Journal of Biology & Pharmacy and Agricultural Management
Revista de Biologia & Farmácia e Manejo Agrícola
ISSN: 1983-4209

UEPB

eduepb
Editora da Universidade Estadual da Paraíba

Artigo

Comparação de métodos extrativos de compostos fenólicos com potencial antioxidante das folhas de *Plinia cauliflora* (DC.) Kausel (Jabuticaba)

Mariana Hauck Vianna [1], Ana Júlia de Almeida Silva [1], Núbia Benini Andrade [1], Júlia Bertolini Fajardo [1] e Rodrigo Luiz Fabri [1,*]

[1] Laboratório de Bioensaios, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, MG; mariana.hauck@estudante.ufjf.br
* Correspondence: rodrigo.fabri@ufjf.br; Tel.: +55 32 2102-3208/ 3230

Resumo: A busca por ativos vegetais com ação antioxidante tem crescido, destacando-se a *Plinia cauliflora* (jabuticabeira), rica em compostos fenólicos. A eficiência na extração desses compostos influencia diretamente sua viabilidade comercial, tornando relevante a comparação entre técnicas convencionais, como a maceração estática, e alternativas, como a extração assistida por ultrassom (EAU). Este estudo teve como objetivo comparar a eficácia dessas duas técnicas na extração de compostos fenólicos com potencial antioxidante das folhas de *P. cauliflora*. As folhas foram submetidas a extração com etanol a 30%, 50% e 70%, em diferentes tempos (15, 25, 30 minutos e 24 horas) e proporções planta/solvente (1:15, 1:20, 1:25 e 1:60). A eficiência foi avaliada por meio da dosagem de compostos fenólicos totais e da atividade antioxidante pelo método DPPH. Os teores fenólicos variaram entre 18,37 ± 1,00 e 105,23 ± 4,40 μg/mg, enquanto os valores de CI_{50} oscilaram entre 1,6385 ± 0,04 e 6,52 x 10^{-7} ± 0,0000003. As amostras obtidas por EAU apresentaram maiores teores fenólicos e melhor atividade antioxidante em comparação à maceração. Observou-se que, na EAU, o tempo teve menor influência, enquanto a concentração de etanol e a proporção planta/solvente foram determinantes. Conclui-se que a EAU é mais eficiente e sustentável, pois consome menos solvente e reduz o tempo de extração, representando uma alternativa promissora para obtenção de compostos bioativos de interesse industrial.

Palavras-chave: extração assistida por ultrassom; maceração estática; técnicas extrativas.

Editor: Carlos Henrique Salvino

Recebido: 01/06/2025
Revisado: 01/08/2025
Aceito: 05/09/2025
Publicado: 05/09/2025

Copyright: © 2025 by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

1. Introdução

Os bioativos vegetais extraídos de fontes naturais têm ganhado destaque crescente na pesquisa científica e nas indústrias farmacêutica, cosmética e alimentícia, sobretudo por suas comprovadas propriedades antioxidante e antimicrobiana [1]. Esse interesse é impulsionado não apenas pela sua eficácia, mas também pela busca por alternativas mais seguras, sustentáveis e biocompatíveis frente aos ativos sintéticos convencionais.

De modo geral, os principais responsáveis por tais atividades são os compostos fenólicos, amplamente distribuídos em diversas espécies vegetais, com destaque para membros da família Myrtaceae, como a jabuticaba [2]. *Plinia cauliflora* (DC.) Kausel (jabuticabeira) se destaca nesse cenário por apresentar uma composição particularmente rica em taninos e fenóis. Diversos estudos, incluindo ensaios pré-clínicos, têm demonstrado tanto a eficácia quanto a baixa toxicidade associadas ao uso farmacológico de seus extratos [3,4,5].

Tradicionalmente, a espécie é conhecida pelo consumo e processamento dos seus frutos, sendo estes os maiores alvos de pesquisas atuais [6]. Os principais ativos dessa espécie

são obtidos a partir de extratos hidroalcoólicos ou etanólicos por meio da técnica de maceração estática [5,6]. A maceração estática, assim como a hidrodestilação, infusão, percolação e a decocção, são técnicas convencionais, utilizadas para extrair compostos bioativos [7]. Dentre essas, a maceração destaca-se por ser amplamente adotada, consistindo na imersão do material vegetal em um solvente apropriado, sob tempo controlado, podendo ocorrer com ou sem agitação [1,8,9]. Apesar de ser uma técnica de fácil execução e de baixa demanda tecnológica, apresenta limitações relevantes, como a baixa eficiência de extração e a geração de resíduos que podem impactar negativamente o meio ambiente [1,10].

Ademais, para viabilizar a aplicação industrial desses extratos, é imprescindível considerar parâmetros como tempo de extração, custo e rendimento, os quais são determinantes para a adequação dos processos às exigências do mercado [11]. Frente a essas limitações técnicas e ambientais, surgem as chamadas técnicas extrativas não convencionais, que se propõem a oferecer maior eficiência e menor impacto ambiental [12]. Algumas técnicas como a extração por micro-ondas, fluído supercrítico ou a extração assistida por ultrassom (EAU) são destacadas como uma alternativa promissora [13,14].

A EAU baseia-se no princípio da cavitação acústica, no qual ondas ultrassônicas induzem vibrações capazes de aumentar a pressão no interior do líquido, provocando a formação e o colapso de microbolhas. Esse processo rompe as paredes celulares do material vegetal, reduz o tamanho das partículas e favorece a liberação de compostos bioativos para o solvente [15,16]. Essa intensificação da interação entre soluto e solvente resulta em uma extração mais rápida e eficiente, com menor consumo de solvente e redução do tempo de processamento. Além disso, a EAU pode ser realizada em temperaturas mais baixas, o que é vantajoso para preservar compostos termossensíveis [17]. Estudos demonstram que essa técnica é eficaz na obtenção de extratos ricos em compostos bioativos com atividade antioxidante e antimicrobiana, uma vez que a sonicação promove a ruptura celular e consequente liberação do conteúdo intracelular [17,18].

Diante da crescente demanda por processos de obtenção de compostos ativos que sejam mais eficientes e ambientalmente responsáveis, esta pesquisa tem como objetivo avaliar de forma comparativa a extração de compostos fenólicos, com potencial antioxidante, das folhas de *P. cauliflora* (jabuticaba), por meio da aplicação de uma técnica não convencional, a extração assistida por ultrassom (EAU) e a aplicação de uma técnica convencional, a maceração estática.

2. Resultados

Após a realização das diferentes extrações, todas as amostras foram analisadas quanto ao teor de compostos fenólicos totais e capacidade antioxidante. As amostras foram classificadas de acordo com a técnica utilizada, bem como o tempo e temperatura. As amostras A1 e A2, foram obtidas por maceração estática, em temperatura ambiente, na proporção de solvente e planta de 1:60, utilizando etanol 70%, no tempo de 30 minutos para amostra A1 e de 24 horas para a amostra A2. As amostras de A3 a A7 foram obtidas utilizando a técnica de ultrassom, na proporção de 1:60 e temperatura de 30 ± 1 °C. A amostra A3 utilizou etanol 30% e foi extraída durante 15 minutos, a amostra A4 etanol 30% durante 25 minutos, a amostra A5 etanol 30% por 30 minutos, a amostra A6 etanol 50% por 25 minutos e a amostra A7 etanol 70% por 25 minutos. As amostras A8, A9 e A10 também foram obtidas utilizando a técnica de ultrassom, na temperatura de 30 ± 1 °C, com etanol 50% e durante 25 minutos. Entre as amostras variou apenas a proporção de planta e solvente, sendo a amostra A8 na proporção de 1:15, a amostra A9 na proporção de 1:20 e a amostra A10 na proporção de 1:25.

Em relação ao teor de compostos fenólicos, conforme demonstrado na Figura 1, a amostra A1 apresentou 18,37 ± 1,00 μg/mg de compostos fenólicos, enquanto a amostra A2 apresentou um teor de 26,65 ± 1,88 μg/mg, com diferença estatisticamente significativa

entre os teores obtidos nas amostras (p<0,05). Sabe-se que, na técnica de maceração estática, o tempo de contato entre o solvente e o material vegetal é um fator determinante para a liberação dos compostos bioativos.

Considerando as diferentes amostras extraídas por EAU, que variam o tempo de extração (A3, A4 e A5), a proporção de etanol (A6 e A7) e a proporção de planta e solvente (A8, A9 e A10), todas obtiveram resultados com maiores teores de compostos fenólicos, com diferenças estatísticas significativa (p<0,05) em relação as amostras extraídas por maceração estática. Esses resultados apontam uma maior eficácia extrativa utilizando a técnica EAU do que a maceração estática.

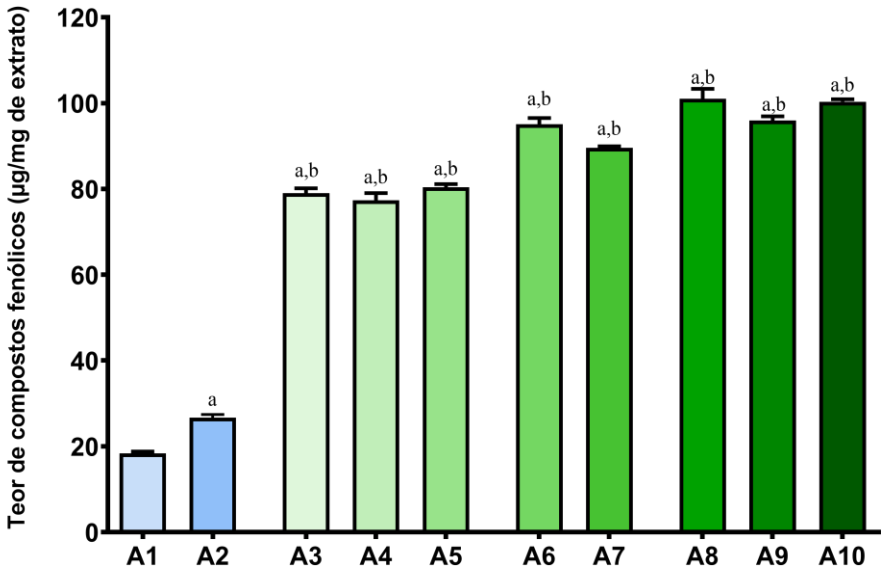


Figura 1. Teor de compostos fenólicos nas amostras. Análise estatística realizada pelo teste ANOVA, seguido do teste de Bonferroni ($p < 0,05$), onde a - Diferença estatisticamente significativa em relação a A1, b- Diferença estatisticamente significativa em relação a A2. Sendo: A1–A2: Maceração estática (1:60, EtOH 70%, temp. ambiente), 30 min e 24 h, respectivamente; A3–A5: EAU (1:60, EtOH 30%, 30 ± 1 °C), 15, 25 e 30 min, respectivamente; A6–A7: EAU (1:60, 30 ± 1 °C, 25 min), EtOH 50% e 70%, respectivamente; A8–A10: EAU (EtOH 50%, 25 min, 30 ± 1 °C), proporções 1:15, 1:20 e 1:25, respectivamente.

Em relação às amostras extraídas por extração assistida por ultrassom (EAU) variando o tempo de exposição ao ultrassom, a amostra A3 apresentou teor de compostos fenólicos de 78,98 ± 1,99 µg/mg; a amostra A4, de 79,87 ± 2,91 µg/mg; e a amostra A5, de 80,38 ± 1,23 µg/mg (Figura 2). A análise estatística dos resultados indicou ausência de diferença significativa entre os teores obtidos, sugerindo que pequenas variações no tempo de extração não influenciam de forma relevante o rendimento de compostos fenólicos (p<0,05). Porém as amostras se diferenciam significativamente, em relação as amostras extraídas por maceração estática, apontando uma maior eficiência por esta técnica.

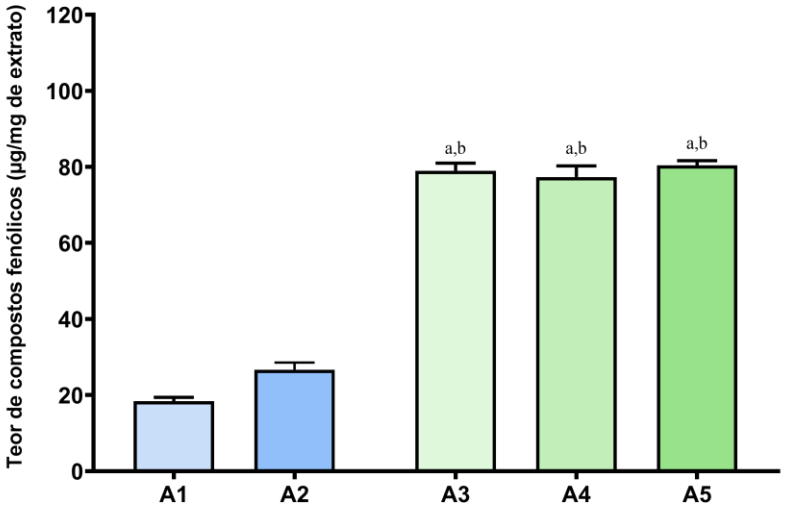


Figura 2. Teor de compostos fenólicos nas amostras extraídas por EAU variando o tempo. Análise estatística realizada pelo teste ANOVA, seguido do teste de Bonferroni ($p < 0,05$), onde a - Diferença estatisticamente significativa em relação a A1, b- Diferença estatisticamente significativa em relação a A2. Sendo: A1–A2: Maceração estática (1:60, EtOH 70%, temp. ambiente), 30 min e 24 h, respectivamente; A3–A5: EAU (1:60, EtOH 30%, 30 ± 1 °C), 15, 25 e 30 min, respectivamente; A6–A7: EAU (1:60, 30 ± 1 °C, 25 min), EtOH 50% e 70%, respectivamente; A8–A10: EAU (EtOH 50%, 25 min, 30 ± 1 °C), proporções 1:15, 1:20 e 1:25, respectivamente.

As amostras A6 e A7 também foram submetidas à EAU, porém com variação na proporção de etanol como solvente extrator. A amostra A6, utilizando etanol a 50%, apresentou teor de compostos fenólicos de 95,05 ± 2,92 µg/mg, enquanto a A7, utilizando etanol a 70%, obteve 89,62 ± 0,55 µg/mg (Figura 3). A análise estatística aponta que esses resultados são estatisticamente superiores ($p<0,05$) àqueles obtidos para a amostra A4, a qual possuí os mesmos parâmetros de tempo de extração e proporção de planta, porém utilizava uma solução etanólica a 30%. Esses dados indicam que o aumento da concentração de etanol favorece a extração de compostos fenólicos, possivelmente devido à maior afinidade do solvente pela matriz vegetal.

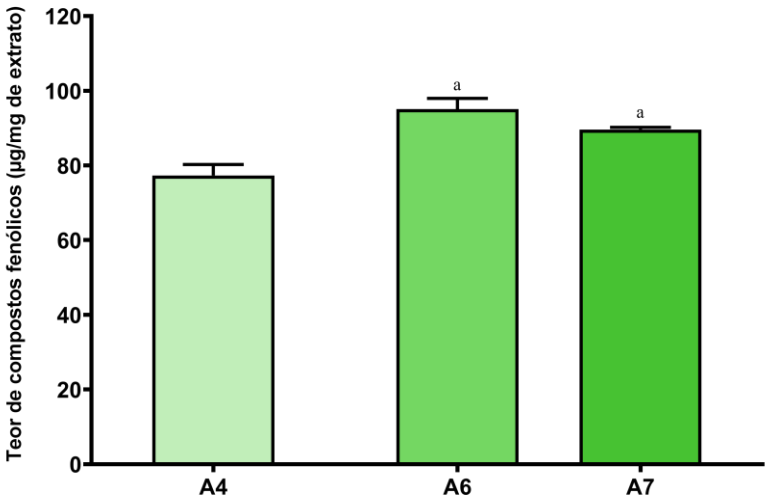


Figura 3. Teor de compostos fenólicos nas amostras extraídas por EAU, variando a proporção de etanol. Análise estatística realizada pelo teste ANOVA, seguido do teste de Bonferroni ($p < 0,05$), onde a - Diferença estatisticamente significativa em relação a A4. Sendo: A1–A2: Maceração estática (1:60, EtOH 70%, temp. ambiente), 30 min e 24 h, respectivamente; A3–A5: EAU (1:60, EtOH 30%,

30 ± 1 °C), 15, 25 e 30 min, respectivamente; A6–A7: EAU (1:60, 30 ± 1 °C, 25 min), EtOH 50% e 70%, respectivamente; A8–A10: EAU (EtOH 50%, 25 min, 30 ± 1 °C), proporções 1:15, 1:20 e 1:25, respectivamente.

As amostras A8, A9 e A10 mantiveram os parâmetros centrais de tempo e porcentagem de etanol, alterando-se apenas a proporção entre o material vegetal e o solvente. A amostra A8, extraída com uma proporção de 1:15, apresentou teor de compostos fenólicos de 105,23 ± 4,40 μg/mg, enquanto A9 com a proporção de 1:20, registrou 97,05 ± 2,06 μg/mg e A10 com a proporção de 1:25 obteve 100,05 ± 1,96 μg/mg (Figura 4). A análise estatística dos dados revelou que não houve diferença significativa entre os teores obtidos ($p<0,05$), indicando que a variação da proporção planta/solvente dentro dos intervalos testados não afetou significativamente o rendimento de compostos fenólicos. Contudo, em comparação a amostra A6, que utilizava dos mesmos parâmetros, porém uma proporção de 1:60, as amostras A8 e A10 foram superiores ($p<0,05$).

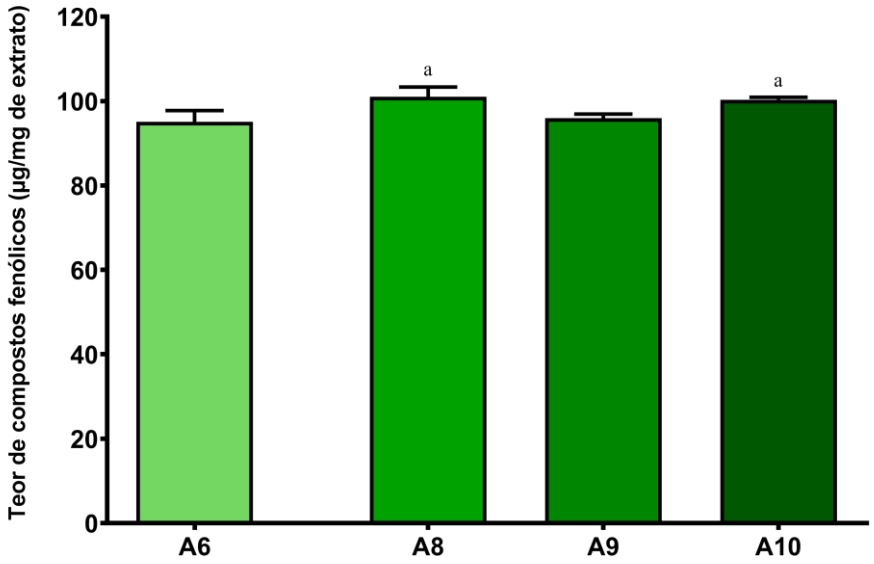


Figura 4. Teor de compostos fenólicos nas amostras variando a proporção de planta e solvente. Análise estatística realizada pelo teste ANOVA, seguido do teste de Bonferroni ($p < 0,05$), onde a - Diferença estatisticamente significativa em relação a A6. Sendo: A1–A2: Maceração estática (1:60, EtOH 70%, temp. ambiente), 30 min e 24 h, respectivamente; A3–A5: EAU (1:60, EtOH 30%, 30 ± 1 °C), 15, 25 e 30 min, respectivamente; A6–A7: EAU (1:60, 30 ± 1 °C, 25 min), EtOH 50% e 70%, respectivamente; A8–A10: EAU (EtOH 50%, 25 min, 30 ± 1 °C), proporções 1:15, 1:20 e 1:25, respectivamente.

O DPPH é um radical livre estável que, ao entrar em contato com substâncias capazes de doar átomos de hidrogênio, sofre redução [19]. Nesse ensaio, considera-se que quanto maior a redução do DPPH, maior será a atividade antioxidante da amostra, resultando em menores valores de CI_{50}. Portanto, quanto menor os valores de CI_{50}, menor a concentração necessária da substância antioxidante para inibir em 50% a atividade do radical DPPH.

Neste teste, as amostras extraídas por maceração estática (A1 e A2) apresentaram valores de CI_{50} de 1,6385 ± 0,04 e 0,7453 ± 0,01, respectivamente. Por outro lado, as amostras obtidas por extração assistida por ultrassom (EAU) apresentaram valores consideravelmente menores. As amostras variando tempo, tiveram valores de CI_{50} de 0,6517 ± 0,00 para A3, 0,5674 ± 0,01 para A4, 0,5111 ± 0,02 para A5. Já as amostras que variaram porcentagem de etanol tiveram CI_{50} de 0,4728 ± 0,03 em A6 e 0,6063 ± 0,04 em A7. Por fim, as amostras que variaram proporção de planta e solvente, tiveram os menores valores de CI_{50}, sendo de $5,34 \times 10^{-6}$ ± 0,000001 para A8, $8,67 \times 10^{-6}$ ± 0,0000005 para A9 e $6,52 \times 10^{-7}$ ± 0,0000003 para A10 conforme demonstrado na Figura 5. Os valores de CI_{50} das amostras

A8, A9 e A10 foram os menores que os demais e por este motivo não podem ser observados na representação gráfica.

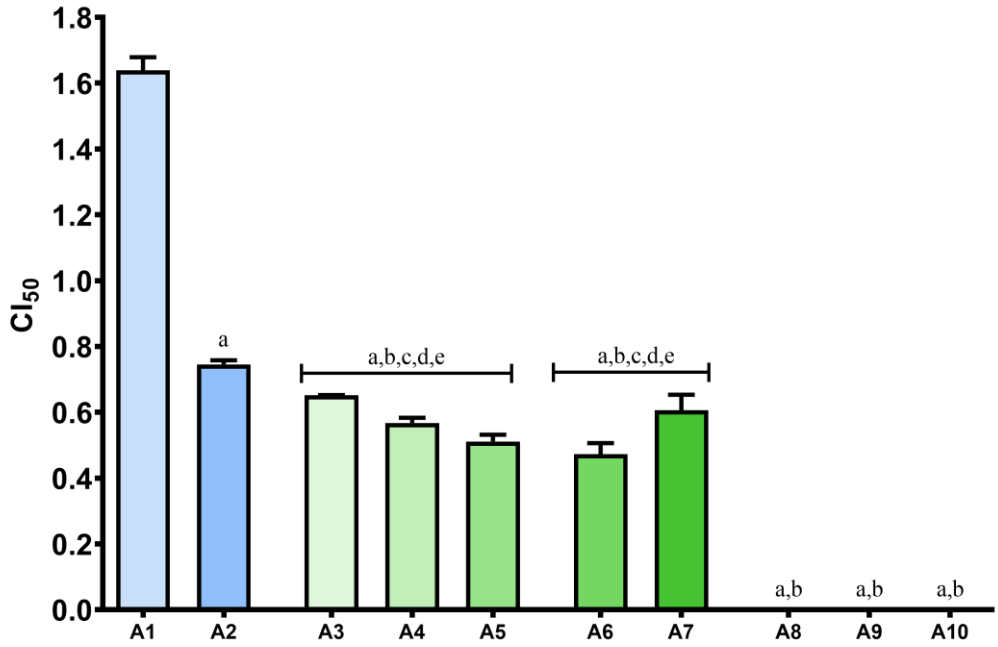


Figura 5. Valores de CI_{50} das amostras no teste de DPPH. Análise estatística realizada pelo teste ANOVA, seguido do teste de Bonferroni ($p < 0,05$), sendo a- diferença estatisticamente significativa em relação a A1, b- diferença estatisticamente significativa em relação a A2, c- diferença estatisticamente significativa em relação a A8, d- diferença estatisticamente significativa em relação a A9, e- diferença estatisticamente significativa em relação a A10. Sendo: A1–A2: Maceração estática (1:60, EtOH 70%, temp. ambiente), 30 min e 24 h, respectivamente; A3–A5: EAU (1:60, EtOH 30%, 30 ± 1 °C), 15, 25 e 30 min, respectivamente; A6–A7: EAU (1:60, 30 ± 1 °C, 25 min), EtOH 50% e 70%, respectivamente; A8–A10: EAU (EtOH 50%, 25 min, 30 ± 1 °C), proporções 1:15, 1:20 e 1:25, respectivamente.

A análise estatística aponta que todas as amostras extraídas por ultrassom apresentaram atividade antioxidante superior às obtidas por maceração estática, pois apresentam menores resultados de CI_{50}, todos com diferença significativa em relação a A1 e A2 ($p<0,05$). Esses resultados indicam maior eficiência do método EAU na preservação ou extração de compostos antioxidantes. Além disso, as amostras A8, A9 e A10, apresentam diferença estatística em relação as outras amostras extraídas por ultrassom indicando que esse a alteração na proporção de planta e solvente afeta significativamente a liberação de compostos antioxidantes no meio.

Os valores reduzidos nas amostras A8, A9 e A10 indicam elevada eficácia antioxidante, uma vez que pequenas quantidades dos extratos foram suficientes para reduzir os radicais DPPH. Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre essas três amostras, o que sugere que nesta faixa de proporção de planta e solvente, seus potenciais antioxidantes são semelhantes ($p<0,05$).

De forma geral, os resultados obtidos indicam que a extração assistida por ultrassom (EAU) é mais eficiente na obtenção de compostos com atividade antioxidante a partir da matriz vegetal. Além disso, a variação no parâmetro de proporção entre planta e solvente demonstrou melhorar significativamente a liberação desses compostos.

3. Discussão

O objetivo principal de um método extrativo é conseguir retirar do material vegetal o maior volume possível de compostos bioativos, em menor tempo e menor custo. A obtenção de compostos fenólicos a partir de fontes vegetais representa uma estratégia promissora para o desenvolvimento de produtos com apelo funcional e natural, fortemente valorizados pelas indústrias farmacêutica e cosmética [3,4,5]. As folhas de *Plinia cauliflora* são ricas em compostos fenólicos como a quercetina, rutina, ácido gálico, ácido elágico, entre outros, os quais apresentam elevada atividade antioxidante e diversas aplicações no mercado farmacêutico, cosmecêutico e alimentício [6].

Comparando os dois métodos, observou-se que a EAU promoveu um aumento expressivo no teor de compostos fenólicos, alcançando valores até 5 vezes superiores aos obtidos por maceração. Esse resultado é compatível com as diferentes técnicas para extração de compostos ativos empregadas pelas diferentes metodologias. Na EAU, as ondas ultrassônicas produzem vibrações, as quais aumentam a pressão do solvente e ocasionam a ruptura das paredes celulares do material vegetal [15,16]. No caso da maceração estática, o solvente permanece apenas em contato com o material vegetal. Essa ruptura das paredes celulares, causada na EAU, permite uma maior interação do solvente com a planta e por consequência uma extração mais efetiva. Este aspecto também contribui para a sustentabilidade do processo, ao demandar menor consumo energético e reduzir o tempo operacional, o que é particularmente vantajoso em processos industriais.

Outro aspecto importante é que as extrações por EAU demonstraram resultados superiores e maior eficiência em comparação à maceração estática, mesmo com um tempo de extração significativamente menor. Os resultados indicam que ao adicionar a amostra em contato com o solvente no equipamento, após alguns minutos são obtidos teores de compostos fenólicos superiores a amostra que permaneceu em maceração estática durante 24 horas. Essa superioridade em termos de tempo também se deve aos efeitos da cavitação gerada pelas ondas ultrassônicas sobre o material vegetal [15,16].

Além disso, os resultados obtidos com técnica de EAU possuem temperatura controlada, diferente dos resultados obtidos com a maceração estática, em temperatura ambiente. Pesquisas semelhantes apontam que a temperatura também influencia de forma positiva, pois o aumento de temperatura aumenta a permeabilidade da parede da célula vegetal, e por consequência melhora a transferência dos compostos fenólicos [20].

Todas as superioridades apontadas pela extração por ultrassom em relação a maceração estática são potencializadas pelo fato de que o uso de solvente se torna muito menor. Alinhando-se aos requisitos de um processo extrativo mais sustentável, menos oneroso e mais eficaz. Por isso, esse método pode ser considerado mais sustentável e economicamente viável do que a maceração, estando alinhado com os princípios de química verde.

Em relação aos parâmetros avaliados no EAU, pode-se observar que o tempo pouco impacta em maiores teores de compostos fenólicos. Os resultados obtidos com as amostras A3, A4 e A5 indicam que pequenas variações no tempo (15, 25 e 30 minutos) não influenciaram significativamente no rendimento de compostos fenólicos. Esses resultados são coerentes com os encontrados na literatura, onde o tempo de extração não apresenta efeito significativo na maior liberação de compostos fenólicos [21,22]. Além disso, longos períodos de extração podem causar a oxidação de compostos fenólicos e por consequência, reduzir a eficácia extrativa [23,24]. Ademais, a obtenção de resultados significativos em pouco tempo reforça a rapidez para obtenção do extrato, fundamental para a escala industrial.

A variação na proporção de planta, com os demais parâmetros fixados, evidenciou um aumento nos teores de compostos fenólicos. Indicando que o aumento do material vegetal contribui de forma direta para o aumento da concentração de compostos fenólicos extraídos. Sabe-se que um dos fatores mais importantes durante o processo extrativo é a relação soluto e solvente, pois este parâmetro influencia diretamente na transferência de compostos ativos [25].

Outro parâmetro avaliado no EAU, foi a variação na concentração de etanol utilizada como solvente extrator. Observou-se que a elevação da proporção de etanol resultou em aumento significativo no teor de compostos fenólicos. Esse fato pode ser justificado pela ação do etanol, que acelera a transferência de massa para o meio líquido e melhora a solubilidade entre os compostos fenólicos [26,27,28] Khan e colaboradores (2010), encontraram resultados semelhantes com a extração de compostos fenólicos de cascas de laranja [22].

O solvente tem um papel importante durante os processos extrativos. Em um cenário ideal para a obtenção de extratos aplicáveis ao desenvolvimento de fármacos ou cosméticos, o solvente preferencial é a água, devido à sua ampla disponibilidade, baixo custo e segurança [15]. No entanto, extrações realizadas exclusivamente com solventes aquosos tendem a apresentar baixa eficiência, uma vez que muitos compostos bioativos de interesse podem permanecer retidos no material vegetal, comprometendo o rendimento do processo.

Nesse contexto, o etanol tem sido amplamente empregado como alternativa, destacando-se como um "solvente verde" por sua origem renovável, baixa toxicidade, reduzida inflamabilidade e menor impacto ambiental [29]. A utilização de misturas binárias, como a combinação de água e etanol, representa uma estratégia promissora para superar as limitações das extrações aquosas, promovendo uma maior solubilização de diferentes classes de compostos e, consequentemente, melhorando o desempenho do processo extrativo [15].

Outro parâmetro importante que infere sobre a eficiência dos métodos extrativos, são os resultados de atividade antioxidante, expressa pelos valores de CI_{50}, das diferentes amostras. Nota-se uma correspondência entre o teor de compostos fenólicos e menores valores de CI_{50}. Em relação as diferentes técnicas de extração, todas as amostras extraídas por EAU apresentaram valores de CI_{50} inferiores aos da maceração, confirmando a superioridade do método não apenas no teor de compostos fenólicos, mas também na obtenção de compostos funcionalmente ativos.

Estudos cromatográficos futuros poderão elucidar quais compostos predominam em cada condição de extração e sua contribuição específica para a atividade antioxidante observada. De acordo com a literatura, está espécie apresenta alto teor de compostos fenólicos, como ácido gálico, os quais estão relacionados diretamente com uma forte ação antioxidante [5,6]. Assim, presume-se que compostos estruturalmente semelhantes possam ser encontrados nos extratos obtidos, correlacionando com a atividade antioxidante encontrada.

A variação na proporção planta/solvente demonstrou ser outro fator importante para a extração de compostos antioxidantes. As amostras A8, A9 e A10, preparadas com maior carga vegetal, apresentaram teores mais elevados de compostos fenólicos e os menores valores de CI_{50}, até mesmo comparado com as outras amostras extraídas por EAU. Isso sugere que o aumento da concentração de planta no meio extrator favorece a liberação de metabólitos bioativos, sem que haja saturação ou perda de eficiência na extração. Do ponto de vista prático e ecológico, esse resultado é altamente relevante, pois indica a possibilidade de se obter extratos mais concentrados com menor volume de solvente, reduzindo custos, consumo de recursos e geração de resíduos [30].

De maneira geral, os dados obtidos sustentam que a extração assistida por ultrassom representa uma alternativa técnica e ambientalmente mais adequada para obtenção de extratos com ação antioxidante, das folhas de *P. cauliflora*. O método permite otimizar parâmetros como tempo de extração, solvente utilizado e proporção planta/solvente, viabilizando o desenvolvimento de extratos altamente funcionais com menor consumo energético, redução do uso de solventes e maior aproveitamento do material vegetal e em menor tempo. Essa abordagem está em consonância com os princípios da economia circular e da valorização de recursos naturais, especialmente no contexto de aproveitamento de folhas — um subproduto frequentemente descartado da planta — como fonte rica em bioativos [31].

Esse processo extrativo pode ser associado a outras técnicas, como a liofilização, ampliando ainda mais as possibilidades de uso de resíduos vegetais, que antes não poderiam ser utilizados, na indústria farmacêutica ou cosmética. Extratos obtidos desta forma atendem às demandas da indústria acerca de ingredientes naturais, com apelo limpo e sustentável [31]. Ainda considerando um escalonamento industrial, os resultados apontam que técnicas como a EAU, reduzem de forma significativa o tempo de extração de compostos de interesse, mantendo ou até mesmo otimizando a ação antioxidante das amostras.

Embora os resultados sejam promissores, é necessário otimizar de forma mais assertiva os parâmetros de EAU, através do uso de modelos matemáticos de delineamento experimental e pela avaliação da influência de outros parâmetros durante a extração, como temperatura e frequência de sonicação. Para garantir a eficácia antioxidante do extrato para comercialização é necessária a caracterização química detalhada dos compostos fenólicos, além da realização de testes biológicos *in vitro* e *in vivo* que confirmem a indicação para este uso.

4. Material e Métodos

4.1. Material vegetal

Folhas de *Plinia cauliflora* foram coletadas no ano de 2024, nas dependências da Faculdade de Educação Física da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), nas coordenadas 19°52’30,8” S; 43°58’31,7” O e 820 metros de altitude. Em coletas anteriores, realizadas na mesma região, foi confeccionada uma exsicata, e a amostra vegetal foi identificada como *Plinia cauliflora* (DC.) Kausel (Myrtaceae), conforme registrado no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (SISGEN/Brasil), sob o código A032F41. Após a coleta, as folhas foram submetidas à secagem em estufa com circulação forçada de ar a 45 °C, durante 48 horas. Em seguida, o material seco foi triturado com o auxílio de um liquidificador industrial.

4.2. Extração do material vegetal

4.2.1. Extração por maceração estática

A preparação dos extratos por maceração estática foi realizada utilizando uma solução hidroalcoólica. Para cada amostra, foram pesados 1 g de folhas secas, que foram então acondicionados com 60 mL de etanol a 70%, respeitando-se a proporção de 1:60 (massa/volume). O procedimento foi conduzido em duplicata: uma das amostras foi submetida à maceração por 24 horas, enquanto a outra permaneceu em maceração por apenas 30 minutos, ambas mantidas em temperatura ambiente. A amostra submetida à maceração por 30 minutos foi identificada como A1, e aquela mantida por 24 horas, como A2. Após os respectivos períodos de maceração, os extratos foram filtrados com papel de filtro.

4.2.2. Extração assistida por ultrassom (EAU)

A extração assistida por ultrassom foi realizada em banho ultrassônico (Unique Ind. e Com. Prod. Eletr. Ltda – USC 2800A) operando 40 kHz, sob temperatura controlada de 30 ± 1 °C para todas as amostras, monitorada continuamente pelo painel do equipamento. As amostras foram preparadas em tubos Falcon e submetidas ao banho ultrassônico pelo tempo previamente estabelecido para cada amostra. Os parâmetros de tempo de extração, proporção de planta e solvente e concentração de etanol foram definidos individualmente para cada amostra.

Com o objetivo de verificar a influência de alguns parâmetros na extração via ultrassom, estes foram estratificados em três níveis de intensidade: baixo, intermediário e alto. Inicialmente, foram selecionadas duas variáveis independentes para avaliação, concentração de etanol e tempo de extração, conforme descrito na Tabela 1. Neste estágio inicial, a proporção planta/solvente foi fixada em 1:60 (massa/volume), conforme realizado na maceração estática.

Tabela 1. Variáveis que afetam a extração.

Variável	Níveis		
	Baixo	**Intermediário**	**Alto**
Concentração de etanol (%)	30	50	70
Tempo de extração (min)	15	25	30

A primeira variável investigada foi o tempo de extração. Neste estágio, todas as amostras utilizaram a concentração de etanol no nível baixo (30%) e os outros parâmetros conforme pré-definido. A amostra submetida a 15 minutos de extração foi identificada como A3; a 25 minutos, como A4; e a 30 minutos, como A5. Posteriormente, avaliou-se a variável referente à concentração do solvente. Para essa etapa, as amostras foram submetidas ao tempo de extração intermediário (25 min) e mantendo os outros parâmetros conforme pré-definido. A amostra preparada com etanol a 50% foi denominada A6, e a com etanol a 70%, A7.

Buscando-se aprimorar ainda mais a eficiência do processo extrativo, foi incluída uma terceira variável: a proporção entre planta e solvente. Nessa etapa, foram mantidos constantes o tempo intermediário de extração (25 minutos), a concentração de etanol intermediária (50%) e os demais parâmetros (frequência e temperatura), enquanto a proporção planta/solvente foi testada nos níveis de 1:15, 1:20 e 1:25 (massa/volume). As amostras resultantes foram denominadas A8, A9 e A10, respectivamente.

Ao final de cada extração, todas as amostras foram filtradas com papel de filtro para a remoção de sólidos residuais. A descrição completa dos parâmetros utilizados em cada extração encontra-se na Tabela 2.

Tabela 2. Resumo das amostras extraídas.

Amostra	Técnica	Parâmetros
A1	Maceração	1:60, etanol 70%, 30 minutos, temperatura ambiente.
A2	Maceração	1:60, etanol 70%, 24 horas, temperatura ambiente.
A3	EAU	1:60, etanol 30%, 15 minutos, 30 ± 1 °C.
A4	EAU	1:60, etanol 30%, 25 minutos, 30 ± 1 °C.
A5	EAU	1:60, etanol 30%, 30 minutos, 30 ± 1 °C.
A6	EAU	1:60, etanol 50%, 25 minutos, 30 ± 1 °C.
A7	EAU	1:60, etanol 70%, 25 minutos, 30 ± 1 °C.
A8	EAU	1:15, etanol 50%, 25 minutos, 30 ± 1 °C
A9	EAU	1:20, etanol 50%, 25 minutos, 30 ± 1 °C.
A10	EAU	1:25, etanol 50%, 25 minutos, 30 ± 1 °C.

4.3. Determinação do conteúdo fenólico total

Para todas as amostras, a quantificação dos compostos fenólicos totais foi realizada com base no método de Folin-Ciocalteu et al., (1927) [32], com adaptações. Alíquotas de 30 μL do filtrado de cada amostra foram transferidas para uma microplaca de 96 poços,

sendo adicionados 120 μL do reagente de Folin-Ciocalteu e 100 μL de solução de carbonato de sódio a 4%. A microplaca foi mantida ao abrigo da luz por 30 minutos, e a leitura da absorbância foi realizada em espectrofotômetro (ThermoScientific Skanlt® Multiskan GO, software 3,2) a 770 nm. Para a quantificação dos resultados, foi obtida uma curva de calibração com ácido tânico, e a equação da curva obtida foi Y= 0,0415x - 0,1054 (R^2: 0,9984) A partir desta curva, os resultados foram expressos em μg/mg de extrato, em equivalentes de ácido tânico, considerando-se a média e o desvio padrão. Todos os experimentos foram realizados em triplicata para cada condição de extração.

4.4. Determinação da ação antioxidante pelo método do radical DPPH

A atividade antioxidante das amostras foi avaliada segundo o método de Brand-Williams et al., (1995) [33], com adaptações. Em microplacas de 96 poços, foram adicionados 100 μL dos extratos filtrados. Em seguida, 50 μL de metanol foram utilizados para promover diluições sucessivas, e 150 μL do reagente DPPH foram adicionados. A microplaca foi incubada ao abrigo da luz por 30 minutos, e a leitura da absorbância foi realizada em espectrofotômetro (ThermoScientific Skanlt® Multiskan GO, software 3,2) a 517 nm. Os ensaios foram conduzidos em triplicata, e os resultados foram expressos como média ± desvio padrão da concentração inibitória de 50% (CI_{50}) em μg/mL.

4.5. Análise estatística

Todos os dados foram submetidos a análise de variância (ANOVA) seguida do teste de Bonferroni, através do programa GraphPrism 8.0. Os resultados são apresentados em relação à média ± desvio padrão de cada experimento. Foi considerado significativo os resultados com $p < 0,05$, indicando um intervalo de confiança de 95%.

5. Conclusão

Com base nos resultados obtidos, conclui-se que a extração assistida por ultrassom (EAU) é significativamente mais eficaz do que a maceração estática na extração de compostos fenólicos das folhas de *Plinia cauliflora*. Essa superioridade se manifesta não apenas no teor de compostos fenólicos, mas também na eficiência em relação ao tempo, na redução do volume necessário de solvente e, consequentemente, nos custos operacionais. Entre as variáveis avaliadas, o tempo de extração demonstrou ter pouca influência sobre os teores de compostos fenólicos, enquanto a concentração de etanol e a proporção planta/solvente mostraram impacto direto e significativo. Esses fatores reforçam o potencial da EAU como uma técnica otimizada e sustentável para obtenção de extratos com alta atividade antioxidante. A correlação entre maior teor de compostos fenólicos e menores valores de CI_{50} indica que a EAU não apenas extrai uma maior quantidade de metabólitos, mas também preserva sua capacidade antioxidante. Isso confere à técnica um alto potencial para aplicação industrial, especialmente nas áreas farmacêutica, cosmética e alimentícia. Os achados deste estudo reforçam a aplicabilidade da EAU na valorização de subprodutos vegetais, como as folhas de *P. cauliflora*, e evidenciam sua adequação aos princípios da química verde. Para avanços futuros, recomenda-se a aplicação de modelos de otimização experimental, bem como a caracterização química detalhada dos compostos extraídos e a realização de estudos biológicos *in vitro* e *in vivo*, a fim de validar seu uso funcional em formulações comerciais.

Financiamento: Esta pesquisa foi apoiada por subsídios e bolsas do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq, Brasil - número da bolsa: 408700/2021-1), Fundação ao de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (números de concessão: APQ-01357-21), Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF/Brasil) e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES, Brasil).

Agradecimentos: Os autores agradecem a Delfino Antônio Campos, do Departamento de Bioquímica da Universidade Federal de Juiz de Fora, pela assistência técnica.

Conflitos de interesse: Os autores declaram não ter conhecimento de conflitos de interesses financeiros ou relacionamentos pessoais que possam ter influenciado o trabalho relatado neste artigo.

Referências

1. Picot-Allai, C.; Mahomoodally, M.F.; Ak, G.; Zengin, G. Conventional versus green extraction techniques — a comparative perspective. *COFS* **2020**, *34*, 144-156. doi: *https://doi.org/10.1016/j.cofs.2021.02.009*.
2. Takao, L.K.; Imatomi, M.; Gualtieri, S.C.J. Antioxidant activity and phenolic content of leaf infusions of Myrtaceae species from Cerrado (Brazilian Savanna). *Braz. J. Biol.* **2015**, *75*, 948-952. doi: *https://doi.org/10.1590/1519-6984.03314*.
3. Brito, T.G.S.; Silva, A.P.S.A.; Cunha, R.X.; Fonseca, C.S.M.; Araújo, T.F.S.; Campos, J.K.L.; Nascimento, W.M.; Araújo, H.D.A.; Silva, J.P.R.; Tavares, J.F.; Santos, B.S.; Lima, V.L.M. Anti-inflammatory, hypoglycemic, hypolipidemic, and analgesic activities of *Plinia cauliflora* (Mart.) Kausel (Brazilian grape) epicarp. *J. Ethnopharmacol.* **2021**, *268*, 1-11. doi: *https://doi.org/*10.1016/j.jep.2020.113611.
4. Pinc, M.M.; Dalmagro, M.; Pereira, E.C.A.; Donadel, G.; Thomaz, R.T.; da Silva, C.; Macruz, P.D.; Jacomassi, E.; Gasparotto Junior, A.; Hoscheid, J.; Lourenço, E.L.B.; Alberton, A. Extraction Methods, Chemical Characterization, and In Vitro Biological Activities of *Plinia cauliflora* (Mart.) Kausel Peels. *Pharmaceuticals* **2023**, 16, 1173. doi: https://doi.org/10.3390/ph16081173
5. Palozi, R.A.C.; Guarnier, L.P.; Romão, P.V.M.; Nocchi, S.R.; dos Santos, C.C.; Lourenço, E.L.B.; Silva, D.B.; Gasparotto, F.M.; Gasparotto Júnior, A. Pharmacological safety of *Plinia cauliflora* (Mart.) Kausel in rabbits. *Toxicol. Rep.* **2019**, 6, 616-624. doi: *https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2019.06.017*.
6. Paula, P.L.; Lemos, A.S.O.; Campos, L.M.; Ferreira, T.G.; Souza, T.F.; Queiroz, L.S.; Guedes, M.C.M.R.; Martins, M.M.; Goulart Filho, L.R.; Macedo, G.C.; Tavares, G.D.; Rocha, V.N.; Denadai, A.M.L; Fabri, R.L. Pharmacological investigation of antioxidant and anti-inflammatory activities of leaves and branches extracts from *Plinia cauliflora* (Jaboticaba). *J Ethnopharmacol.* **2021**, 15. doi: *https://doi.org/10.1016/j.jep.2021.114463*.
7. da Costa, B.S.L.; Vieira, J.L.C.C.; Cardoso, A.M.; Borges, L.L. Optimization of ultrasound-assisted extraction of total phenolic compounds and flavonoids from acerola fruits (*Malpighia* sp.). *RBMC* **2020**, 6, 39-46. doi: *https://doi.org/10.36414/rbmc.v6i14.34*.
8. Sridhar, A.; Ponnuchamy, M.; Senthil Kumar, P.; Kapoor, A.; Vo, D.N.; Prabhakar, S. Techniques and modeling of polyphenol extraction from food: a review. *Environ Chem Lett* **2021**, 19, 3409–3443. *https://doi.org/10.1007/s10311-021-01217-8*
9. Martins, R.; Barbosa, A.; Advinha, B.; Sales, H.; Pontes, R.; Nunes J. Green Extraction Techniques of Bioactive Compounds: A State-of-the-Art Review. *Processes* **2023**, 11(8), 2255. *https://doi.org/10.3390/pr11082255*
10. Cardoso, I.C.; Pereira, H.M.G; Tappin, M.R.R.; Behrens, M.D. Influence of extraction technique and particle size of the plant material in the content of total phenolic compounds of tincture of *Alpinia zerumbetleaves*. *Rev. Fitos* **2017**, 62-68. doi: *https://doi.org/10.5935/2446-4775.20170016*.
11. Adeyi, O.; Oke, E.O.; Okolo, B.I.; Adeyi, A.J.; Otolorin, J.A.; Nwosu-Obieogu, K.; Adeyanju, J.A.; Dzarma, G.W.; Okhale, S.; Ogu, D.; Onu, P.N. Process optimization, scale-up studies, economic analysis and risk assessment of phenolic rich bioactive extracts production from Carica papaya L. leaves via heat-assisted extraction technology. *Heliyon* **2022**, 31; 8(4). *doi: 10.1016/j.heliyon.2022.e09216*.
12. Usman M.; Nakagawa, M.; Cheng, S. Emerging Trends in Green Extraction Techniques for Bioactive Natural Products. *Processes* **2023**, 11(12), 3444. *https://doi.org/10.3390/pr11123444*.
13. Oliveira, V.B.; Zuchetto, M.; Oliveira, C.F.; Paula, C.S.; Duarte, A.F.S.; Miguel, M.D.; Miguel, O.D. Effect of different extraction techniques on the yield, antioxidant activity, total dosages, and profile by hplc-dad of *Dicksonia sellowiana* (Presl.). Hook, dicksoniaceae. *Rev. Bras. Pl. Med.* **2016**, 18, 230-239. doi: *https://doi.org/10.1590/1983-084X/15_106*
14. Soquetta, M.B.; Terra, L.M.; Bastos, C.P. Green technologies for the extraction of bioactive compounds in fruits and vegetables. *CYTA - J Food.* **2018**, 16, 400–412. doi: *https://doi.org/10.1080/19476337.2017.1411978*.
15. Raspe, D.T.; Ciotta, S.R.; Zorzenon, M.R.T.; Dacome, A.S.; da Silva, C.; Milani, P.G.; da Costa, S.C. Ultrasound-assisted extraction of compounds from Stevia leaf pretreated with ethanol. *IND CROP PROD* **2021**, 172. doi: *https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2021.114035*.
16. Milani, G.; Vian, M.; Cavalluzzi, M.M.; Franchini, C.; Corbo, F.; Lentini, G.; Chemat, F. Ultrasound and deep eutectic solvents: an efficient combination to tune the mechanism of steviol glycosides extraction. *Ultrason. Sonochem*. **2020**, 69, 1–11. doi: *https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2020.105255*.
17. Klanian, M.G.; Preciat, M.T. Optimization of the Ultrasound-Assisted Extraction of Phenolic Compounds from *Brosimum alicastrum* Leaves and the Evaluation of Their Radical-Scavenging Activity. *Molecules* **2017**, 22, 1286. doi: *https://doi.org/10.3390/molecules22081286*.
18. Vinatoru, M. An overview of the ultrasonically assisted extraction of bioactive principles from herbs. *Ultrason Sonochem* **2001**, 8, 303-313. doi: *https://doi.org/10.1016/S1350-4177(01)00071-2*
19. Gulcin, I.; Alwasel, S.H. DPPH Radical Scavenging Assay. *Processes* **2023**, 11(8), 2248. *https://doi.org/10.3390/pr11082248*

20. Corbin, C.; Fidel, T.; Leclerc, E.A.; Barakzoy, E.; Sagot, N.; Falguiéres, A.; Renouard, S.; Blondeau, J.P.; Ferroud, C.; Doussot, J.; Lainé, E.; Hano, C. Development and validation of an efficient ultrasound assisted extraction of phenolic compounds from flax (*Linum usitatissimum L.*) seeds. *Ultrason Sonochem* **2015**, 26, 176-185. doi: *https://doi.org/*10.1016/j.ultsonch.2015.02.008.
21. Silva, R.S.; Barbieri, H.B.; Ferreira, H.S.; Silva, C.A.; Nebo L. Optimization of ultrasound-assisted extraction of bioactive compounds from *Caryocar Brasiliense*. *Res., Soc. Dev.* **2021**, 10. *doi: https://doi.org/10.33448/rsd-v10i9.16493.*
22. Khan, M.K.; Abert-Vian, M.; Fabiano-Tixer, A.S.; Dangles, O.; Chemat, O.F. Ultrassond-assisted extraction of polyphenols (flavonone glycosides) from orange (*Citrus sinensis L.)* peel. *Food Chem*, **2010,** 119, 851-858. *doi: https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2009.08.046.*
23. Ghitescu, R.E.; Volf, L.; Carausu, C.; Bühlmann, A.M.; Gilca, I.A.; Popa, V.I. Optimization of ultrasound-assisted extraction of polyphenols from spruce wood bark. *Ultrason Sonochem*, **2015,** 22, 535–541. *doi: https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2014.07.013*
24. Tabaraki, R.; Rastgoo, S. Comparison between conventional and ultrasound-assisted extractions of natural antioxidants from walnut green husk. *Korean J Chem Eng* **2014,** 31, 676-683. *doi: https://doi.org/*10.1007/s11814-013-0279-1.
25. Medina-Torres, N.; Ayora-Talavera, T.; Espinosa-Andrews, H.; Sánchez-Contreras, A.; Pacheco, N. Ultrasound Assisted Extraction for the Recovery of Phenolic Compounds from Vegetable Sources. *Agronomy* **2017**, 7, 47. *doi: https://doi.org/10.3390/agronomy7030047*
26. Silva, C.; Garcia, V.A.S.; Franciscato, L.M.S.S. Ultrasound Assisted Extraction of Bioactive Compounds from Lichia Peels (*Litchi Chinensis Sonn*.). *RECEN*, **2016,** 18(1), 81-96. *doi: https://doi.org/10.5935/RECEN.2016.01.07*
27. Prasad, N. K.; Yang, B., Yang, S.; Chen, Y.; Zhao, M.; Ashraf, M.; Jiang, Y. Identification of phenolic compounds and appraisal of antioxidant and antityrosinase activities from litchi (*Litchi chinensis Sonn*.) seeds. *Food Chem*, **2009,** 116, 1-7. *doi: https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.01.079*
28. Vizzotto, M.; Fereira, M. C. Blackberry (Rubus sp.): extraction process optimization and determination of phenolic compounds antioxidants. *Rev Bras Frutic*, **2011,** 33, 1209-1214. *doi: https://doi.org/10.1590/S0100-29452011000400020*
29. Chemat, F.; Vian, M.A.; Cravotto, G. Green extraction of natural products: concept and principles. *Int J Mol Sci* **2012,** 13, 8615-8627. doi: https://doi.org/10.3390/ijms13078615.
30. Sulaiman, I.S.C.; Basri, M.; Masoumi, H.R.F.; Chee, W.J.; Ashari, S.E.; Ismail, M. Effects of temperature, time, and solvent ratio on the extraction of phenolic compounds and the anti-radical activity of Clinacanthus nutans Lindau leaves by response surface methodology. *Chem. Cent. J.* **2017**, 11. *doi: https://doi.org/10.1186/s13065-017-0285-1*
31. Regolo, L.; Giampieri, F.; Battino, M.; Diaz, Y.A.; Mezzetti, B.; Elexpuru-Zabaleta, M.; Mazas, C.; Tutusaus, K.; Mazzoni, L. From by-products to new application opportunities: the enhancement of the leaves deriving from the fruit plants for new potential healthy products. *Front Nutr*. **2024**, 4. *doi: https://doi.org/10.3389/fnut.2024.1083759*
32. Folin, O.; Ciocalteu, V. On tyrosine and tryptophane determinations in proteins. *J. Biol. Chem.* ***1927,*** 73, 627.
33. Brand-Williams, W.; Cuvelier, M.E.; Berset, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT* **1995,** 28, 25-30.

Disclaimer/Publisher's Note: The statements, opinions and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of BIOFARM and/or the editor(s). BIOFARM and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions or products referred to in the content.