

Extração assistida por ultrassom de compostos antioxidantes de orégano (*Origanum vulgare* L.) utilizando planejamento de experimentos

Ultrasound-assisted extraction composed of antioxidants from oregano (*Origanum vulgare* L.) using experimental design

Extracción asistida por ultrasonido de compuestos antioxidantes del orégano (*Origanum vulgare* L.) mediante diseño experimental

Recebido: 31/10/2022 | Revisado: 28/11/2022 | Aceitado: 07/12/2022 | Publicado: 15/12/2022

Natalya Marques da Silva

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5273-3749>
Universidade Estadual de Maringá, Brasil
E-mail: natalyaengali@outlook.com

Rogério Aleson Dias Bezerra

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4352-6654>
Universidade Estadual de Maringá, Brasil
E-mail: rogerioaleson@hotmail.com

Lainy Waleska de Brito Sodré

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6120-1813>
Universidade Estadual de Maringá, Brasil
E-mail: lainy.brito@hotmail.com

Marcos Antonio Matiucci

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2053-2672>
Universidade Estadual de Maringá, Brasil
E-mail: m.matiucci@hotmail.com

Maria Luiza Rodrigues de Souza

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5643-0841>
Universidade Estadual de Maringá, Brasil
E-mail: mlrsouza@uem.br

Raquel Guttierres Gomes

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2420-5134>
Universidade Estadual de Maringá, Brasil
E-mail: rggomes1716@gmail.com

Andresa Carla Feihrmann

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2389-0467>
Universidade Estadual de Maringá, Brasil
E-mail: andresafeihrmann@gmail.com

Resumo

O orégano (*Origanum vulgare* L.) é uma especiaria mundialmente conhecida e amplamente utilizada como tempero em alimentos, além de ser usado em bebidas e perfumarias. O extrato do orégano desidratado é uma substância rica em compostos bioativos, e destaca-se por suas características antioxidantes e antimicrobianas. A procura por processos otimizados, livre de desperdícios e não prejudiciais ao meio ambiente tem gerado diversas pesquisas, e a técnica de ultrassom é uma técnica promissora que se enquadra nestes requisitos. Neste estudo desenvolveu-se um planejamento experimental de forma a otimizar condições de extração de compostos fenólicos e antioxidantes do orégano desidratado, subtraindo o mesmo à extração assistida por ultrassom, verificando a influência da técnica na extração de compostos. As variáveis independentes foram tempo ($X_1 = 2,5, 6,25$ e 10 min), amplitude ($X_2 = 20, 30$ e 60%) e temperatura ($X_3 = 40, 50$ e 60 °C). As condições ideais obtidas foram tempo 10min, temperatura 60°C, amplitude 20%. Os valores obtidos para compostos fenólicos variaram de 17,17 a 345,14 mg de equivalente de ácido gálico (EAG) L-1 e para os antioxidantes entre 509,37 a 1146,875 mmol de Trolox equivalente/g de extrato.

Palavras-chave: DPPH; Compostos fenólicos; Química verde.

Abstract

Oregano (*Origanum vulgare* L.) is a spice worldwide known and widely used as a seasoning in foods, in addition to being used in beverages and perfumeries. The dehydrated oregano extract is a substance rich in bioactive compounds, and stands out for its antioxidant and antimicrobial characteristics. The search for optimized processes, free of waste and not harmful to the environment has generated several researches, and the ultrasound technique is a promising technique that fits these requirements. In this study, an experimental design was developed to have optimal conditions

for the extraction of phenolic compounds and antioxidants from dehydrated oregano, subtracting the ultrasound-assisted extraction, verifying the influence of the technique in the extraction of compounds. The independent variables were time ($X_1 = 2,5, 6,25$ and 10 min), amplitude ($X_2 = 20, 30$ and 60%) and temperature ($X_3 = 40, 50$ and 60 °C). The ideal conditions obtained were time 10min , temperature 60°C , amplitude 20% . The values obtained for phenolic compounds ranged from 17.17 to 345.14 mg of gallic acid equivalent (GAE) L-1 and for antioxidants from 509.37 to 1146.875 mmol of Trolox equivalent/g of extract.

Keywords: DPPH; Phenolic compounds; Green chemistry.

Resumen

El orégano (*Origanum vulgare* L.) es una especia mundialmente conocida y muy utilizada como condimento en alimentos, además de ser utilizada en bebidas y perfumería. El extracto de orégano deshidratado es una sustancia rica en compuestos bioactivos, y destaca por sus características antioxidantes y antimicrobianas. La búsqueda de procesos optimizados, libres de residuos y no dañinos para el medio ambiente ha generado varias investigaciones, y la técnica de ultrasonido es una técnica prometedora que se ajusta a estos requisitos. En este estudio se desarrolló un diseño experimental para tener condiciones óptimas para la extracción de compuestos fenólicos y antioxidantes del orégano deshidratado, sustrayendo la extracción asistida por ultrasonido, verificando la influencia de la técnica en la extracción de compuestos. Las variables independientes fueron tiempo ($X_1 = 2,5, 6,25$ y 10 min), amplitud ($X_2 = 20, 30$ y 60%) y temperatura ($X_3 = 40, 50$ y 60 °C). Las condiciones ideales obtenidas fueron tiempo 10min , temperatura 60°C , amplitud 20% . Los valores obtenidos para compuestos fenólicos oscilaron entre $17,17$ y $345,14$ mg de ácido gálico equivalente (GAE) L-1 y para antioxidantes entre $509,37$ y $1146,875$ mmol de Trolox equivalente/g de extracto.

Palabras clave: DPPH; Compuestos fenólicos; Química verde.

1. Introdução

O orégano (*Origanum vulgare* L.), é uma planta perene pertencente à família Lamiaceae é considerada uma especiaria, utilizando de suas folhas, comumente secas, como tempero, além de ser adicionada como flavorizante de alimentos, em bebidas alcoólicas e em perfumaria na obtenção de fragrâncias picantes. Conhecido por seu aroma característico, proveniente de seu conteúdo relativamente alto de carvacrol (Cui et al., 2019).

O orégano, especiaria com sabor altamente favorável aos consumidores de todo o mundo, também recebe destaque pelas propriedades antimicrobianas e antioxidantes (de Oliveira Prete et al., 2020) devido os compostos carvacróis, flavonóides e terpenos, tais como apigenina, dihidrocampferol e dihidroquercetina (Mendes et al., 2015). A planta vem ganhando o interesse de muitos grupos de pesquisa como um potente antioxidante para sistemas lipídicos. A presença dos compostos fenólicos em plantas é estudada pelo fato de serem capazes de inibir a oxidação lipídica e proteica, dentre outros fatores como atribuição de atividades farmacológicas e inibição de fungos (Deus et al., 2019).

Os vegetais são princípios de muitos estudos há milhares de anos, principalmente aquelas com alto potencial de atividades biológicas, na maioria dos casos, realizam processos de extração de compostos, para se acrescentar valor ou/e substituir ingredientes de produtos alimentícios, farmacêuticos, estéticos e entre outros (Lutomski et al., 2020). A metodologia selecionada para extração de compostos ativos influencia diretamente nas propriedades final do extrato (Bavaresco et al., 2020).

Pode-se obter o extrato do orégano desidratado via infusão a quente ou a frio, decocção, extração ácida e entre outras, porém há limitações nas técnicas citada para extrair compostos, são sensíveis a extremas temperaturas, a luz, e pode ocorrer a degradação química dos mesmos (Wolff et al., 2019).

A busca por processos nas pesquisas otimizados e que cooperem com o crescimento sustentável e a preservação do meio ambiente tem aumentado cada vez mais. A química verde dispõe de novas condutas durante o processamento e utilização de equipamentos e substâncias químicas com o propósito de diminuir a poluição e os danos provocados por essas práticas (Bezerra, 2020).

Entre as tecnologias atuais de extração, o ultrassom tem sido amplamente reconhecido como ecologicamente correto, barato, rápido e eficiente para extração de fenólicos devido à cavitação acústica causada pela passagem da onda de ultrassom (Souza, 2019). A cavitação acústica consiste na formação, crescimento e colapso de microbolhas na superfície sólida, levando

à corrosão e erosão, resultando na ruptura das paredes celulares, permitindo a penetração do solvente e melhorando a transferência de massa, levando a um aumento do rendimento de extração e encurtando o tempo de extração (Tao, et al., 2014).

A demanda gradativa por aprimoramento de processos, buscando sempre minimizar tempo e custo, maximizar o rendimento, qualidade e produção dos alimentos, tem instigado pesquisadores a explorarem técnicas de planejamento de experimento. O planejamento é usado para obter ótimas condições de experimento, por meio de superfície de resposta, que tem o intuito de analisar os efeitos de múltiplos fatores e encontrar interação entre as respostas obtidas, para encontrar o ponto ótimo de processo (Oliveira et al., 2022).

Com base nessas considerações, desenvolve-se um planejamento de experimento com o objetivo de investigar o efeito do ultrassom na extração de antioxidantes e influência na cor.

2. Metodologia

As amostras de orégano desidratados foram adquiridas em um comércio na cidade de Maringá - PR.

2.1 Planejamento de experimentos

A Tabela 1 apresenta a matriz experimental construída para avaliar a extração de compostos antioxidantes e compostos fenólicos das folhas secas de orégano através de extração ultrassônica.

De acordo com Novaes et al. (2017) um planejamento experimental foi desenhado, onde as variáveis independentes estudadas foram tempo ($X_1 = 2,5, 6,25$ e 10 min), amplitude ($X_2 = 20, 30$ e 60%) e temperatura ($X_3 = 40, 50$ e 60 °C). Foram realizados 8 experimentos e mais 3 pontos centrais.

Tabela 1 - Matriz do desenho experimental com parâmetros reais e codificados.

Variáveis do experimento				Resposta	
	Amplitude (%)	Tempo (min)	Temperatura (°C)	Compostos fenólicos totais mg (EAG) L ⁻¹	DPPH mmol de Trolox equivalente/g
1	20(-1)	2,5(-1)	40(-1)	210,90	1095,63
2	20(-1)	10(+1)	40(-1)	114,63	1100,63
3	40(+1)	2,5(-1)	40(-1)	54,29	509,38
4	40(+1)	10(+1)	40(-1)	84,80	993,13
5	20(-1)	2,5(-1)	60(+1)	234,12	1140,63
6	20(-1)	10(+1)	60(+1)	99,20	1131,88
7	40(+1)	2,5(-1)	60(+1)	345,14	1135,63
8	40(+1)	10(+1)	60(+1)	132,42	1145,63
9	30(0)	6,25(0)	50(0)	26,15	1080,63
10	30(0)	6,25(0)	50(0)	17,51	1144,38
11	30(0)	6,25(0)	50(0)	17,17	1146,88

Fonte: Autores.

2.2 Extração assistida por ultrassom

As extrações foram realizadas em um equipamento ultrassônico com sonda (Eco-sonics/Indaiatuba/SP/Brasil) que permite controlar temperatura e amplitude. O painel digital possibilita controlar a amplitude, onde acontece as vibrações ultrassônicas através da sonda (titânio 13 mm diâmetro). Para cada extração utilizou-se 150mL de água/etanol 50% como

solvente e 5 gramas de folhas secas de orégano. Para prevenir erros sistemáticos os tratamentos foram processados aleatoriamente e após a extração, as amostras foram filtradas e analisadas.

2.3 Análise de teor de compostos fenólicos

Determinou-se o teor de fenólicos conforme o método *Folin-Ciocalteu* (Rodrigues et al., 2020). Preparou-se 200 µL do extrato obtido junto a 1000 µL do reagente *Folin-Ciocalteu* e misturou-o manualmente por aproximadamente 10 segundos e em seguida armazenadas por 6 minutos no escuro. Acrescentou-se a mistura 800 µL de carbonato de sódio a 7,5% (v / v) e acondicionou mais uma vez ao abrigo de luz por 30 minutos, e em seguida leu-se a absorbância em um espectrofotômetro (Agilent UV-8553) a 765 nm. Utilizou-se ácido gálico para estabelecer padrão para a curva de calibração ($R^2 = 0,99$). Expressou-se os resultados em mg de equivalente de ácido gálico (EAG) L⁻¹.

2.4 Análise da atividade antioxidante

Empregou-se o método DPPH para determinar a atividade antioxidante de acordo com (de Oliveira *et al.*, 2021). A priori preparou-se a solução estoque: 0,024 g de DPPH soluto em 100 mL de metanol. Da solução estoque tirou-se 10 mL para fazer a solução trabalho, acrescentando mais 45mL de metanol. Em seguida, em um tubo de ensaio foi adicionado 200 µL de extrato e 800 µL de solução trabalho, reservado ao abrigo da luz por 20 minutos. Após o tempo determinado a absorbância foi medida a 517 nm em espectrofotômetro (Agilent UV-8553). Os dados foram expressos em mmol de Trolox equivalente/g de extrato.

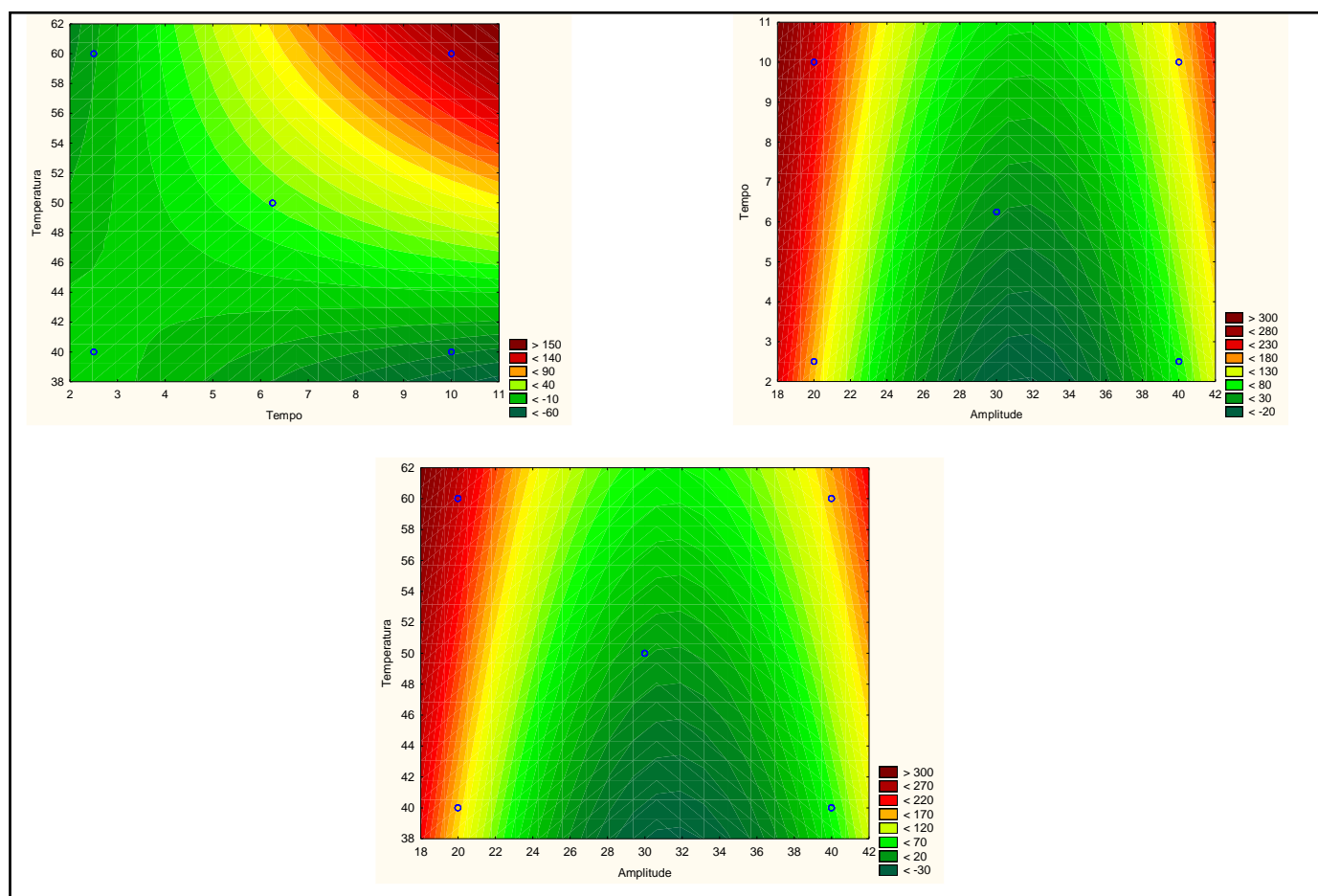
2.5 Análise estatística

As análises foram realizadas em triplicata. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e comparados pelo teste de Tukey a 5% de significância utilizando o software Statistica ® 13.0.

3. Resultados e Discussão

Através das superfícies de resposta demonstradas na Figura 1 foi possível verificar que para extração dos compostos fenólicos foram significativas as variáveis tempo (X1), amplitude (X2) temperatura (X3) e as melhores condições: $R = 0,94$ ($Y = 21,10 + 69,35X_1 - 82,05X_2 + 85,89X_3$), tempo 10 min, temperatura 60 °C e amplitude 20 %. Os valores variaram de 17,17 a 345,14 mg de equivalente de ácido gálico (EAG) L⁻¹ (Tabela 1).

Figura 1 - Superfície de resposta para extração de compostos fenólicos.



Fonte: Autores.

Nota-se a importância significativa da temperatura nos resultados obtidos, e um curto tempo de extração que é muito importante para a pesquisa, otimizando o processo. No trabalho de Nascimento *et al.*, (2020), o aumento da temperatura também influenciou uma melhor extração de compostos fenólicos da casca de barbatimão, o nível máximo de temperatura empregada no estudo foi de (50°C) e resultou no maior conteúdo de compostos fenólicos encontrados.

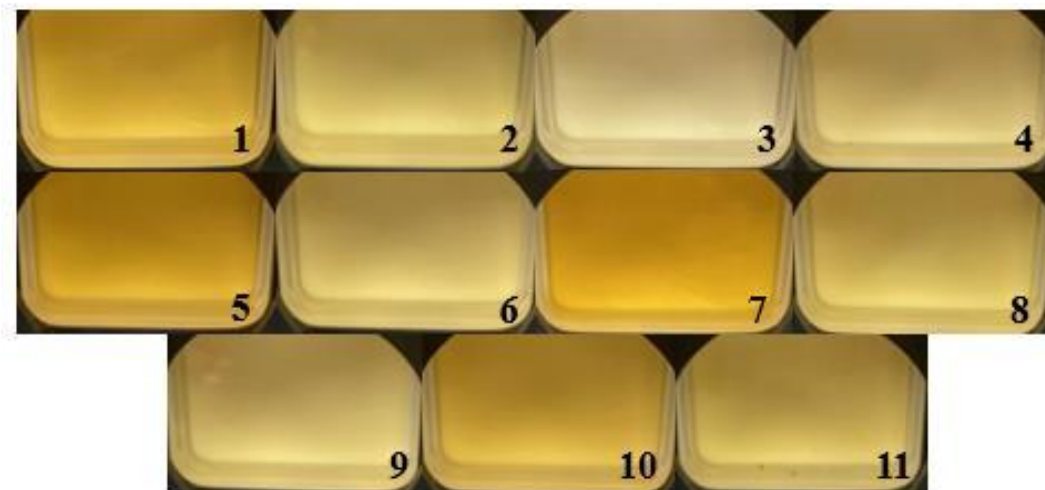
A temperatura ideal é um contribuinte nos resultados, considerando que aumenta a penetração nas paredes celulares dos vegetais, auxiliando no movimento de difusão e transferência de compostos fenólicos (da Silva; Garcia e Franciscato, 2016). Com a elevação da temperatura, aumenta a solubilidade dos fenólicos e diminui a aderência dos extratos, aumentando a extração (Corbin *et al.*, 2015; Dranca & Oroian, 2016; Goula *et al.*, 2017).

Para Silva *et al.* (2016) os extratos fenólicos de cascas de lichia obtidos através da técnica de ultrassom e demonstrados mediante planejamento experimental, o tempo não influenciou em seus resultados ($1232,2 \pm 42,28 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$), mas a temperatura (60 °C) e a concentração do solvente utilizado (etanol 70%) foram significativos. Alguns estudos, como, Mourão *et al.*, (2011); Stefanello *et al.* (2014) e He *et al.* (2016) mostram que quanto maior o tempo de extração maior a quantidade de compostos fenólicos, porém, quando ultrapassam mais que meia hora de extração, há uma estagnada ou diminui o conteúdo de fenólicos.

As pesquisas citadas acima podem afirmar que o tempo (10 min) para extração de vegetais é um excelente tempo, como também foi notado por Tabaraki e Rastgoo (2014); Mattana *et al.* (2015) e Ghitescu *et al.* (2015) ao extrair compostos da casca de noqueira verde, folhas de pariparoba e casca de madeira de abeto, respectivamente. Isso acontece porque os compostos são degradados com muita facilidade, longo período de extração e alta temperatura influenciam nesta degradação.

Na Figura 2 é possível verificar a cor dos extratos obtidos após as extrações do orégano assistido por ultrassom. Nota-se que os experimentos 5 e 7 apresentam a cor amarela mais intensa corroborando com os resultados da Tabela 1, onde esses dois tratamentos apresentaram os maiores valores de compostos fenólicos extraídos.

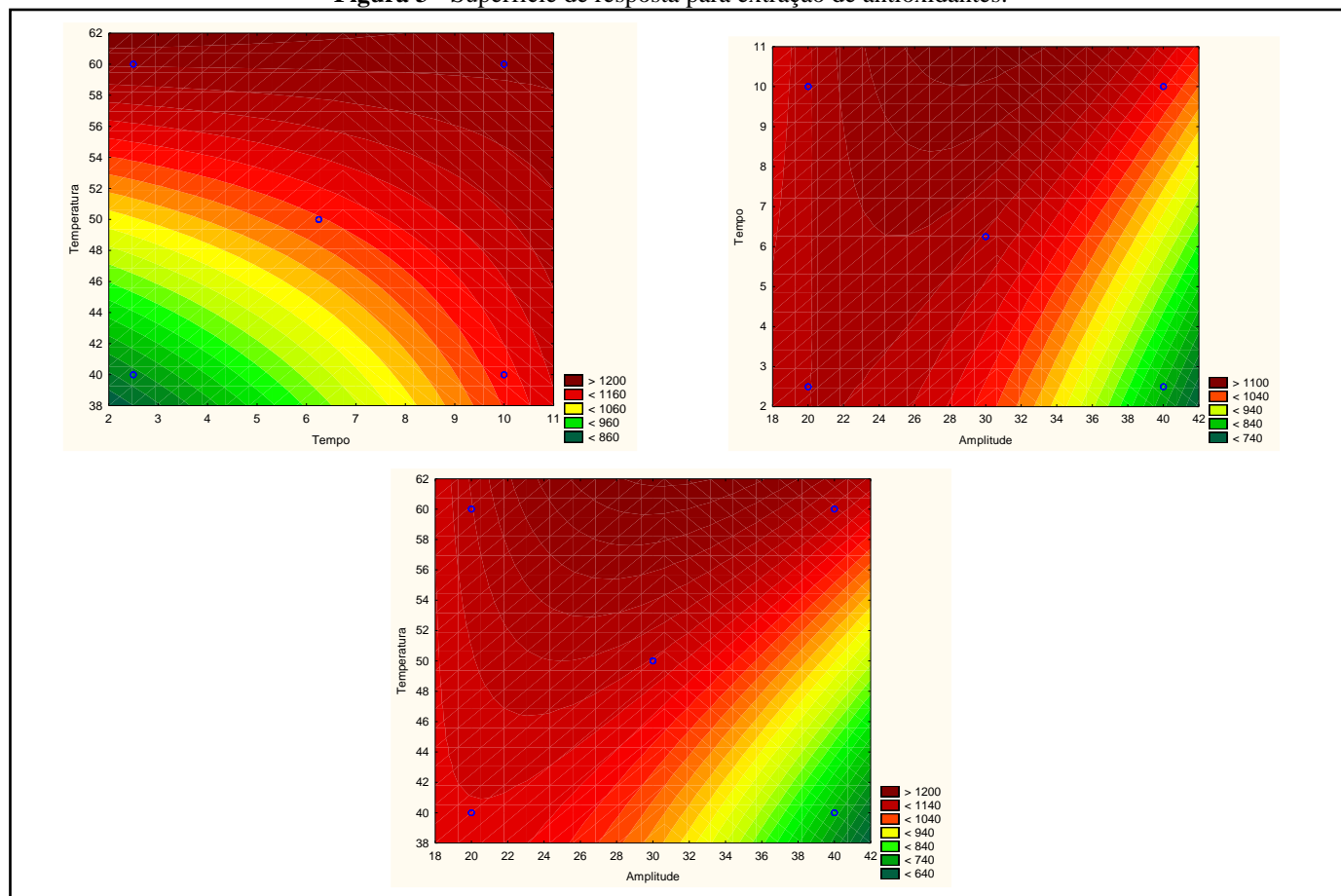
Figura 2 - Cor dos extratos de orégano.



Fonte: Autores.

Para a análise DPPH todas as variáveis foram significativas, tempo (X1), temperatura (X3), amplitude (X2), relação X1X2 e X1X3, e as melhores condições: $R = 0,91$ ($Y = 1117,85 + 120,08X1 - 176,31X2 + 211,78X3 + 123,04X1X2 + 170,91X2X3$). Os resultados obtidos oscilaram entre 509,37 e 1146,875 mmol de Trolox equivalente/g de extrato (Tabela 1). Nota-se na Figura 3 que quanto menor a amplitude melhor os resultados obtidos

Figura 3 - Superfície de resposta para extração de antioxidantes.



Fonte: Autores.

Romanini *et al.*, (2021) demonstraram que o extrato obtido do bagaço de uva por ultrassom apresentou maior capacidade antioxidante quando comparado ao obtido por extração convencional. Portanto, nota-se eficiente a extração de compostos assistida por ultrassom em vegetais. Tal rendimento está relacionado ao sistema de cavitação que é produzido pelas ondas ultrassônicas, provocando cavidades, onde as superfícies sólidas se chocam com as microbolhas causadas pela cavitação, ocasionando a ruptura das células vegetais, favorecendo a dispersão do solvente para o núcleo da matriz (Schons *et al.*, 2017; Shirsath, et al., 2012).

Assim, através das curvaturas das superfícies de resposta, foi possível verificar que, tanto em relação aos compostos como para os antioxidantes, as condições ótimas de extração utilizando ultrassom foram 10 minutos, 20% de amplitude e temperatura de 60 °C. Portanto, é possível verificar que a alta temperatura permite uma melhor extração dos compostos de interesse. No entanto, temperaturas muito altas prejudicam a cavitação, causando redução do rendimento da extração com possível degradação dos compostos extraídos.

Isso demonstra que as condições do processo de extração desses compostos têm forte influência nos resultados obtidos, destacando a importância de estudos dessas variáveis no processo. Há também uma dificuldade em comparar os dados obtidos, devido a inúmeras metodologias diferentes para extração e quantificação de compostos fenólicos e antioxidantes, que interfere diretamente nos resultados (Silva *et al.*, 2019; da Silva *et al.*, 2021).

4. Conclusão

Os resultados expressam que o total de antioxidante e compostos fenólicos obtidos são, claramente influenciados pela temperatura, tempo e técnica de extração empregada, uma vez que a temperatura de 60°C, por 10 minuto combinados a ultrassom demonstrou ideal para extrair tais compostos de orégano desidratado. Em tese a extração assistida por ultrassom mostrou viabilidade para o alcance dos resultados atingidos, atestando a potencialidade da técnica para extrair compostos bioativos. Ressalta-se ainda que o planejamento de experimento foi fundamental para se chegar a esta conclusão, e que por meio das superfícies de respostas pôde-se obter as condições ótimas para se extrair compostos do orégano desidratado (tempo 10min, temperatura 60°C, amplitude 20%), sem desperdício de tempo e material, otimizando o processo.

Referências

- Bavaresco, J. B., Bandeira, M., Raota, C. S., Crespo, J. S., & Giovanela, M. (2020). Síntese verde de nanopartículas de prata a partir do extrato de folhas de erva-mate (*Ilex paraguariensis*). *Scientia cum Industria*, 8(1), 39-45.
- Bender, A., Souza, A. L. K. D., Caliani, V., Malgarim, M. B., Costa, V. B., & Goulart, C. (2020). Caracterização físico-química e sensorial de sucos da uva Isabel em cortes com diferentes variedades produzidas na região do Vale do Rio do Peixe-SC. *Brazilian Journal of Food Technology*, 23.
- Bezerra, F., Da Costa, D., & Koblit, M. (2020). Aproveitamento integral de matérias-primas oleaginosas com “solventes verdes”: Revisão e oportunidades. *Research, Society and Development*, 9(8), E372985388.
- Corbin, C., Fidel, T., Leclerc, E. A., Barakzoy, E., Sagot, N., Falguières, A., ... & Hano, C. (2015). Development and validation of an efficient ultrasound assisted extraction of phenolic compounds from flax (*Linum usitatissimum* L.) seeds. *Ultrasonics Sonochemistry*, 26, 176-185.
- Cui, H., Zhang, C., Li, C., & Lin, L. (2019). Antibacterial mechanism of oregano essential oil. *Industrial Crops and Products*, 139, 111498.
- Da Silva, A. I. B., De Sá-Filho, G. F., De Oliveira, L. C., Guzen, F. P., Cavalcanti, J. R. L. D. P., & Cavalcant, J. D. S. (2021). Perfil fitoquímico de extratos etanólicos e metanólicos do croton blanchetianus/phytochemical profile of ethanolic and methanolic extracts of the " marmeleiro"(croton blanchetianus). *Revista Brasileira Multidisciplinar (ReBram)*, 24(1), 134-143.
- da Silva, C. D., Garcia, V. A. D. S., & Franciscato, L. M. S. S. (2016). Ultrasound assisted extraction of bioactive compounds from litchia peels (litchi ChinensisSonn). *Revista Ciências Exatas e Naturai*, 18, 81-96.
- da Silva, C., Garcia, V. S., & Franciscato, L. S. (2016). Extração assistida por ultrassom de compostos bioativos das cascas de lichia (Litchi chinensis Sonn.). *RECEN-Revista Ciências Exatas e Naturais*, 18(1), 81-96.
- de Oliveira Prete, R., Serafim, R. Â., de Souza, D. D. F. M., Sakanaka, L. S., & Yamaguchi, M. M. (2020). Caracterização e aplicação de óleo de orégano como antioxidante natural em linguiça suína frescal. *Brazilian Journal of Development*, 6(7), 44109-44118.
- de Oliveira, M. G., Batista, M. O., & Ramos, D. V. B. (2021). Avaliação da atividade antioxidante da Bauhinia splendens pelo método DPPH. *Brazilian Journal of Development*, 7(12), 112714-112725.
- Deus, V. L., Santos, A. P. C., Walker, J. F., Neta, L. S., & Souza, L. S. (2019). Compostos fenólicos em hortaliças cultivadas nos sistemas convencional e orgânico: uma revisão. *Brazilian Journal of Health and Pharmacy*, 1(1), 70-84.
- Dranca, F., & Oroian, M. (2016). Optimization of ultrasound-assisted extraction of total monomeric anthocyanin (TMA) and total phenolic content (TPC) from eggplant (*Solanum melongena* L.) peel. *Ultrasonics sonochemistry*, 31, 637-646.
- Ghitescu, R. E., Volf, I., Carausu, C., Bühlmann, A. M., Gilca, I. A., & Popa, V. I. (2015). Optimization of ultrasound-assisted extraction of polyphenols from spruce wood bark. *Ultrasonics sonochemistry*, 22, 535-541.
- Goula, A. M., Ververi, M., Adamopoulou, A., & Kaderides, K. (2017). Green ultrasound-assisted extraction of carotenoids from pomegranate wastes using vegetable oils. *Ultrasonics sonochemistry*, 34, 821-830.
- He, B., Zhang, L. L., Yue, X. Y., Liang, J., Jiang, J., Gao, X. L., & Yue, P. X. (2016). Optimization of ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds and anthocyanins from blueberry (*Vaccinium ashei*) wine pomace. *Food chemistry*, 204, 70-76.
- Lutowski, P., Gozdzińska, M., & Florek-Luszczki, M. (2020). Health properties of yerba mate. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, 27(2).
- Mattana, R. D. S., Maia e Almeida, C. I., Oliveira, P. F. C. D., Lima, L. P., Haber, L. L., Ming, L. C., & Marques, M. O. M. (2015). Efeitos de diferentes tempos de extração no teor e composição química do óleo essencial de folhas de pariparoba [*Pothomorphe umbellata* (L.) Miq.]. *Revista Brasileira de Plantas Medicinais*, 17, 150-156.
- Mendes, G. M., Rodrigues-Das-Dores, R. G., & Campideli, L. C. (2015). Avaliação do teor de antioxidantes, flavonoides e compostos fenólicos em preparações condimentares. *Revista Brasileira de Plantas Medicinais*, 17, 297-304.
- Mourão, F., Umeo, S. H., Takemura, O. S., Linde, G. A., & Colauto, N. B. (2011). Antioxidant activity of *Agaricus brasiliensis* basidiocarps on different maturation phases. *Brazilian Journal of Microbiology*, 42, 197-202.

- Nascimento, K. M., da Silva, L. A., Cavalheiro, J. B., Madrona, G. S., da Silva Scapim, M. R., & de Cássia Bergamasco, R. (2020). Otimização das condições de extração para compostos bioativos em barbatimão (*Stryphnodendron Adstringens* (Mart.) Coville) usando metodologia de superfície de resposta. *Brazilian Journal of Development*, 6(5), 24882-24898.
- Novaes, C. G., Yamaki, R. T., De Paula, V. F., do Nascimento Júnior, B. B., Barreto, J. A., Valasques, G. S., & Bezerra, M. A. (2017). Otimização de métodos analíticos usando metodologia de superfícies de resposta-Parte I: variáveis de processo. *Revista Virtual Química*, 9(3), 1284-1215.
- Oliveira, F. C., Guerra, W. D., Chiesa, J. E. G., de Souza Dias, I., Vieira, A. T., da Silva Borges, W., ... & Batista, A. C. F. (2022). Otimização de produção de biomassa para extração lipídica utilizando estirpes da microalga *Scenedesmus* sp. *Research, Society and Development*, 11(1), e9211124494-e9211124494.
- Rodrigues, L. M., Romanini, E. B., Silva, E., Pilau, E. J., da Costa, S. C., & Madrona, G. S. (2020). Camu-camu bioactive compounds extraction by ecofriendly sequential processes (ultrasound assisted extraction and reverse osmosis). *Ultrasonics sonochemistry*, 64, 105017.
- Romanini, E. B., Rodrigues, L. M., Finger, A., Chierrito, T. P. C., da Silva Scapim, M. R., & Madrona, G. S. (2021). Ultrasound assisted extraction of bioactive compounds from BRS Violet grape pomace followed by alginate-Ca²⁺ encapsulation. *Food Chemistry*, 338, 128101.
- Schons, J. I., Fiori, K. P., Ribeiro, E. B., Andrighetti, C. R., Nogueira, R., & Valladão, D. D. S. (2017). Ultrasound-assisted extraction and characterization of oil from Brazil nut (*Bertholletia excelsa* HBK). *Interciencia*, 42(9), 586-590.
- Shirsath, S. R., Sonawane, S. H., & Gogate, P. R. (2012). Intensification of extraction of natural products using ultrasonic irradiations. A review of current status. *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification*, 53, 10-23.
- Souza, I. H. D. S., Nogueira, J. P., Barbosa, M. S., Leite Neta, M. T. S., & Narain, N. (2019). Influência da torrefação no rendimento de óleo de sementes de melão obtido por extração assistida por ultrassom. *Hig. alim.*, 1482-1486.
- Stefanello, F. S., Cavalheiro, C. P., Ludtke, F. L., Silva, M. S. D., Milani, L. I. G., & Kubota, E. H. (2016). Efeito da extração de compostos fenólicos sobre a atividade antioxidante e antibacteriana in vitro de cogumelo-do-sol. *Arquivos do Instituto Biológico*, 83.
- Tabaraki, R., & Rastgoo, S. (2014). Comparison between conventional and ultrasound-assisted extractions of natural antioxidants from walnut green husk. *Korean Journal of Chemical Engineering*, 31(4), 676-683.
- Tao, Y., Zhang, Z., & Sun, D. W. (2014). Kinetic modeling of ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from grape marc: Influence of acoustic energy density and temperature. *Ultrasonics Sonochemistry*, 21(4), 1461-1469.
- Wolff, S. M., da Silveira, A. C., & Lazzarotto, M. (2019). *Metodologia para extração de fenólicos totais e antioxidantes da erva-mate*. Embrapa Florestas-Artigo em periódico indexado (ALICE).