores aos apresentados na Tabela 4.11, atingindo valores de 65,4 % para o rendimento das flores de *Spilanthes acmella* var *oleracea* em um processo de extração também com fluido supercrítico (CO₂) sem adição de co-solvente. Nesse caso, os autores utilizaram cargas de material de 5 a 8 g e 3,5 h de tempo de processo, mas não forneceram dados suficientes para determinação do volume de solventes utilizados para os experimentos.

É importante ressaltar que as quantidades de massa de material, o volume de solvente e o tempo de operação são extremamente importantes para uma pré-avaliação de custos, gastos e qualidade entre os processos; contudo, uma comparação bem definida e exata só pode ocorrer se não houver variações de espécies, plantio, coleta e limpeza do material entre as metodologias utilizadas. Os fatores listados acima são extremamente influentes para a composição e quantificação dos componentes dos óleos essenciais (GRACINDO et al., 2006; BORGES, 2009; MAIA; ANDRADE, 2009; SOUZA et al., 2009; BORGES, 2012).

Retornando aos dados da Tabela 4.11, os resultados das corridas de 9 a 11 mostraram pouca variabilidade entre o rendimento de espilantol, indicando uma boa reprodutibilidade dos resultados. A média e o desvio médio da variável resposta foi de $3,85 \pm 0,07$, $1,67 \pm 0,15$ e $0,45 \pm 0,02$ g/100 g de matéria seca para as flores, folhas e caules, respectivamente.

Uma maneira de verificar o espalhamento dos resultados relacionados ao ponto central (corridas de 9 a 11) é a utilização de alguns parâmetros estatísticos, tais como intervalo (Eq. 4.3), variância da amostra (Eq. 4.4) e desvio padrão da amostra (Eq. 4.5) (Felder; Rousseau, 2005). Essas medidas expressam o grau de espalhamento dos valores de uma variável aleatória, nesse caso o rendimento de espilantol na condição do ponto central, em torno do seu valor médio. A Tabela 4.12 mostra os resultados dessa análise e a Figura 4.11 ilustra o espalhamento dos dados na condição de ponto central.

$$I = Rd_{m\acute{a}ximo} - Rd_{m\acute{í}nimo} \quad \text{Eq. 4.3}$$

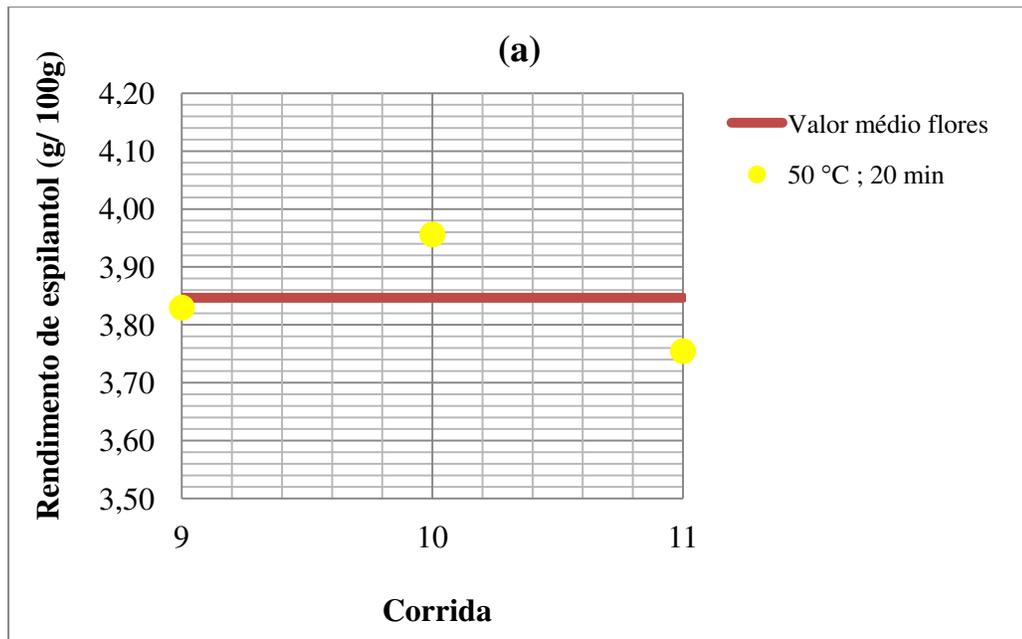
$$s_{Rd}^2 = \frac{1}{N-1} \cdot \left[\sum_{i=1}^N (Rd_i - \overline{Rd})^2 \right] \quad \text{Eq. 4.4}$$

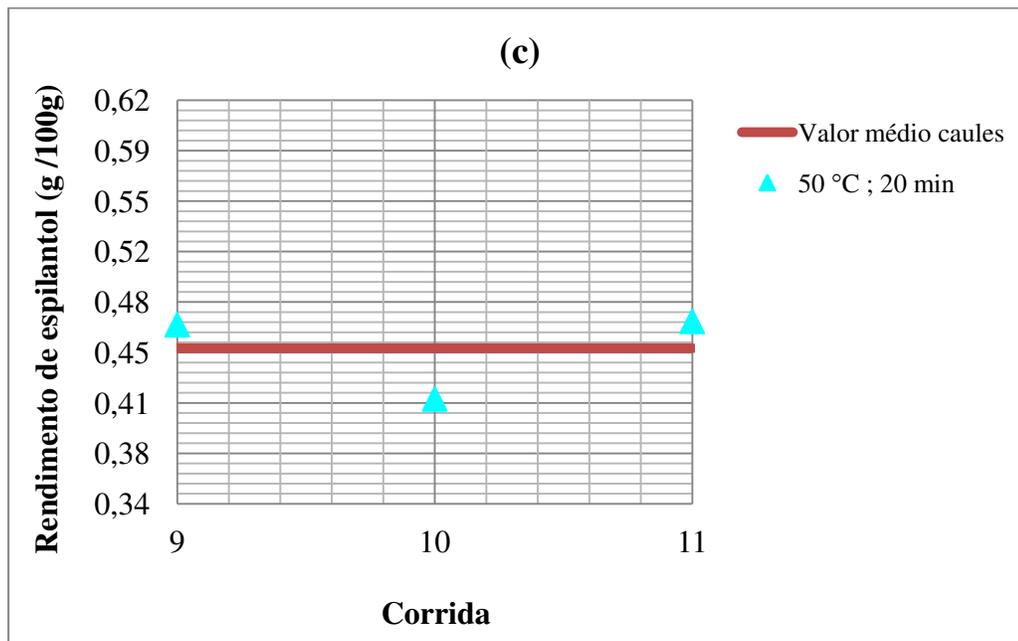
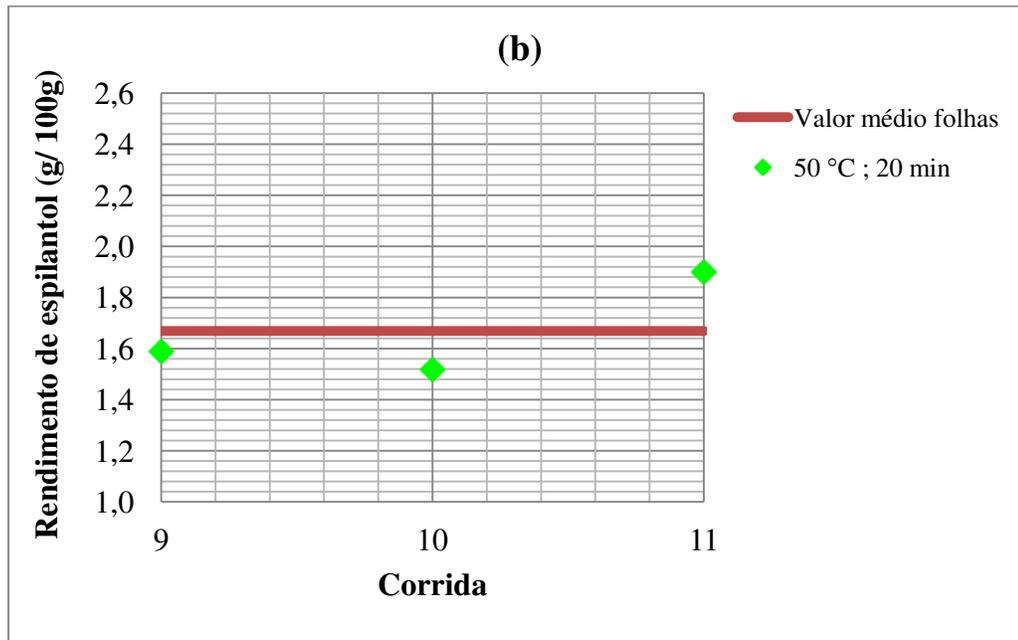
$$s_{Rd} = \sqrt{s_{Rd}^2} \quad \text{Eq. 4.5}$$

Tabela 4.12 – Variância de dados espalhados para condição de ponto central, 50 °C e 20 min.

Material	Média (g/ 100g)	Intervalo	Variância	Desvio padrão	Desvio médio
Flores	3,8468	0,2016	0,0104	0,1019	0,0729
Folhas	1,6687	0,3816	0,0412	0,2030	0,1539
Caules	0,4479	0,0538	0,4479	0,0304	0,0234

Figura 4.11 – Espalhamento dos dados em torno da média; (a) flores, (b) folhas, (c) caules.





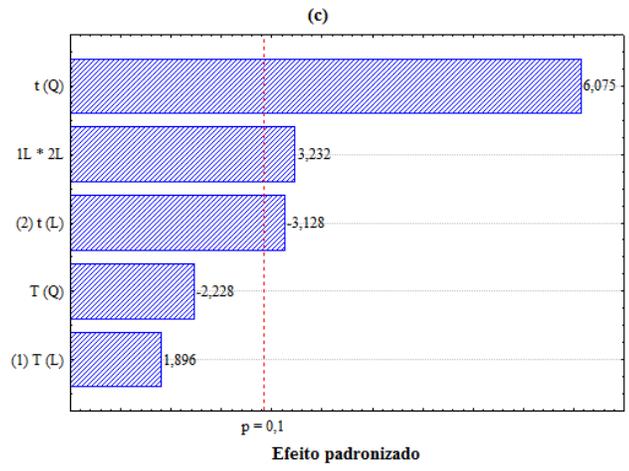
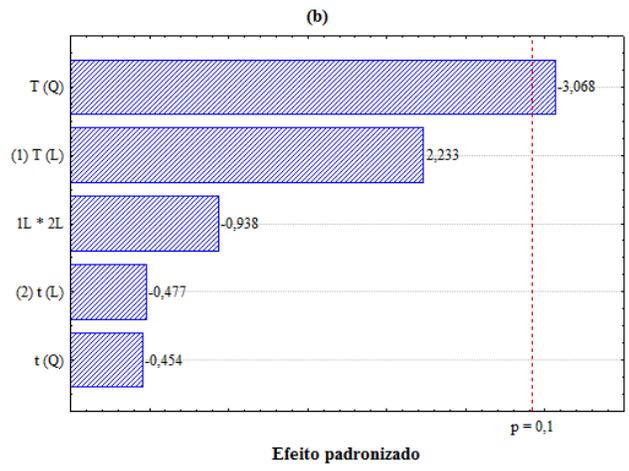
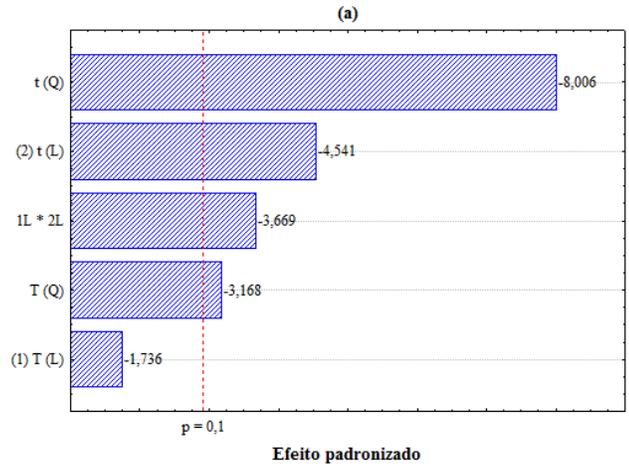
De acordo com Felder e Rousseau (2005), aproximadamente 67 % de todos os valores medidos encontram-se dentro de um intervalo referente a um desvio padrão da média, ou seja, $\bar{Rd} \pm s_{Rd}$; cerca de 95 % estão no intervalo de dois desvios padrões, $\bar{Rd} \pm 2s_{Rd}$ e 99 % estão no intervalo de três desvios padrões, $\bar{Rd} \pm 3s_{Rd}$. As porcentagens exatas variam de acordo com a distribuição dos valores medidos em torno da média e da quantidade de pontos para o cálculo da média e desvio padrão. Os resultados das corridas experimentais referentes ao ponto central, 50 °C e 20 min, apresentaram-se no intervalo de $\bar{Rd} \pm s_{Rd}$ para flores e caules e $\bar{Rd} \pm 2s_{Rd}$ para as folhas.

Usualmente, para análise estatística dos planejamentos experimentais, o limite de confiança é 95 % e $\alpha = 0,05$. No entanto, para este trabalho usou-se 90 % de confiança e, portanto, $\alpha = 0,1$ para o planejamento composto central de face centrada (FCCCD), devido à complexidade dos mecanismos que governam os efeitos da temperatura de extração em um processo envolvendo micro-ondas – interações iônicas, rotação dipolar, perdas dielétricas, profundidade de alcance das micro-ondas, etc. – conforme o que foi apresentado e discutido nos itens 2.2.2, 2.4.2.3 e 4.1.4.

O gráfico de Pareto (Figura 4.12) permite a confirmação da significância dos efeitos principais e suas interações. É possível visualizar as variáveis isoladas e combinadas no eixo da esquerda, bem como confirmar os seus efeitos estatisticamente significativos localizados à direita da linha tracejada, que indica ponto de significância dos resultados ($p \leq 0,1$).

Observa-se pela Figura 4.12a que, o efeito quadrático do tempo de extração foi o mais importante para o rendimento de espilantol durante a extração das flores de jambu com micro-ondas. A influência desse parâmetro no processo foi negativa, significando que, o aumento quantitativo dessa variável implica numa diminuição do rendimento de espilantol. Isso quer dizer que, quando o produto é exposto a longos períodos em processos de extração assistidos por micro-ondas, pode ocorrer um aumento na temperatura da mistura (amostra + solvente), inferindo na decomposição do composto majoritário do jambu e diminuindo o seu rendimento final.

Figura 4.12 – Gráfico de Pareto; (a) flores, (b) folhas, (c) caules.



Não foi observada uma influência positiva da temperatura, como era esperado (Figura 4.12a). Na realidade, esse parâmetro isolado demonstrou ter uma fraca influência na variável resposta, mostrando-se como a última variável significativa, e, além disso, apresentou um efeito também negativo.

Isso pode ser um indício de que o componente espilantol é sensível ao aumento da temperatura e que reações orgânicas estruturais podem ser desencadeadas durante o experimento, dando origem a outros componentes químicos. No entanto, procedimentos mais específicos em relação ao processo (ampliação da faixa de temperatura) e a análise estrutural do composto devem ser realizados para maior entendimento sobre o assunto, que será objeto de futuros trabalhos.

O efeito linear da temperatura foi significativo quando combinado ao efeito linear do tempo (Figura 4.12a). Essa combinação revelou uma influência negativa, o que era esperado, já que altas temperaturas e extrações muito demoradas, geralmente ocasionam perdas de voláteis e degradação dos compostos.

A Figura 4.12b mostra que apenas o efeito quadrático da temperatura foi relevante no processo de extração de espilantol assistida por micro-ondas, utilizando as folhas de jambu como matéria-prima. E, assim como nas flores, o efeito desse parâmetro foi negativo, indicando que o aumento dessa variável diminui o rendimento do composto.

Assim como para as flores, o efeito quadrático do tempo foi o termo predominante no processo de extração do espilantol a partir dos caules de jambu, conforme mostra a Figura 4.12c. No entanto, o efeito foi positivo, ao contrário do que foi observado para esse parâmetro nas Figuras 4.12a e 4.12b. É possível que isso tenha acontecido devido a estrutura fibrosa característica dos caules, que apresenta de uma maneira geral, uma menor quantidade de óleo essencial em relação às outras partes da planta, e por isso, a dificuldade de remoção do material durante o processo.

A Figura 4.12c mostra ainda que a combinação dos efeitos lineares da temperatura e tempo de extração foram importantes para o processo, assim como na Figura 4.12a, utilizando flores de jambu. No entanto, no caso dos caules, o efeito foi positivo, indicando que a interação desses fatores tende a maximizar o rendimento de espilantol no extrato.

O efeito linear do tempo também apresentou significância estatística, mas com efeito negativo. Observa-se pela Figura 4.12c, que esse termo possui um efeito bem inferior – 2 vezes menor – quando comparado ao seu termo quadrático.

É importante lembrar que, todos esses efeitos das variáveis de entrada sobre a resposta rendimento de espilantol, independente da parte da planta utilizada, devem ser analisados como um todo e não de forma isolada, principalmente quando existem interações combinadas. Sendo assim, deve-se utilizar de análise canônica e/ou técnicas de otimização estatísticas para que os efeitos lineares ou de curvatura sejam eliminados, viabilizando assim a análise individual do efeito de cada variável (COSTA, 2010).

O processo de extração de espilantol assistido por micro-ondas utilizando flores, folhas e caules de jambu (*Acmella oleracea* (L.) R. K. Jansen), revelou-se uma excelente estratégia de extração sólido-líquido de material vegetal. Eficiente em relação à rapidez (tempo total 30 minutos), quando comparado a outras técnicas convencionais (maceração, hidrodestilação e Soxhlet, por exemplo), o processo foi capaz de fornecer resultados satisfatórios em termos de rendimento de espilantol.

Entretanto, esse tipo de aplicação para as micro-ondas é um procedimento relativamente novo, o que demonstra a necessidade de estudos mais aprofundados em termos de mecanismos de interação da energia eletromagnética e dos componentes químicos no interior das estruturas celulares, bem como, os efeitos do tipo e volume de solvente utilizados durante o processo, que podem revelar uma influência bastante significativa na variável resposta.

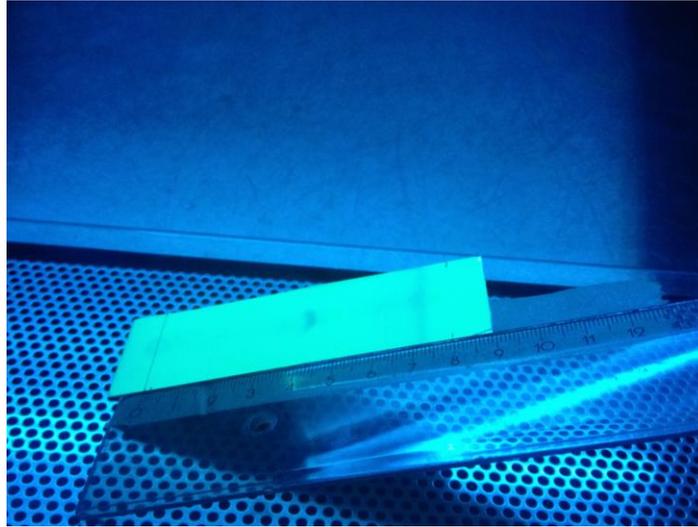
4.4 QUANTIFICAÇÃO DO ESPILANTOL (CROMATOGRAFIA EM CAMADA DELGADA)

Flores de jambu serviram de matéria-prima para a obtenção do padrão espilantol a ser usado na análise cromatográfica. O diâmetro médio de Sauter e o conteúdo de umidade do material seco e particulado foram $6,00 \times 10^{-4}$ m e 15,08 %_{b.u.}, respectivamente. O processo de extração foi efetuado conforme o item 3.3.2 do Capítulo 3.

O extrato concentrado foi depositado em placas de sílica para a separação do espilantol por cromatografia em camada delgada. Algumas manchas eram visíveis a olho nu, mas a banda

referente ao componente desejado (Figura 4.13) necessitava de luz UV para sua identificação na banda em $R_f = 0,5$ (Capítulo 3, Eq. 3.7), segundo dados da literatura (Dias et al. 2012).

Figura 4.13 – Identificação do espilantol sob luz UV.



A placa de sílica foi fragmentada na banda referente ao espilantol e solubilizada com etanol 95 %. A solução foi filtrada e após a evaporação do solvente, a massa de sólido seco obtida foi de 0,0020 g. O material foi diluído em volumes conhecidos de solvente resultando em concentrações de 1 mg/mL, 0,5 mg/mL, 0,25 mg/mL, 0,1 mg/mL e 0,05 mg/mL.

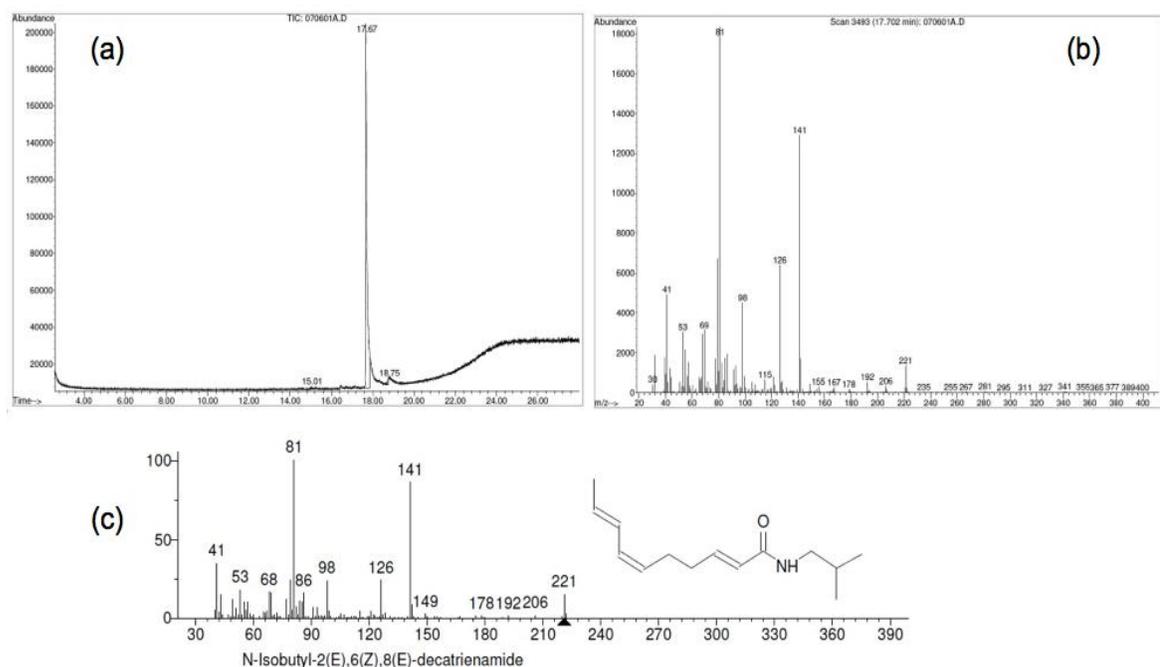
A confirmação do componente no extrato foi feita através da espectrometria de massa do material e da biblioteca integrada do cromatógrafo a gás, conforme ilustrado na Figura 4.14. O parâmetro de integração foi de 0,5 % de área mínima em relação ao maior pico do buquê. O tempo de retenção do espilantol foi de 17,7 minutos.

Através dos relatórios percentuais gerados pelo software *MS: Data/Data Analysis* do equipamento de cromatografia gasosa pode-se observar que o pico com tempo de retenção médio de 17,704 minutos foi predominante e com extenso valor médio de área corrigida no espectro (82,1 % a 92,3 % do total) em todas as soluções preparadas. Além disso, foi verificada a presença de alguns compostos nitrogenados e carboxílicos em menor abundância, que foram considerados ruídos no espectro. Alguns compostos com a presença de sílica foram encontrados em maior

abundância, no entanto, não estavam presentes em todas as soluções, considerando-se assim produtos provenientes da coluna do equipamento.

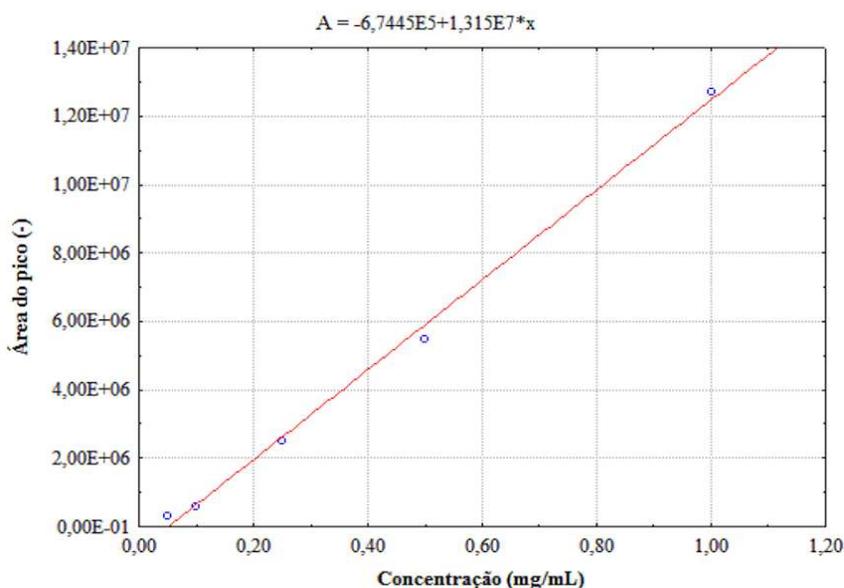
Os resultados provenientes do procedimento de extração e purificação foram satisfatórios, já que as análises por cromatografia gasosa confirmaram uma amostra com elevado grau de pureza do espilantol, ainda que o processo de extração tenha sido relativamente rápido (20 minutos a 50 °C). Resultado semelhante foi obtido por Dias et al. (2012), diferenciando-se do corrente trabalho pelo procedimento de extração, também reportado por Stuart e Wills (2000), onde a biomassa manteve-se em contato com etanol por 8 horas a 25 °C.

Figura 4.14 – Espectro CG/MS; (a) solução de 0,1 mg/mL, (b) espectroscopia de massa do componente em 17,67 minutos, (c) espectroscopia de massa do espilantol pela biblioteca NIST.



Os resultados de área obtidos do espectro, juntamente com as concentrações definidas, foram submetidos a análise de estimação linear utilizando o método Gauss-Newton. Verificou-se que a função linear apresentou um coeficiente de determinação de 99,7 % e coeficientes linear e angular de $-6,74 \times 10^5$ e $1,31 \times 10^7$, respectivamente. A curva de calibração do espilantol é apresentada na Figura 4.15.

Figura 4.15 – Curva de calibração para quantificação do espilantol.



A adequação do modelo, apresentado na Figura 4.15, foi confirmada através do teste de normalidade dos erros e da análise de variância. Conforme já explicado no item 4.1.3 do Capítulo 4, o gráfico de probabilidade normal dos resíduos (Figura 4.16) pode confirmar a suposição de normalidade dos resíduos. Assim, para 95 % de confiança, os resíduos padronizados estarão no intervalo de (-2, +2). A Figura 4.16 mostra os valores normais esperados entre o intervalo de (-1,5; 1,5) e os resíduos em $(-5 \times 10^5; 5 \times 10^5)$, ou seja, verificou-se ausência de *outliers*.

A análise de variância foi realizada para determinar se a área do pico foi influenciada pelas mudanças na concentração. De acordo com a Tabela 4.13, verificou-se que o modelo linear foi significativo para estimar a área em função da concentração, evidenciado pelo valor p menor que 0,05, indicando uma significância estatística, também confirmada pelo coeficiente de determinação obtido ($R^2 = 99,7 \%$).

Figura 4.16 – Gráfico normal de probabilidade para o epilantol.

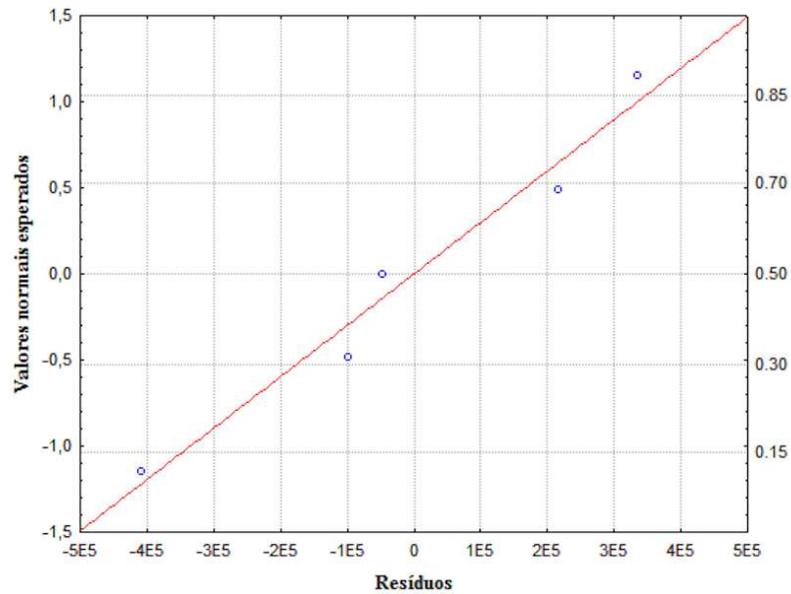


Tabela 4.13 – Análise de variância do modelo linear para quantificação do epilantol.

Efeito	SS	DF	MS	valor-F	valor-p
Regressão	1,9769E+14	2	9,8846E+13	876,9866	0,000071
Resíduo	3,3813E+11	3	1,1271E+11		
Total	1,9803E+14	5			
Total corrigido	1,0461E+14	4			
Regressão vs. total corrigido	1,9769E+14	2	9,8846E+13	3,7796	0,1197

Onde: SS, DF e MS são as abreviações em inglês dos termos *sum of squares*, *degree of freedom* e *mean squares*.

Assim, com a adequação do modelo linear, a equação da Figura 4.15 foi utilizada para quantificar o rendimento de epilantol extraído das amostras de jambu: flores, folhas e caules, pelo processo de extração assistida por micro-ondas.

5 CONCLUSÕES

Esse trabalho refere-se à determinação das propriedades dielétricas do sistema sólido-solvente, extração assistida por micro-ondas, utilizando flores, folhas e caules de jambu (*Acmella oleracea* (L.) R. K. Jansen) e obtenção em escala de laboratório do componente químico espilantol. Após o desenvolvimento do trabalho, concluiu-se que:

As propriedades dielétricas das misturas das partes de jambu (flores, folhas e caules) com o solvente foram influenciadas pela variação da frequência (0,45 a 10,45 GHz) e temperatura (20 a 60 °C). A constante dielétrica e o fator de perda diminuíram com o aumento da frequência para todos os sistemas para a faixa de conteúdos de umidade (7,16 – 14,93 % b.u.).

Dados experimentais das propriedades dielétricas foram ajustados em função da temperatura a 2,45 GHz e os modelos exponencial e linear resultaram nos melhores ajustes para a constante dielétrica e fator de perda, respectivamente.

O planejamento composto central de face centrada (FCCCD) forneceu uma boa visualização da influência das variáveis de entrada, temperatura de processo e tempo de extração na variável resposta, rendimento de espilantol em g/ 100g de matéria seca. A diminuição do número de corridas experimentais com a possibilidade de avaliar os efeitos combinados ou não das condições do ponto central com os níveis mínimo e máximo foi uma boa estratégia para obter as primeiras informações sobre o processo de extração assistido por micro-ondas.

O rendimento de espilantol mínimo e máximo para o planejamento composto central de face centrada (FCCCD) foi de 1,71 g /100 g de matéria seca (corrida 4, 60 °C; 30 min) e 4,47 g /100 g de matéria seca (corrida 7, 50 °C; 10 min) para as flores; 0,75 g /100 g de matéria seca (corrida 1, 40 °C; 10 min) e 1,90 g /100 g de matéria seca (corrida 11, 50 °C; 20 min) para as folhas; 0,40 g /100 g de matéria seca (corrida 3, 40 °C; 30 min) e 0,63 g /100 g de matéria seca (corrida 7, 50 °C; 10 min) para os caules.

O gráfico de Pareto revelou um efeito quadrático do tempo de extração negativo e foi o termo mais importante para o FCCCD para as flores. Os efeitos quadrático isolado e linear

combinado da temperatura também apresentaram um efeito negativo, utilizando 90 % de confiança e $\alpha = 0,1$.

O gráfico de Pareto para as folhas mostrou que apenas o efeito quadrático da temperatura foi relevante no processo de extração de espilantol assistido por micro-ondas. E, assim como nas flores, o efeito desse parâmetro foi negativo, utilizando 90 % de confiança e $\alpha = 0,1$.

O gráfico de Pareto reconheceu o efeito quadrático do tempo como o termo predominante no processo de extração do espilantol a partir dos caules de jambu. No entanto, o efeito foi positivo, ao contrário do que foi observado para esse parâmetro para as flores e folhas de jambu. A combinação linear da temperatura e tempo de extração apresentou um efeito positivo e o efeito linear do tempo foi negativo, utilizando 90 % de confiança e $\alpha = 0,1$.

A extração de micro-ondas foi satisfatória para remover o componente químico espilantol a partir das flores de jambu (*Acmella oleracea* (L.) R. K. Jansen) para a obtenção do padrão, que não é disponível comercialmente. O processo foi mais rápido (máximo de 30 minutos) do que métodos convencionais disponíveis na literatura (2 a 216 horas) e preservou o composto no extrato.

As análises cromatográficas e de espectrometria de massa foram capazes de identificar o tempo de retenção do espilantol e a biblioteca NIST apresentou alta correlação entre o padrão obtido e o disponível na literatura do software. A presença da amida também foi confirmada pelo espectro de massa do componente químico.

A equação linear $\text{Área} = (1,31 \times 10^7 \times \text{Concentração}) - 6,47 \times 10^5$ ajustou muito bem os resultados confirmado pelo valor de R^2 igual a 99,8 % e valor $p < 0,05$. A equação mostrou-se viável de ser utilizada para a quantificação do composto espilantol.

O processo de extração de espilantol assistido por micro-ondas utilizando flores, folhas e caules de jambu (*Acmella oleracea* (L.) R. K. Jansen), revelou-se uma excelente estratégia, capaz de fornecer resultados satisfatórios em termos de rendimento do componente majoritário.

6 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

- Realizar uma análise de custos e gastos energéticos para o processo de extração assistido por micro-ondas;
- Avaliar a influência do método de extração, maceração, hidrodestilação, Soxhlet, micro-ondas, entre outros, nas propriedades diuréticas, antioxidantes e anti-inflamatórias do jambu;
- Avaliar a influência do método de secagem, convencional ou micro-ondas, no rendimento e na qualidade do óleo essencial de jambu;
- Avaliar os efeitos do processo de secagem na qualidade nutricional (componentes vitamínicos e minerais) e na análise sensorial do jambu (cor, textura e aroma);
- Caracterizar o óleo essencial de jambu;
- Estudar o processo de encapsulação do óleo essencial de jambu e avaliar a sua influência nas propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias do produto;
- Avaliar a influência de parâmetros operacionais e das propriedades físicas, tais como potência de micro-ondas, temperatura, tempo, natureza/volume do solvente (sozinho ou combinado), conteúdo de umidade e densidade, no rendimento do óleo essencial de plantas brasileiras com potencial terapêutico em processos de extração assistidos por micro-ondas;

7 REFERÊNCIAS

ABIHPEC, Associação Brasileira de Indústria de Higiene Pessoal, Perfumaria e Cosméticos, 2013. Disponível em: <<http://www.abihpec.org.br/wp-content/uploads/2012/04/Panorama-do-setor-2011-2012-03-DEZ-2012.pdf>>. Acessado em: 15/01/2013.

ABU-SAMRA, A., MORRIS, J.S., KOIRTYOHANN, S.R. Wet ashing of some biological samples in a microwave oven. **Analytical Chemistry**, 47, 1475-1477 p, 1975.

AL-BAYATI, F.A. Isolation and identification of antimicrobial compound from *Mentha longifolia* L. leaves grown wild in Iraq. **Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials**, 8:20, 2009.

ALBUQUERQUE, J.M. **Plantas medicinais de uso popular**. Brasília: Associação Brasileira de Educação Agrícola Superior, 1989. 39 p. ISBN 8585234059.

AHMED, J.; RAMASWAMY, H.S.; RAGHAVAN, G.S.V. Dielectric properties of butter in the MW frequency range as affected by salt and temperature. **Journal of Food Engineering**, 82, p.351-358, 2007a.

AHMED, J.; RAMASWAMY; H.S.; RAGHAVAN, G.S.V. Dielectric properties of Indian Basmati rice flour slurry. **Journal of Food Engineering**, v. 80, p.1125-1133, 2007b.

ARMOND, C. **Indicadores químicos, crescimento e bioeletrografias de plantas de jambu (*Acmella oleracea* L.), capim-limão (*Cymbopogon citratus* (DC) Stapf) e folha-da-fortuna (*Bryophyllum pinnatum* (Lam. Oken) submetidas a tratamentos homeopáticos)**. 2007. 142f. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa. 2007.

BARBOSA-CÁNOVAS, G.; VEGA-MERCADO, H. **Dehydration of foods**. New York: Chapman & Hall., 1996. 330 p. ISBN 0412064219.

BAYRAMOGLU, B.; SAHIN, S.; SUMNU, G. Solvent-free microwave extraction of essential oil from oregano. **Journal of Food Engineering**, v. 88, p.535-540, 2008.

BRANDÃO, M.G.L.; PIGNAL, M.; ROMANIUC, S.; GRAEL, C.F.F.; FAGG, C.W. Useful Brazilian plants listed in the field books of the French naturalist Auguste de Saint-Hilaire (1779-1853). **Journal of Ethnopharmacology**, v. 143, p.488-500, 2012.

BORGES, L.S. **Biomassa, teores de nutrientes, espilantol e atividade antioxidante em plantas de Jambu (*Acmella ciliata* Kunth) sob adubação mineral e orgânica**. 2009. 108f. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Horticultura) – Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Botucatu. 2009.

BORGES, L.S. **Potencial antioxidante, óleo essencial e atividade antifúngica de plantas de jambu (*Spilanthes oleracea*), cultivadas sob adubação orgânica e convencional e processamento mínimo de nectarina (*Prunus persica* var. *nectarina*): Conservação de suas qualidades e propriedades bioativas**. 2012. 184f. Tese (Doutorado em Agronomia/Horticultura) – Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu. 2012.

BRASIL, Ministério da Saúde. **Alimentos Regionais Brasileiros**. 1^a ed. Brasília: Secretaria de Políticas de Saúde, Coordenação-Geral de Políticas de Alimentação e Nutrição, 2002. 140 p.

BRASIL, Ministério da Saúde. Sistema Único de Saúde. 2009. Disponível em: <http://portal.saude.gov.br/portal/saude/profissional/visualizar_texto.cfm?idtxt=30277&janela=1> Acessado em: 10/02/2010.

BRASIL, SECEX. 2013. Disponível em: <<http://www.desenvolvimento.gov.br/sitio/>> Acessado em: 11/03/2013.

BUFFLER, C.R. **Microwave cooking and processing: engineering fundamentals for the food scientist**. New York: Van Nostrand Reinhold, 1993.

BURT, S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods - a review. **International Journal of Food Microbiology**, v. 94, p.223-253, 2004.

CALADO, V.; MONTGOMERY, D.C. **Planejamento de Experimentos usando Statistica**. Rio de Janeiro: E-Papers Serviços Editoriais, 2003. 260 p. ISBN 8587922831.

CARDOSO, M.O.; GARCIA, L.C. Jambu. In: CARDOSO, M.O. (Coord.). **Hortaliças não convencionais da Amazônia**. Manaus: EMBRAPA/CPAA, 1997. p.133-140.

CAVALCANTI, V.M.S. **Extração de espilantol de *Spilanthes var oleraceae* com dióxido de carbono supercrítico**. 2008. 144f. Tese (Doutorado em Engenharia Química) – Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2008.

CHAN, C-H.; YUSOFF, R.; NGOH, G-C; KUNG, F.W-L. Microwave-assisted extractions of active ingredients from plants. **Journal of Chromatography A**, 1218, p.6213-6225, 2011.

CHENG, W.M.; RAGHAVAN, G.S.V.; NGADI, M.; WANG, N. Microwave power control strategies on the drying process I. Development and evaluation of new microwave drying system. **Journal of Food Engineering**, v. 76, p.188-194, 2006.

COLLINS J.M.; LEADBEATER N. Microwave energy: a versatile tool for the biosciences. **Organic & Biomolecular Chemistry**, v. 5, p.1141-1150, 2007.

COPSON, D. A. **Microwave heating**. 2nd. Westport: The AVI Publishing Company. 1975. 615 p.

COSTA, C.M.L. **Estudo experimental de caracterização e do recobrimento de sementes de jambu (*Spilanthus oleraceae*) em leito fluidizado**. 2010. 195f. Tese (Doutorado em Engenharia Química) – Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas. 2010.

COSTA, S.S.; ARUMUGAM, D.; GARIEPY, Y.; ROCHA, S.C.S.; RAGHAVAN, V. Spilanthol extraction using microwave: calibration curve for gas chromatography. **Chemical Engineering Transactions**, 32, p.1783-1789, 2013a.

COSTA, S.S.; GARIEPY, Y.; ROCHA, S.C.S.; RAGHAVAN, G.S.V. Influence of the extraction temperature and extraction time on the composition of mint essential oil using microwave extraction. In: 62nd CANADIAN CHEMICAL ENGINEERING CONFERENCE, 2012, Vancouver. **Poster Presentation Session**.

COSTA, S.S.; GARIEPY, Y.; ROCHA, S.C.S.; RAGHAVAN, V. Microwave extraction of mint essential oil – temperature calibration for the oven. **Journal of Food Engineering**, 126, p.1-6, 2013b.

COSTA, S.S.; ROCHA, S.C.S. Caracterização e cinética de secagem de folhas de hortelã (*Mentha sp.*). In: XXXV CONGRESSO BRASILEIRO DE SISTEMAS PARTICULADOS/ENEMP, 2011, Vassouras. **Anais eletrônicos XXXV Congresso Brasileiro de Sistemas Particulados**, Vassouras: UFRRJ, 2011. CD-ROM.

CRAVEIRO, A.A.; MATOS, F.J.A.; ALENCAR, J.W.; PLUMEL, M.M. Microwave oven extraction of an essential oil. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 4, p.43-44, 1989.

DAI J.; ORSAT V.; RAGHAVAN G.S.V., YAYLAYAN V. Investigation of various factors for the extraction of peppermint (*Mentha piperita* L.) leaves. **Journal of Food Engineering**, v. 96, p.540-543, 2010.

DIAS, A.M.A.; SANTOS, P.; SEABRA, I.J.; JÚNIOR, R.N.C.; BRAGA, M.E.M.; SOUSA, H.C. Spilanthol from *Spilanthus acmella* flowers, leaves and stems obtained by selective supercritical carbon dioxide extraction. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 61, p.62-70, 2012.

DECAREAU, R.V.; PETERSON, R.A. **Microwave processing and engineering**. Wernheim, London: Ellis Horwood Ltd., 1986. 224 p. ISBN 3527262105.

DESAI, M.; PARIKH, J.; PARIKH, P.A. Extraction of natural products using microwaves as a heat source. **Separation & Purification Reviews**, v. 39, p.1-32, 2010.

DEV, S.R.S.; RAGHAVAN, G.S.V.; GARIEPY, Y. Dielectric properties of egg components and microwave heating for in-shell pasteurization of eggs. **Journal of Food Engineering**, v. 86, p.207-214, 2008.

ERICKSON, B. Standardizing the world with microwaves. **Analytical Chemistry News & Features**, v. 70, n. 13, p.467A-471A, 1998.

ESKILSSON, C.S.; BJÖRKLUND, E. Analytical-scale microwave-assisted extraction. **Journal of Chromatography A**, v. 902, p.227-250, 2000.

EUROMONITOR INTERNATIONAL. Disponível em: <<http://www.euromonitor.com>>
Acessado em: 11/03/2013.

FELDER, R.M.; ROUSSEAU, R.W. **Princípios elementares dos processos químicos**. 3^a ed. Rio de Janeiro: LTC, 2005. 604 p. ISBN 9788521614296.

FONT, N.; HERNÁNDEZ, F.; HOGENDOORN, E.A.; BAUMANN, R.A.; ZONEN, P. Microwave-assisted solvent extraction and reversed-phase liquid chromatography-UV detection for screening soils for sulfonylurea herbicides. **Journal of Chromatography A**, v. 798, p.179-186, 1998.

GANZLER, K.; SALGÓ A, VALKÓ, K. Microwave extraction – a novel sample preparation method for chromatography. **Journal of Chromatography**, v. 371, p.299-306, 1986.

GANZLER, K.; SALGÓ, A. Microwave-extraction – a new method superseding traditional Soxhlet extraction. **Z Lebensm Unters Forsch**, v. 184, p.274-276, 1987.

GARDIOL, F.E. **Introduction to microwaves**. Dedham: Artech House, 1984.

GRACINDO, L.A.M.B.; GRISI, M.C.M.; SILVA, D.B.; ALVES, R.B.N.; BIZZO, H.R.; VIEIRA, R.F. Chemical characterization of mint (*Mentha* spp.) germplasm at Federal District, Brazil. **Revista Brasileira de Plantas Medicinai**s, v. 8, p.5-9, 2006.

GREEN, D.W.; PERRY, R.H. **Perry's chemical engineers' handbook**. (Ebook). 8th ed. New York: McGraw-Hill Professional Publishing, 2008.

GUO, W.; YANG, J.; ZHU X.; WANG, S.; GUO, K. Frequency, moisture, temperature, and density-dependent dielectric properties of wheat straw. **Transactions of the ASABE**, 56 (3), p.1069-1075, 2013.

GUO, W.; ZHU, X.; LIU, Y.; ZHUANG, H. Sugar and water contents of honey with dielectric property sensing. **Journal of Food Engineering**, v. 97, p.275-281, 2010.

GUSMÃO, S.A.L. de; GUSMÃO, M.T.A.de; SILVESTRE, DUARTE, W. V.; LOPES, P.R.A. Caracterização do cultivo de jambu nas áreas produtoras que abastecem a grande Belém. In: 43º CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA, 2003, Recife. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 21, p.1-4, 2003.

HAO, J.Y.; HAN, W.; HUANG, S.D.; XUE, B.Y.; DENG, X. Microwave-assisted extraction of artemisinin from *Artemisia annua* L. **Separation and Purification Technology**, v. 28, p.191-196, 2002.

HASTED, J.B. **Aqueous dielectric**. London: Chapman and Hall, 1973.

HIND, N.; BIGGS, N. *Acmella oleracea*: compositae. **Curti's Botanical Magazine**, v. 20, n.1, p.31-39, 2003.

HOMMA, A.K.O.; SANCHES, R.S.; MENEZES, A.J.E.A.; GUSMÃO, S.A.L. Etnocultivo do jambu para abastecimento da cidade de Belém, Estado do Pará. **Amazônia: Ciência & Desenvolvimento**, v. 6, n. 12, p.125-141, 2011.

JACOBS, M.B. **The chemical analysis of foods and food products**. 2ª ed. New York: D. Van Nostrand Company, 1973.

JASSIE, L.; REVESZ, R.; KIERSTEAD, T.; HASTY, E.; METZ, S. In: KINGSTON, H.M., HASWELL, S.J. (Eds.). **Microwave-enhanced Chemistry**. Washington: American Chemical Society, 1997. 569 p.

JONES, S.P. Chapter 2: Stability and response surface methodology. In: HENDRIKS, M.M.W.B.; BOER, J.H.; SMILDE, A.K. (Eds.). **Data Handling in Science and Technology – Robustness of analytical chemical methods and pharmaceutical technological products**, Elsevier, 1996, v.19, p.11-77. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/bookseries/09223487/19/supp/C> >.

KOVÁCS, Á.; GANZLER, K.; SIMON-SARKADI, L. Microwave-assisted extraction of free amino acids from foods. **Z Lebensm Unters Forsch A**, v. 207, p.26-30, 1998.

KUDRA T.; RAGHAVAN, G.S.V.; AKYEL, C.; BOSISIO, R.; VAN DE VOORT, F., R. Electromagnetic properties of milk and its constituents at 2.45 MHz. **International Microwave Power Institute Journal**, v. 27, p.199-204, 1992.

KWON, J-H.; LEE, G-D.; BÉLANGER, M.R.; PARÉ, J.R.J. Effect of ethanol concentration on the efficiency of extraction of ginseng saponins when using a microwave-assisted process (MAPTM). **International Journal of Food Science and Technology**, v. 38, p.615-622, 2003.

LAHLOU, S.; MAGALHÃES, P.J.C.; SIQUEIRA, R.J.B. de; FIGUEIREDO, A.F.; INTERAMINENSE, L.F.L; MAIA, J.G.S.; SOUSA, P.J.C. Cardiovascular effects of the essential oil of *Aniba canelilla* Bark in normotensive rats. **J. Cardiovasc. Pharmacol**, v. 46, n. 4, 2005.

LEARDI, R. Experimental design in chemistry: A tutorial. **Analytical Chimica Acta**, v. 652, p.161-172, 2009.

LI, H.; DENG, Z.; WU, T.; LIU, R.; LOEWEN, S.; TSAO, R. Microwave-assisted extraction of phenolics with maximal antioxidante activities in tomatoes. **Food Chemistry**, v. 130, p.928-936, 2012.

LU Y.; YUE X-F.; ZHANG Z-Q.; LI X-X.; WANG K. Analysis of *Rodgersia aesculifolia* Batal. rhizomes by microwave-assisted solvent extraction and GC-MS. **Chromatographia**, 66, 443-446, 2007.

LUCCHESI, M.E.; CHEMAT, F.; SMALJA, J. Solvent free microwave extraction of essential oil from aromatic herbs: comparison with conventional hydrodistillation. **Journal of Chromatography A**, v. 1043, p.323-327, 2004.

LUPE, F.A. **Estudo da composição química de óleos essenciais de plantas aromáticas da Amazônia**. 2007. 103f. Dissertação (Mestrado em Química) – Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas. 2007.

MAIA, J.G.S; ANDRADE, E.H.A. Database of the Amazon aromatic plants and their essential oils. **Química Nova**, v. 32, n. 3, p.595-622, 2009.

MANDAL, V.; MOHAN, Y.; HEMALATHA, S. Microwave assisted extraction – an innovative and promising extraction tool for medicinal plant research. **Pharmacognosy Reviews**, v. 1, p.7-18, 2007.

MARAN, J.P.; MANIKANDAN, S.; NIVETHA, C.V.; DINESH, R. Ultrasound assisted extraction of bioactive compounds from *Nephelium lappaceum* L. Fruit peel using central composite face centered response surface design. **Arabian Journal of Chemistry** (2013), <http://dx.doi.org/10.1016/j.arabjc.2013.02.00>.

MARSAIOLI Jr., A. **Desenvolvimento da tecnologia de aplicação de micro-ondas em secador cilíndrico-rotativo combinado com ar quente para produtos granulados**. 1991. 197 f. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas. 1991.

McKEOWN, M.S.; TRABELSI, S.; TOLLNER, E.W.; & NELSON, S.O. Dielectric spectroscopy measurements for moisture prediction in *Vidalia* onions. **Journal of Food Engineering**, v. 11, p.505-510, 2012.

METAXAS, A.C., MEREDITH, R.J. **Industrial microwave heating**. London: Peter Peregrinus Ltd., 1983. ISBN 0906048893.

MOLINS, C.; HOGENDOORN, E.A.; HEUSINKVELD, H.A.G.; VAN ZOONEN, P.; BAUMANN, R.A. Microwave assisted solvent extraction (Mase) of organochlorine pesticides from soil samples. **International Journal of Environmental Analytical Chemistry**, v. 68, p.155-169, 1997.

MONDIN, C.A.; MAGENTA, M.A.G.; NAKAJIMA, J.; SILVA, G.A.R. Acmeila. In: **Lista de espécies da flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB15913>> Acessado em: 12 de maio 2014.

NEMES, S.M. **Microwave-assisted extraction (MAE) of secoisolariciresinol diglucoside (SDG) from flaxseed**. 2007. 125f. Dissertação (Mestrado em Bioresource Engineering) – Faculty of Agricultural and Environmental Sciences, McGill University, Montreal. 2007. (em Inglês).

NEMES, S.M. **Practical methods for lignans quantification**. 2012. 274f. Tese (Doutorado em Bioresource Engineering) – Faculty of Agricultural and Environmental Sciences, McGill University, Montreal. 2012. (em Inglês).

NEMES, S.M.; ORSAT, V. Evaluation of a microwave-assisted extraction method for lignan quantification in flaxseed cultivars and selected oil seeds. **Food Analytical Methods**, v. 5, p.551-563, 2011.

NELSON, S.O. Measurement of microwave dielectric properties of particulate materials. **Journal of Food Engineering**, v. 21, p.365-384, 1994.

NIGRINIS, L.S.O.; CARO, J.O.; OLARTE, E.N. Estudio fitofarmacológico de la fracción liposoluble de las flores de la *Spilanthes americana* (Mutis) parte I: Estudio Fitoquímico. **Revista Colombiana de Ciencias Químico-Farmacéuticas**, v. 15, p.37-47, 1986.

NISBET L. J.; MOORE, M. Will natural products remain an important source on drug research for the future? **Current Opinion in Biotechnology**, v. 8, n. 6, p.708-712, 1997.

OLIVEIRA, V.; YAMADA, L.T.; FAGG, C.W.; BRANDÃO, M.G.L. Native foods from Brazilian biodiversity as a source of bioactive compounds. **Food Research International**, v. 48, p.170-179, 2012.

ORSAT, V.; RAGHAVAN, G.S.V.; MEDA, V. Microwave technology for food processing: an overview. In: REGIER, M.; SCHUBERT, H. (Eds.). **The microwave processing of foods**. Cambridge: Woodhead Publishing Ltd., 2005. p.105 – 118.

ORSAT, V.; YANG, W.; CHANGRUE, V.; RAGHAVAN, G.S.V. Microwave-assisted drying of biomaterials. **Food and Bioproducts Processing**, v. 85 (C3), p.255-263, 2007.

PAN X.; NIU G.; LIU H. Microwave-assisted extraction of tea polyphenols and tea caffeine from green tea leaves. **Chemical Engineering and Processing**, v. 42, p.129-133, 2003.

PATENTSTORM, (2006). Process of preparing jambu extract, use of said extract, cosmetic compositions comprising thereof and cosmetic products comprising said cosmetic compositions <<http://www.patentstorm.us/applications/20080171003/fulltext.html>> Accessed: November 22, 2012.

PATENTSTORM, (2009). Use of an extract for the botulinum toxin-like effect thereof in an anti-wrinkle cosmetic composition <<http://www.patentstorm.us/patents/7531193/fulltext.html>> Accessed: November 22, 2012.

RAMSEWAK, R.S.; ERICKON, A.J.; NAIR, M.G. Bioactive N-isobutylamides from the flower buds of *Spilanthes Acmella*, **Phytochemistry**, v. 51, p.729-732, 1999.

RATNASOORIYA, W.D.; PIERIS, K.P.P.; SAMARATUNG, U.; JAYAKODY, J.R.A.C. Diuretic activity of *Spilanthes acmella* flowers in rats. **Journal of Ethno-Pharmacology**, v. 91, p.317-320, 2004.

ROSA, G.S. Secagem de PHB – **Polímero biodegradável obtido da cana-de-açúcar – em leite fluidizado pulsado rotativo com aplicação de micro-ondas**. 2012. 186 f. Tese (Doutorado Engenharia Química) – Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas. 2012.

ROSENTHAL, I. **Eletromagnetic radiations in food science**. Berlin: Springer-Verlag, 1992.

ROUTRAY, W.; ORSAT, V. Microwave-assisted extraction of flavonoids: a review. **Food Bioprocess Technol.**, 5, 409-424, 2012.

SACILIK K.; COLAK, A.. Determination of dielectric properties of corn seeds from 1 to 100 MHz. **Powder Technology**, v. 203, p.365-370, 2010.

SANGA, E.; MUJUMDAR, A. S.; RAGHAVAN, G. S. V. Principles and applications of microwave drying. In: MUJUMDAR, A. S. **Drying Technology in Agriculture and Food Sciences**. New York: Elsevier Science Publishers, 2000.

SARAF, D.K.; DIXIT, V.K. *Spilanthes acmella* Murr: Study on its extract spilanthol as larvicidal compound. **Asian J. Exp. Sci.**, v. 16, p.9-19, 2002.

SHARMA, G.P.; PRASAD, S. Dielectric properties of garlic (*Allium sativum* L.) at 2450 MHz as function of temperature and moisture content. **Journal of Food Engineering**, v. 52, p.343-348, 2002.

SHREVE, R.N & BRINK JR., J.A. **Indústrias de processos químicos**. 4ª Ed. Rio de Janeiro: Guanabara, 1997.

SIMAS N.K.; DELLAMORA E.C.L.; SCHRIPISEMA J.; LAGE C.L.S.; OLIVEIRA FILHO A.M.; WESSJOHANN L.; PORZEL A.; KUSTER R.M. Acetylenic 2-phenylethylamides and new isobutylamides from *Acmella oleracea* (L.) R.K. Jansen, a Brazilian spice with larvicidal activity on *Aedes aegypti*. **Phytochemistry Letters**, v. 6, p.67-72, 2013.

SOUZA, M.F.; NERY, P.S.; MANGANOTTI, S.A.; MATOS, C.C.; MARTINS, E.R. Conteúdo de óleo essencial de *Cordia verbenacea* em diferentes horários de coleta. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v. 4, n. 2, p.2672-2675, 2009.

SINGH, M.; CHATURVED, R. Screening and quantification of an antiseptic alkylamide, spilanthol from in vitro cell and tissue cultures of *Spilanthes acmella* Murr. **Industrial Crops and Products**, v. 36, p.321-328, 2012.

SÓLYOM, K.; KRAUS, S.; MATO, R.B.; GAUKEL, V.; SCHUCHMANN, H.P.; COCERO, M.J. Dielectric properties of grape marc: effect of temperature, moisture content and sample preparation method. **Journal of Food Engineering**, v. 119, p.33-39, 2013.

STUART, D.L.; WILLS, R.B. Factors affecting the extraction of alkylamides and cichoric acid during ethanolic processing of *Echinacea purpurea* (L.) Monench. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, v. 40, p.873-877, 2000.

SWAIN M.J., FERRON S., COELHO A.I.P., SWAIN M.V.L. Effect of continuous (intermittente) use on the power output of domestic microwave ovens. **Int. J. Food Sci. Technol.**, v. 41, p.652-656, 2006.

TANAKA, F.; UCHINO, T.; HAMANAKA, D.; ATUNGULU, G.G.; HUNG, Y-C. Dielectric properties of mirin in the microwave frequency range. **Journal of Food Engineering**, v. 89, p.435-440, 2008.

TANG, J. Dielectric properties of foods. In: SCHUBERT, H.; REGIER, M. **The microwave processing of foods**. Cambridge: Woodhead Publishing Limited, 2005.

TERIGAR, B. G.; BALASUBRAMANIAN, S.; BOLDOR, D. An analysis of the microwave dielectric properties of solvent-oil feedstock mixtures at 300 – 3000 MHz. **Bioresource Technology**, v. 101, p.6510-6516, 2010.

TOLOZA, A.C.; ZYGADLO, J.; CUETO, G.M.; BIURRUN, F.; ZERBA, E.; PICOLLO M.I. Fumigant and repellent properties of essential oils and component compounds against Permethrin-Resistant *Pediculus humanus capitis* (Anoplura: Pediculidae) from Argentina. **J. Med. Entomol.**, v. 43, p.889-895, 2006.

TORRES, J.M.; CHÁVEZ, A.G. Alcamidas em plantas: distribuição e importância. **Avance y Perspectiva**, v. 20, p.377-387, 2001.

TSUBAKI, S.; SAKAMOTO, M.; AZUMA, J. Microwave-assisted extraction phenolic compounds from tea residues under autohydrolytic conditions. **Food Chemistry**, v. 123, p.1255-1258, 2010.

TULASIDAS, T.N.; RAGHAVAN, G.S.V.; MUJUMDAR, A.S. Microwave drying of grapes in a single mode cavity at 2450 Mhz – II: Quality and energy aspects. **Drying Technology**, v.13, 1973-1992 p, 1995.

VENKATESH, M.S.; RAGHAVAN, G.S.V. An overview of microwave processing and dielectric properties of agri-food materials. **Biosystems Engineering**, v. 88, p.1-18, 2004.

WANG, J.; ZHANG, J.; WANG, X.; ZHAO, B.; WU, Y.; YAO, J. A comparison study on microwave-assisted extraction of *Artemisia sphaerocephala* polysaccharides with conventional method: molecule structure and antioxidant activities evaluation. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 45, p.483-492, 2009.

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

WANG, Y.; ZHANG, L.; GAO, M.; TANG, J.; WANG, S. Temperature – and moisture – dependent dielectric properties of macadamia nut kernels. **Food and Bioprocess Technology**, v. 6, p.2165-2176, 2013.

WILL, H.; SCHOLZ, P.; ONDRUSCHKA, B. Microwave-assisted heterogeneous gas-phase catalysis. **Chemical Engineering and Technology**, v. 27, p. 113-122, 2004.

YANG, B.; LIU, X.; GAO, Y. Extraction optimization of bioactive compounds crocin, geniposide and total phenolic compounds from *Gardenia gardenia jasminoides* Ellis fruits with response surface methodology. **Innov. Food. Sci. Emerg. Technol.**, v. 10, p. 610-615, 2009.

ZHOU, S.; KOH, H-L; GAO, Y.; GONG, Z-Y; LEE, E.J.D. Herbal bioactivation: the good, the bad and the ugly. **Life Sciences**, v. 74, p.935-968, 2004.

ZHOU, H.; LIU, C. Microwave assisted extraction of solanesol from tobacco leaves. **Journal of Chromatography A**, v. 1129, p.135-139, 2006.