



RCAGT

REVISTA
de Ciência de Alimentos e Gastronomia



Extração verde assistida por ultrassom de compostos bioativos de brácteas estéreis de *Araucaria angustifolia*

Ultrasound-assisted green extraction of bioactive compounds from sterile bracts of *Araucaria angustifolia*

Eduarda Motin¹, Maria Fernanda da Silva Gomes¹, Maria Luiza Cavalli Bueno¹, Michele Rosset^{1*1}

¹Instituto Federal do Paraná - Campus Colombo, CEP 83403-515, Colombo, Brasil

Resumo: As brácteas estéreis de *Araucaria angustifolia*, conhecidas como falhas da pinha, correspondente em até 80% do total da pinha, possuem potencial antioxidante, contribuindo para a diminuição dos efeitos deletérios causados pelos radicais livres no organismo humano. A extração assistida por ultrassom é uma técnica sustentável e de baixo custo, devido ao menor tempo de extração e baixa quantidade de solvente. O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito de diferentes concentrações de ácido cítrico na extração aquosa de compostos bioativos das brácteas estéreis de *Araucaria angustifolia*, utilizando ultrassom como técnica extratora. Os extratos foram obtidos a partir de 80 mL de água com diferentes concentrações de ácido cítrico (0%, 2%, 4% e 6%) e 2 g de amostra. A extração foi realizada em banho ultrassônico durante 30 minutos. A determinação do conteúdo total de fenólicos foi realizada pelo método de Folin-Ciocalteu e a determinação da capacidade antioxidante pelos métodos de DPPH, ABTS e FRAP. Os resultados foram submetidos à análise de variância e teste de médias Tukey ($p < 0,05$). A adição de ácido cítrico não contribuiu significativamente ($p > 0,05$) para o aumento na extração de compostos fenólicos (45,023 mg EAG/80 mL) e atividade antioxidante pelos métodos DPPH e ABTS (228,518 e 838,800 $\mu\text{mol TEAC}/80\text{mL}$, respectivamente). É possível que o ácido tenha degradado compostos fenólicos livres do extrato. Na análise de FRAP, a melhor extração foi obtida com 4% de ácido cítrico (1122,375 $\mu\text{mol TEAC}/80\text{mL}$). Neste caso, a extração de compostos fenólicos presos na parede celular pode ter sido intensificada pelo meio ácido. Assim, os resultados indicam que a extração aquosa por ultrassom, em especial com 4% (m/v) de ácido cítrico, pode representar uma alternativa promissora para futuras aplicações em produtos alimentícios com propriedades funcionais.

Palavras-chave: Antioxidantes. Sustentabilidade. Falhas da pinha. Banho ultrassônico. Ácido cítrico.

* Email: michele.rosset@ifpr.edu.br



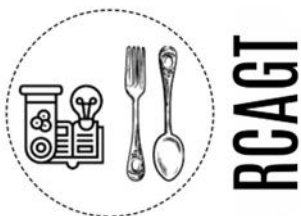
RCAGT

REVISTA de Ciência de Alimentos e Gastronomia



Abstract: Sterile bracts of *Araucaria angustifolia*, known as pine cone defects, which make up 80% of the total pinecone, exhibit antioxidant potential, contributing to the reduction of the deleterious effects caused by free radicals in the human body. Ultrasound-assisted extraction is a sustainable and low-cost technique due to its shorter extraction time and low solvent requirement. The aim of this study was to evaluate the effect of different concentrations of citric acid on the aqueous extraction of bioactive compounds from the sterile bracts of *Araucaria angustifolia*, using ultrasound as the extraction technique. Extracts were obtained using 80 mL of water with different concentrations of citric acid (0%, 2%, 4%, and 6%) and 2 g of sample. The extraction was performed in an ultrasonic bath for 30 minutes. The determination of total phenolic content was performed using the *Folin-Ciocalteu* method, and the determination of antioxidant capacity was assessed through the DPPH, ABTS, and FRAP methods. The results were submitted to analysis of variance and Tukey's test for mean comparisons ($p < 0.05$). The addition of citric acid did not significantly enhance ($p > 0.05$) the extraction of antioxidants (45.023 mg EAG/80 mL) or the antioxidant activity by the DPPH and ABTS methods (228.518 and 838.800 $\mu\text{mol TEAC}/80 \text{ mL}$, respectively). It is possible that the acid degraded free phenolic compounds in the extract. However, in the FRAP analysis, the highest extraction yield was observed at 4% citric acid (1122.375 $\mu\text{mol TEAC}/80 \text{ mL}$). In the FRAP analysis, the best extraction was obtained with 4% citric acid (1122.375 $\mu\text{mol TEAC}/80 \text{ mL}$). In this case, the extraction of phenolic compounds bound in the cell wall may have been intensified by the acidic conditions. Thus, the results indicate that aqueous extraction by ultrasound, especially with 4% (m/v) citric acid, may represent a promising alternative for future applications in food products with functional properties.

Keywords: Antioxidants. Sustainability. Pinecone defects. Ultrasonic bath. Citric acid.



RCAGT

REVISTA
de Ciência de Alimentos e Gastronomia



1 INTRODUÇÃO

A espécie *Araucaria angustifolia*, conhecida como pinheiro-do-paraná, é encontrada principalmente nos Estados do sul do Brasil, além de São Paulo, Minas Gerais e Rio de Janeiro. Atualmente, o produto de maior importância da araucária é o pinhão (Fischer *et al.*, 2022), um alimento de grande relevância comercial, especialmente no Sul e parte do Sudeste do Brasil. Em 2022, essas áreas registraram uma produção de 13.376 toneladas, com um valor de comercialização superior a R\$51 milhões (IBGE, 2023).

A pinha é composta por 41,8% de sementes (pinhão), 7,5 % pelo eixo central e 50,7% por escamas estéreis e não fertilizadas, de nominadas de brácteas estéreis ou falhas. As falhas do pinhão, que compõem a maior parte do estróbilo feminino, consistem no principal resíduo gerado na separação da pinha para comercialização (Jacinto *et al.*, 2017). A presença de compostos bioativos como os flavonoides catequina, epicatequina e rutina estão relacionados às propriedades antioxidantes e antimutagênicas dos extratos das brácteas do pinhão (Michelon *et al.*, 2012).

O aproveitamento de partes não convencionais de alimentos têm sido amplamente estudado para obtenção de compostos bioativos como vitaminas, fibras e compostos fenólicos, os quais podem ser destinados para o desenvolvimento de novos produtos alimentícios funcionais (Pereira, Firmo & Coutinho, 2022). O uso de métodos tradicionais de extração de compostos fenólicos como Soxhlet, infusão e maceração, podem resultar na oxidação e perda de compostos fenólicos, devido ao longo tempo utilizado e temperaturas elevadas. Além disso, na maioria das vezes, a extração é realizada com solventes orgânicos tais como metanol, etanol, acetona, éter, dentre outros (Santos, 2022). No entanto, a crescente demanda por métodos sustentáveis tem intensificado o uso da água com adição de ácidos, como o ácido cítrico (Oliveira, Barbosa & Flores, 2020) e metodologias como o ultrassom. A extração assistida por ultrassom se destaca pela sua eficiência com alto rendimento de extração, em curto período e com baixo consumo de solvente (Shen *et al.*, 2023; Santos, 2021). Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar o efeito de diferentes concentrações de ácido cítrico na extração aquosa de compostos bioativos das brácteas estéreis de *Araucaria angustifolia*, utilizando ultrassom como técnica extratora.



2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Matéria-prima

A pinha foi coletada na cidade de Campo Largo, Paraná, no período de maio a junho de 2024, logo após queda natural das árvores. As brácteas estéreis foram higienizadas em água corrente e sanitizadas com hipoclorito de sódio (1,5%) por 10 minutos. Em seguida foi realizado o branqueamento com ácido cítrico 5% por 3 minutos. A secagem das brácteas foi realizada em estufa de circulação de ar (Luca-82/27, Lucadema) a 60 °C por 17 horas, seguida da moagem em liquidificador (JL Colombo - 1887) e moinho (Ika, A11 basic). A farinha obtida foi embalada à vácuo (GSVAC - GS420) e armazenada em freezer a -18 °C (Figura 1).

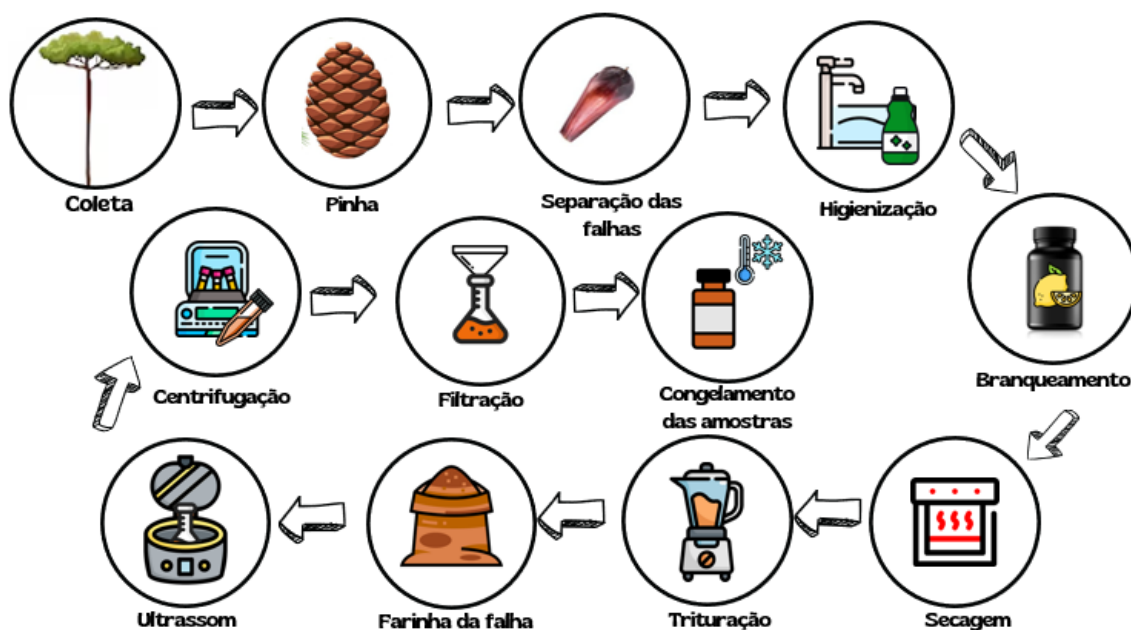


Figura 1. Obtenção da matéria prima. Fonte: Autores (2025).

2.2 Extração dos compostos fenólicos

A extração dos compostos fenólicos das brácteas estéreis de pinhão foi realizada de acordo com Oliveira, Rocha, Pinheiro, Mendonça e Barão (2016), com modificações



(Figura 2). As amostras (2 g) foram extraídas com 80 mL de água acidificada em diferentes concentrações de ácido cítrico (0%, 2%, 4% e 6%), em banho ultrassônico (1,5 A, frequência de 50/60 Hz, 42 kHz) (Cuba ultrassônica, Cristófoli), durante 30 minutos a 25 °C. Em seguida as amostras foram centrifugadas (centrífuga Anco - CDRI16000) a 8000 rpm por 10 minutos a 15 °C. Posteriormente os extratos foram filtrados em papel qualitativo e armazenados em frasco âmbar a -18 °C.

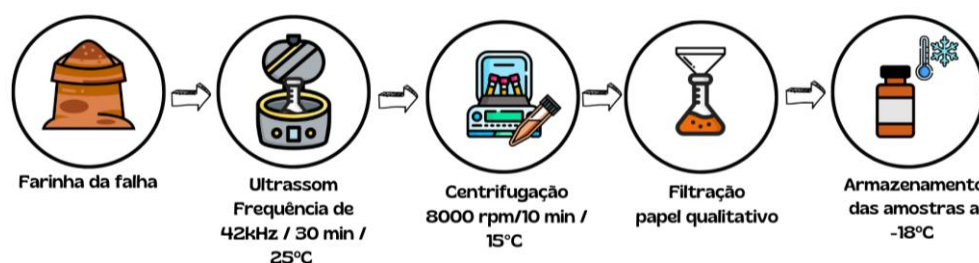


Figura 2: Extração de compostos fenólicos. Fonte: Autores (2025).

2.3 Determinação do conteúdo fenólico total

O conteúdo fenólico total foi determinado pelo método de *Folin-Ciocalteu* conforme Swain e Hillis (1959), com modificações. Em um tubo de ensaio foram adicionados 0,5 mL de extrato, 2,5 mL de reagente Folin-Ciocalteu (10%) e 2 mL de carbonato de sódio (7,5%). Após agitação dos tubos em vórtex (Loccus - mini FlexVortex), as amostras foram incubadas em banho maria (Solab - SL-153) a 50 °C por 5 minutos. Após resfriamento, foi realizada a leitura a 760 nm em espectrofotômetro (Kasvi K37-VIS). Fez-se uma curva padrão de ácido gálico (0,05 a 0,6 mmol/L). Os resultados foram expressos em equivalente de ácido gálico (mg EAG/80 mL de solução).

2.4 Determinação da capacidade antioxidante - sequestro do radical livre DPPH (2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl)

Para a análise da capacidade dos compostos fenólicos, doadores de hidrogênio, reduzirem o DPPH em hidrazina, foi utilizada a metodologia proposta por Brand-Williams, Cuvelier e Berset (1995), com modificações. A partir de uma solução estoque



de 500 $\mu\text{mol/L}$ de DPPH foi preparada uma solução trabalho de 250 $\mu\text{mol/L}$ de DPPH, na ausência de luz. Em seguida, foram pipetados 100 μL de extrato, 2 mL de etanol e 1 mL de DPPH 250 $\mu\text{mol/L}$. Após a solução ser misturada em agitador tipo vórtex, os tubos foram armazenados no escuro por 30 minutos. A leitura foi realizada em espectrofotômetro UV-VIS a 517 nm. Foi utilizada uma curva padrão de Trolox (0,0 - 0,6 mol/L). Os resultados foram expressos em equivalente de Trolox ($\mu\text{mol TEAC}/80$ mL de solução).

2.5 Determinação da capacidade antioxidante - poder de redução do ferro (FRAP - Ferric Reducing Antioxidant Power)

Para a análise da capacidade dos compostos fenólicos, doadores de elétrons, reduzirem o Fe^{3+} em Fe^{2+} , foi utilizada a metodologia proposta por Rufino, Alves, Brito, Moraes, Sampaio, Pérez-Jiménez e Saura-Calixto (2006), com modificações. O reagente FRAP foi obtido por meio da mistura de 2,5 mL TPTZ (10 mmol/L), 2,5 mL de cloreto férrico (20 mmol/L) e 25 mL de tampão acetato (0,3 mmol/L com pH 3,6), após isso pipetou-se, em um tubo de ensaio, 90 μL de extrato, 270 μL de água destilada e 2,7 mL de FRAP, homogeneizou-se em vórtex e colocou-se em banho maria a 37 °C por 30 minutos, resfriou-se e realizou-se a leitura em espectrofotômetro a 595 nm. Foi utilizada uma curva padrão de Trolox (0,05 - 0,6 mmol/L). Os resultados foram expressos em equivalente de Trolox ($\mu\text{mol TEAC}/80$ mL de solução).

2.6 Determinação da capacidade antioxidante – sequestro do radical livre ABTS+ (ácido 2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolina) -6-sulfônico)

Para a análise da capacidade dos compostos fenólicos, doadores de elétrons, reduzirem o ABTS^+ em ABTS, foi utilizada a metodologia proposta por Rufino, Alves, Brito, Moraes, Sampaio, Pérez-Jiménez e Saura-Calixto (2007), com algumas modificações. O reagente ABTS foi preparado 16 horas antes da análise por meio da mistura de 5 mL de ABTS (7 mmol/L) e 88 μL de persulfato de potássio (140 mmol/L), após esse tempo misturou-se, em um tubo de ensaio, no escuro, 30 μL de extrato e 3 mL de radical ABTS (1 mL de ABTS diluído em etanol até absorvância de 0,700), agitou-se

em vórtex, deixou-se em repouso no escuro por 6 minutos e realizou-se a leitura a 734 nm. Foi utilizada uma curva padrão de Trolox (50 a 2000 $\mu\text{mol/L}$). Os resultados foram expressos em equivalente de Trolox ($\mu\text{mol TEAC}/80 \text{ mL}$ de solução).

2.7 Determinação do pH

O pH dos extratos aquosos das brácteas estéreis foi determinado utilizando um potenciômetro digital (mPA-210, TecnoPON), segundo o método n. 017/IV do Instituto Adolfo Lutz (2005).

2.8 Análise estatística

Os resultados foram submetidos à análise de variância ANOVA e teste de diferença de médias Tukey ($p < 0,05$) no programa *Statistica* 6.0. As análises foram realizadas em triplicata.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Extração dos compostos fenólicos

Sabe-se que na extração de compostos bioativos, entre eles, os antioxidantes, fatores como tempo, temperatura, pH, tipo de solvente e razão sólido-líquido influenciam no rendimento e eficiência do processo de extração (Fisher *et al.*, 2022). Normalmente, as extrações são realizadas com metanol, etanol, acetona e suas misturas aquosas e, em geral, acidificadas (Fisher *et al.*, 2022). Porém tais solventes orgânicos são extremamente tóxicos aos seres humanos, podendo causar danos ao sistema nervoso central, causar irritações sensoriais, problemas respiratórios e neurológicos, entre outros efeitos deletérios (Fisher *et al.*, 2022; Plaskova & Mlcek, 2023; Ferreira, 2022). Além da toxicidade, os métodos convencionais de extração apresentam elevados tempos de extração, altos custos, e muitos destes métodos necessitam de altas temperaturas para que



RCAGT

REVISTA de Ciência de Alimentos e Gastronomia



a extração seja eficiente e, por tanto, podem acabar degradando antioxidantes presentes na amostra, afetando assim a confiabilidade da extração (Plaskova & Mlcek, 2023).

Os solventes orgânicos não afetam apenas a saúde humana, mas também representam riscos ambientais. Ferreira (2022) destaca o caráter volátil dessas substâncias, devido a suas altas pressões de vapor (metanol: 13,02 kPa; cetonas: 24,71 kPa; etanol: 5,95 kPa), tal volatilidade possui a capacidade de contaminar ambientes. Ferreira (2022) expõe que tais solventes participam de reações fotoquímicas atmosféricas e acabam gerando ozônio (O₃) como produto destas reações. O gás ozônio, aliado a outros gases atmosféricos, pode contribuir com o aumento do efeito estufa, que quando passa dos limites naturais, acaba por aumentar o aquecimento global (Oliveira & Castelhana, 2024).

A Química Verde é a área da química que busca propor o uso de solventes “mais limpos”, menos tóxicos, mais acessíveis e eficientes, em substituição dos solventes orgânicos convencionais. Para ser considerado um “solvente verde”, o solvente precisa ser de baixo custo, ser seguro ao meio ambiente e ao consumidor, possuir alta eficiência, ser de fácil reciclagem e biodegradável (Lajoie, Tixier & Chemat, 2022; Chemat, Vian, Tixier, Nutrizio, Jambrak, Munekata, Lorenzo, Barba, Binello & Cravotto, 2020; Padilha & Cavalcante, 2019; Ferreira, 2022).

A água é conhecida por ser um solvente “verde”, ou seja, mais ecológico. É conhecido que a adição de ácido cítrico ao extrato melhora as características extratoras da água (Lajoie *et al.*, 2022). A água acidificada destaca-se como uma alternativa aos solventes convencionais por apresentar menor pressão de vapor (3,2 kPa), o que a torna menos volátil (Plaskova & Mlcek, 2023; Lajoie *et al.*, 2022). Trata-se de um solvente atóxico e ambientalmente seguro, pois não gera reações que resultem em degradação ambiental. Sua segurança permite a aplicação dos extratos obtidos em alimentos, sem risco de intoxicações (Chemat, Vian, Ravi, Khadhraoui, Hilali, Perino & Tixier, 2019).

No caso das brácteas de pinhão, estudos relatam que os antioxidantes presentes nesse extrato vegetal são, principalmente, catequinas e epicatequinas as quais são solúveis em água e estáveis em pH ácidos (Urzedo, 2020; Cruz, Costa, Boas & Esperança, 2024; Fischer *et al.*, 2022; Souza, Branco, Sene, DallAgnol, Agostini, Moura & Salvador, 2014; Plaskova & Mlcek, 2023; Tobal, Arruda, Oliveira, Carneiro & Guerra, 2020).



Os extratos aquosos de brácteas estéreis adicionados de 2%, 4% e 6% de ácidos cítrico apresentaram valores de pH de 2,12, 1,99 e 1,77, respectivamente. O extrato sem adição de ácido cítrico apresentou o valor de 6,26.

A extração assistida por ultrassom (UAE) é reconhecida como uma abordagem sustentável, com potencial para reduzir ou eliminar o uso de solventes orgânicos, diminuindo o impacto ambiental (Shen et al., 2023). Nessa técnica, ondas ultrassônicas com frequência superior a 16 kHz promovem a liberação de compostos bioativos (Oliveira, 2024). O processo ocorre em um banho de ultrassom, composto por um tanque de aço com água destilada (Figura 3), que transmite a energia gerada pelo transdutor localizado na base do equipamento. As amostras são posicionadas de forma centralizada no tanque, favorecendo a eficiência da extração (Oliveira, 2024).

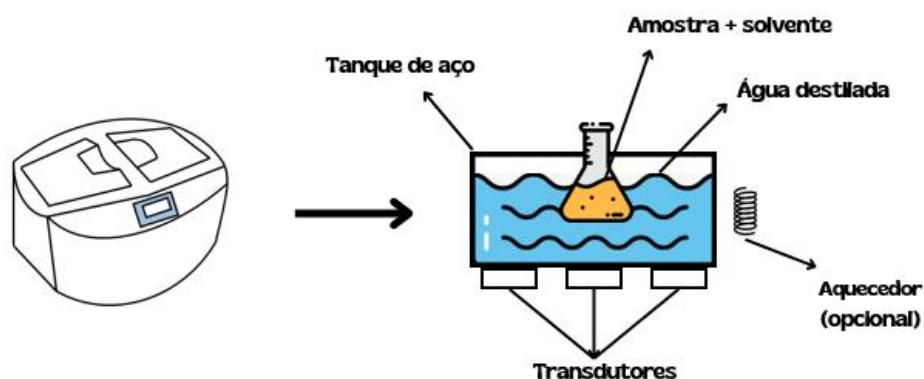


Figura 3: Composição do ultrassom. Fonte: Autores (2025).

A extração ocorre por meio do rompimento das células para a liberação do composto de interesse (Figura 4). Este processo inicia-se no vegetal, no qual a capacidade acústica liberada pelos transdutores é capaz de facilitar a penetração dos solventes nas células por meio da membrana celular, através do aumento da área de contato do sistema solvente/amostra (Oliveira, 2024).

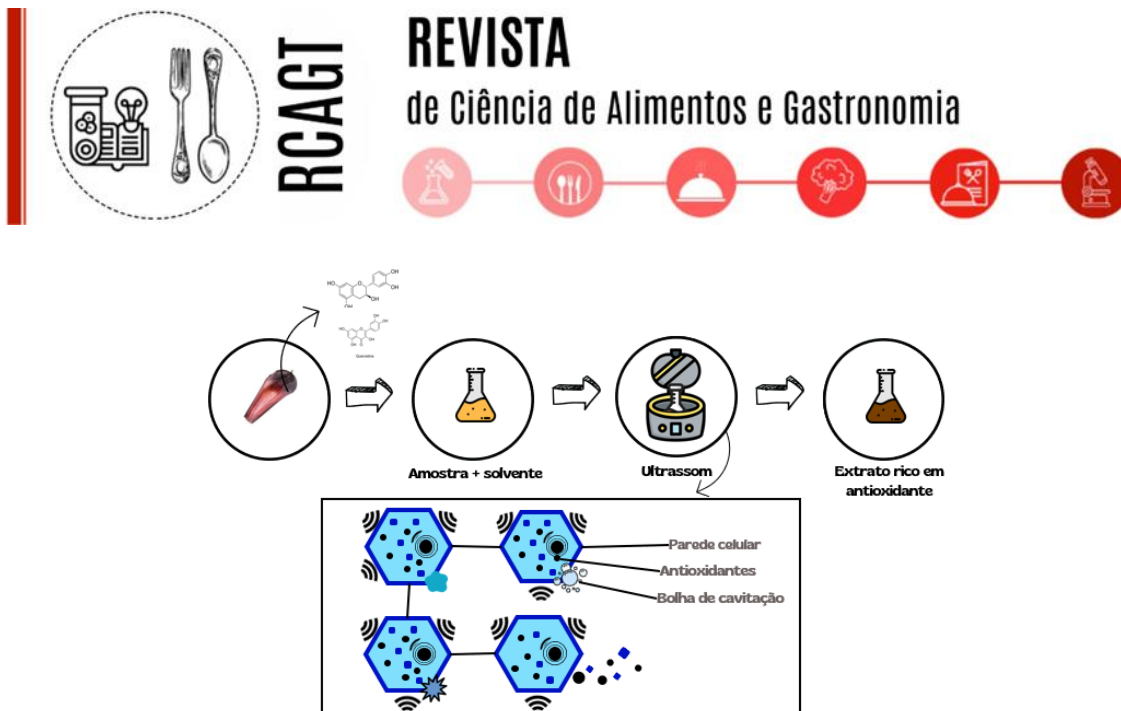


Figura 4: Processo de extração assistida por ultrassom. Fonte: Autores (2025).

Inicialmente, as bolhas de cavitação oscilam de tamanho devido a presença de gás no líquido, essas bolhas passam por um período de expansão e compressão para atingir o volume crítico, com o tempo, no processo de compressão as bolhas menores implodem, o que causa o rompimento da parede vegetal e a consequente liberação dos compostos de interesse (Oliveira, 2024; Silva, Santos, Gomes & Martins, 2021). O extrato aquoso sem adição de ácido cítrico apresentou valores de extração similares e, em alguns casos, até superiores a extração com adição de ácido cítrico (Tabela 1).

Nos mecanismos de determinação da atividade antioxidante pelos métodos de DPPH e ABTS, a adição de ácido cítrico pode ser responsável pela degradação dos compostos fenólicos livres do extrato (Halee, Supavitpatana, Ruttarattanamongkol, Jittrepotch, Rojsuntornkitti & Kongbangkerd, 2018). Compostos fenólicos livres são solúveis, ou seja, a própria água já extrairia substâncias dessa classe, e a presença de ácido acabaria por degradar tais compostos solúveis (Min, Gu, McClung, Bergman & Chen, 2012; Hoffmann, Novak, Rosa, Colombari Filho, Elias & Vanier, 2016). Já na detecção pelo método FRAP, possivelmente a maior presença era de compostos fenólicos complexados a açúcares da parede celular que necessitam de solventes mais fortes ou de substâncias, como o ácido cítrico, que ajudem no desprendimento desses compostos das matérias em que estão ligados (substâncias da parede celular) (Min, *et al.*, 2012; Hoffmann, *et al.*, 2016). Além disso, uma possível explicação é o efeito sinérgico



que o ácido cítrico pode ter nos antioxidantes primários (Kilel, Wanyoko, Faraj & Ngoda, 2019). Antioxidantes primários são aqueles que doam elétrons e/ou hidrogênios a espécie reativa (radical livre), enquanto antioxidantes sinergistas possuem pouca ou nenhuma atividade antioxidante, porém quando combinados de forma adequada podem aumentar a capacidade antioxidante dos antioxidantes primários (Chibuye, Singh, Ramasamy & Maseka, 2024). Portanto, é possível observar que na determinação da capacidade antioxidante pelo método FRAP, o ácido cítrico se mostrou mais sinergista do que degradante, quando comparado às análises de TPC, DPPH e ABTS.

A catequina e a epicatequina seriam os compostos de maior probabilidade de presença no extrato aquoso deste trabalho, devido a sua polaridade e solubilidade em água (Urzedo, 2020). Arnoso, Costa & Schmidt (2019) relatam a capacidade dos monômeros de catequina e epicatequina formarem proantocianidinas (taninos condensados), por meio de polimerização, tais taninos seriam altamente instáveis a presença de ácidos, e acabariam por gerar antocianidinas, outro composto da classe dos compostos fenólicos. Portanto, os compostos com maior probabilidade de presença no extrato aquoso acidificado passam a ser a catequina, epicatequina e antocianinas, enquanto no extrato aquoso não acidificado os compostos de maior presença seriam a catequina, epicatequina e os taninos condensados (Arnoso, Costa & Schmidt, 2019).

3.2 Quantificação de compostos fenólicos

Os teores de compostos fenólicos dos extratos aquosos de brácteas estéreis estão apresentados na Tabela 1, juntamente com os resultados das análises de atividade antioxidante.

Tabela 1. Teor de compostos fenólicos e atividade antioxidante de extratos aquosos de brácteas de *Araucaria angustifolia*.

Tratamento	TPC (mg EAG/ 80 mL)	DPPH (μ mol TEAC/ 80 mL)	FRAP (μ mol TEAC/ 80 mL)	ABTS (μ mol TEAC/ 80 mL)
0% ácido cítrico	45,023 ^{ab} ±0,933	228,518 ^a ±4,635	459,571 ^b ±7,843	838,800 ^a ±38,158
2% ácido cítrico	38,459 ^d ±0,776	113,109 ^d ±8,028	357,047 ^c ±6,624	469,467 ^c ±25,716
4% ácido cítrico	47,266 ^a ±1,164	162,093 ^b ±2,946	1122,375 ^a ±3,804	738,800 ^b ±28,000
6% ácido cítrico	43,273 ^b ±0,998	143,910 ^c ±7,243	345,417 ^c ±8,958	494,800 ^c ±14,422

Média ± desvio padrão (triplicatas). Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey.



RCAGT

REVISTA de Ciência de Alimentos e Gastronomia



Embora a adição de 4% de ácido cítrico tenha promovido o maior teor de compostos fenólicos totais (47,266 mg EAG/80 mL), não houve diferença estatística significativa em relação ao tratamento com apenas água (45,023 mg EAG/80 mL). Os resultados obtidos superam os relatados por Fischer et al. (2022), que verificaram 9,48 mg EAG/g de amostra utilizando etanol:água (60%), sob condições de extração com maior razão sólido-solvente (1:38 m/v) e temperatura elevada (80 °C). Essas diferenças podem ser atribuídas ao tipo de solvente, ao método de extração e à polaridade dos compostos presentes.

A predominância de catequina nas brácteas, um composto altamente solúvel em água, pode justificar a maior eficiência da extração aquosa (Fischer et al., 2022; Mozzer, 2022). Além disso, a epicatequina, também polar, apresenta bom desempenho com solventes aquosos (Costa, 2023). Por outro lado, compostos como quercetina e apigenina possuem baixa solubilidade em água, o que limita sua extração sob estas condições (Cruz et al., 2024; Colombo, 2019).

Temperaturas elevadas, comuns em outras técnicas de extração, podem causar degradação de compostos bioativos, o que reforça a vantagem de métodos a temperatura ambiente, como a ultrassônica utilizada neste estudo (Paskova & Mlcek, 2023). Lobo (2022) verificou a influência da concentração de álcool (20-80%) e tempo (5-15 min) em ultrassom, na extração de compostos fenólicos da casca pinhão. Foi observado o valor de máximo de 124,17 mg EAG/g utilizando 50% de etanol por 10 minutos de extração em ultrassom em temperatura ambiente, evidenciando a influência do solvente e do tempo de extração na recuperação de fenólicos. A redução nos teores de compostos fenólicos observada nos tratamentos com ácido cítrico pode estar associada à degradação de fenólicos livres em pH mais ácido, conforme descrito por Halle et al. (2018) e Min et al. (2012).



3.2.2 Avaliação da atividade antioxidante

Os métodos de avaliação da capacidade antioxidante *in vitro*, aliados com a quantificação de compostos fenólicos, são fundamentais para a seleção de extratos com maior potencial bioativo.

A avaliação da capacidade antioxidante, realizada pelos métodos DPPH, ABTS e FRAP, revelou diferenças entre os tratamentos ($p < 0,05$), com variações que refletem os teores de compostos fenólicos (Tabela 1). O extrato sem adição de ácido cítrico apresentou os maiores valores de DPPH e ABTS, enquanto o tratamento com 4% de ácido cítrico destacou-se no FRAP.

Dornelles e Norenã (2020), avaliaram a capacidade antioxidante de extratos aquosos de brácteas de *Araucaria angustifolia* submetidos a extração assistida por microondas e constataram que a condição ótima de extração (1000 W/ 20 minutos) obteve valores superiores de atividade antioxidante pelos métodos de DPPH (467,79 $\mu\text{mol/g TE}$) e ABTS (427,28 $\mu\text{mol/g TE}$). Estes valores superiores estão associados às diferentes condições de extração. As micro-ondas aquecem o solvente, aumentando a solubilidade dos compostos. Assim, a eficiência do método está no aquecimento localizado gerando uma pressão interna nas células fazendo-as se romper (Bouras *et al.*, 2015; Dorneles e Norenã, 2020). Embora o uso de micro-ondas provoque o aquecimento da amostra, podendo resultar numa redução da eficiência de extração, Dornelles e Norenã (2020), encontraram uma ótima condição de extração no tempo de 20 minutos, obtendo maior solubilidade e menor degradação dos compostos (Dornelles, 2019).

Fischer *et al.* (2022) verificaram a influência do tempo, temperatura e razão sólido-solvente na extração de compostos bioativos de brácteas estéreis de pinhão. As condições ótimas de extração foram 60% etanol:água como solvente extrator, razão sólido-solvente de 1:38 (m/v) e temperatura de 80 °C. Os valores de TPC, DPPH e ABTS foram 9,75 mg EAG/g, 68.53 mol TE/g e 84.07 mol TE/g, respectivamente.

Os valores superiores encontrados no presente estudo podem estar relacionados ao tipo de solvente utilizado, já que a catequina, componente majoritário presente nas brácteas estéreis, e epicatequina são solúveis em água (Cruz *et al.*, 2024; Adão, 2023;



RCAGT

REVISTA de Ciência de Alimentos e Gastronomia



Costa, 2023; Paskova & Mlcek, 2023; Fischer *et al.*, 2022; Urzedo, 2020; Colombo, 2019; Santos, 2016; Souza *et al.*, 2014), e ao método de ultrassom utilizado.

A extração assistida por ultrassom se caracteriza por ser um método eficiente e sustentável, apresentando potencial de extração sem ausência de solventes orgânicos, reduzindo o impacto ambiental (Shen *et al.*, 2023). É possível observar que a extração aquosa sem adição de ácido cítrico foi eficiente (Tabela 1). Halle *et al.* (2018) obtiveram resultados similares com os relatados no presente trabalho, no qual extratos de farelo de arroz preto sem adição de ácido cítrico apresentaram melhor rendimento na extração quando comparados aos extratos acidificados. De acordo com os autores, ocorre uma degradação de compostos fenólicos livres em pH ácidos.

Em relação à atividade antioxidante pelo método de FRAP, Fischer (2022) observou o valor de 140.661 $\mu\text{mol TE/g}$ de amostra. A autora utilizou uma temperatura mais alta (80 °C) comparado ao presente estudo (25 °C) para a realização da extração. Essa diferença pode ter degradado alguns compostos pois sabe-se que apesar de aumentar a solubilidade desses compostos, as altas temperaturas podem interferir nas ligações químicas dessas substâncias que são muito sensíveis (Adão, 2023; Santos, 2016; Urzedo, 2022). Além disso, ao contrário dos demais métodos, os ensaios do FRAP ocorrem sob condições ácidas (pH 3,6), para manter a solubilidade do íon ferro e impulsionar a transferência de elétrons, aumentando assim o potencial de redução (Amarowicz & Pegg, 2019).

4 CONCLUSÕES

A extração aquosa assistida por ultrassom, em especial com 4% (m/v) de ácido cítrico, pode representar uma alternativa eficiente e sustentável, alinhada aos princípios da Química Verde, para futuras aplicações em produtos alimentícios com propriedades funcionais.

REFERÊNCIAS

Adão, G. A. (2023). Avaliação do potencial antidiabético de extratos de *Araucaria angustifolia* (Bertol.) O. Kuntze (araucária) em modelo de toxicidade induzida pela

glicose em *Caenorhabditis elegans*. *Universidade Federal de Santa Catarina*. Disponível em: <https://ojs.sites.ufsc.br/index.php/am/article/view/7920>.

Amarowicz, R., Pegg, R. B. (2019). Natural antioxidants of plants origin. *ScienceDirect*. (1-81). Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31445594/>.

Arnosó, B. J. M., Costa, G. F. & Schmidt, B. (2019). Revisão: Biodisponibilidade e classificação de compostos fenólicos. *Nutrição Brasil*. 18(1). (39-48). <https://doi.org/10.33233/nb.v18i1.1432>.

Bouras, M., Chadni, M., Barba, F. J., Grimi, N., Bals, O., & Vorobiev, E. (2015). Otimização da extração assistida por micro-ondas de polifenóis da casca de Quercus. *Culturas e produtos industriais*, 77, 590-601. Português <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.09.018>.

Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E. & Berset, C. L. W. T. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food science and Technology*. 28(1). 25-30. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5).

Chemat, F., Vian, M. A., Ravi, H. K., Khadhraoui, B., Hilali, S., Perino, S. & Tixier, A. S. F. (2019). Review of Alternative Solvents for Green Extraction of Food and Natural Products: Panorama, Principles, Applications and Prospects. *Molecules*. 24(16). (1-27). [10.3390/molecules24163007](https://doi.org/10.3390/molecules24163007).

Chemat, F., Vian, M. A., Tixier, A. S. F., Nutrizio, M., Jambrak, A. R., Munekata, P. E. S., Lorenzo, J. M., Barba, F. J., Binello, A. & Cravotto, G. (2020). A review of sustainable and intensified techniques for extraction of food and natural products. *The Royal Society of Chemistry*. 22 (8). (2325–2353). <https://doi.org/10.1039/C9GC03878G>.



Chibuye, B., Singh, I. S., Ramasamy, S., & Maseka, K. K. (2024). Natural antioxidants: a comprehensive elucidation of their sources, mechanisms, and applications in health. *Next Research*, 100086. <https://doi.org/10.1016/j.nexres.2024.100086>.

Colombo, M. (2019). Desenvolvimento e caracterização de sistemas de liberação contendo kaempferol para administração intranasal e oral. *Universidade Federal do Rio Grande do Sul*. (1-249). <http://hdl.handle.net/10183/201182>.

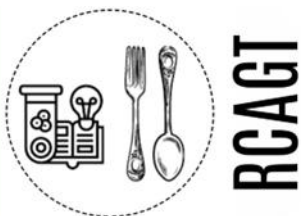
Costa, C. C. O. S. (2023). Investigação dos efeitos da apigenina conjugada a ciclodextrinas em modelo in vitro de neuroinflamação em células da medula espinhal. *Universidade Federal da Bahia*. (1-93). <https://repositorio.ufba.br/handle/ri/39105>.

Cruz, L. L., Costa, M. C., Boas, S. M. V. & Esperança, E. S. (2024). Estudo da solubilidade da quercetina em solventes orgânicos puros e mistos. *XXXII Congresso de Iniciação Científica da UNICAMP*. (1-5). <https://prp.unicamp.br/inscricao-congresso/resumos/2024P23391A39899O402.pdf>.

Dorneles, M. S. (2019). Extração assistida por micro-ondas e ultrassom de compostos bioativos das brácteas da *Araucaria angustifolia* e seu encapsulamento por atomização e liofilização. Dissertação. *Universidade Federal do Rio Grande do Sul*. (1-122). <http://hdl.handle.net/10183/197367>.

Dorneles, M. S. e Norenã C. P. Z. (2020). Extraction of bioactive compounds from *Araucaria angustifolia* bracts by microwave-assisted extraction. *IFST* (1-12). <https://doi.org/10.1111/jfpp.14481>.

Ferreira, B. L., (2022). Extração de compostos bioativos do resíduo do processamento da goiaba (*Psidium guajava*) utilizando líquidos iônicos. *Universidade Federal de Santa Catarina*. (1-125). <https://repositorio.ufsc.br/handle/123456789/236083>.



Fischer, T. E., Marcondes, A., Zardo, D. M., Nogueira, A., Calhella, R. C., Vaz, J. A., ... & Alberti, A. (2022). Bioactive Activities of the Phenolic Extract from Sterile Bracts of *Araucaria angustifolia*. *Antioxidants*, 11(12), 2431. <https://doi.org/10.3390/antiox11122431>.

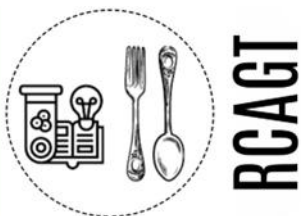
Fischer, T. E. (2022). Otimização da extração de compostos fenólicos de brácteas estéreis de *Araucaria angustifolia* baseado nas propriedades químicas e bioatividade. *Universidade Estadual de Ponta Grossa*. (1-85) <http://tede2.uepg.br/jspui/handle/prefix/3627>.

Halee, A., Supavitpatana, P., Ruttarattanamongkol, K., Jittrepotch, N., Rojsuntornkitti, K. & Kongbangkerd, T. (2018). Effects of solvent types and citric acid concentrations on the extraction of antioxidants from the black rice bran of *Oryza sativa L. CV. Hom Nin*. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*. 8 (2). (765-769). <https://doi.org/10.15414/jmbfs.2018.8.2.765-769>.

Hoffmann, J. F., Novak, G., Rosa, G., Colombari, J. M. F., Elias, M. C. & Vanier, N. L. (2016). Compostos fenólicos e atividade antioxidante em arroz de pericarpo preto. *X Congresso Brasileiro de Arroz Irrigado*. (1-4). http://sosbai.com.br/uploads/trabalhos/compostos-fenolicos-e-atividade-antioxidante-em-arroz-de-pericarpo-preto_903.pdf.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. (2023). Produção da Extração Vegetal e Silvicultura. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/estatisticas/economicas/agricultura-e-pecuaria/9105-producao-da-extracao-vegetal-e-da-silvicultura.html>.

Instituto Adolfo Lutz. (2005). *Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz: Métodos físico-químicos para análise de alimentos* (4ª ed., Vol. 1). Brasília (DF): ANVISA.



Jacinto, R. C., Brand, M. A., da Cunha, A. B., Souza, D. L., & da Silva, M. V. (2017). Utilização de resíduos da cadeia produtiva do pinhão para a produção de pellets para geração de energia. *Floresta*, 47(3), 353-363. <https://doi.org/10.5380/ufv.v47i3.52080>.

Kilel, E. C., Wanyoko, J. K., Faraj, A. K. & Ngoda, P. (2019). Effect of Citric Acid on the Total Monomeric Anthocyanins and Antioxidant Activity of Liquor Made from Unprocessed Purple Leafed TRFK 306 Kenyan Tea Clone. *Food and Nutrition Sciences*. 10 (10). (1191-1201). [10.4236/fns.2019.1010086](https://doi.org/10.4236/fns.2019.1010086).

Lajoie, L., Tixier, A. S. F. & Chemat F. (2022). Water as Green Solvent: Methods of Solubilisation and Extraction of Natural Products—Past, Present and Future Solutions. *Pharmaceuticals*. 15(12). (1-22). <https://doi.org/10.3390/ph15121507>.

Lobo, J. D. P. (2022) Extração de corantes antioxidantes da casca do pinhão (*Araucaria angustifolia* (Bertol.) Kuntze). Universidade Tecnológica Federal do Paraná. (1-42). <http://repositorio.utfpr.edu.br/jspui/handle/1/30693>.

Michelon, F.; Branco, C.S.; Calloni, C.; Giazzon, I.; Agostini, F.; Spada, P.K.W. & Salvador, M. (2012). *Araucaria Angustifolia*: A Potential Nutraceutical with Antioxidant and Antimutagenic Activities. *Current Nutrition & Food Science*. 8. (155–159). <http://dx.doi.org/10.2174/157340112802651103>.

Min, B., Gu, L., McClung, A. M., Bergman, C. J. & Chen, M. H. (2012). Free and bound total phenolic concentrations, antioxidant capacities, and profiles of proanthocyanidins and anthocyanins in whole grain rice (*Oryza sativa* L.) of different bran colours. *Food Chemistry*. 133 (3). (715-722). <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.01.079>.

Mozzer, W. K. (2022). Prospecção de extratos de brácteas e sementes de *Araucaria angustifolia* (Bertol.) O. Kuntze: perfil de compostos fenólicos e avaliação do potencial

antioxidante in vitro. *Universidade Federal de Santa Catarina.* (1-51).
<https://repositorio.ufsc.br/handle/123456789/244311>.

Oliveira, K. (2024). Efeito do ultrassom na extração de compostos fitoquímicos em frutas e hortaliças. *Universidade Federal do Pampa.* (1-33).
<https://repositorio.unipampa.edu.br/jspui/handle/rii/9568>.

Oliveira, L. L. & Castelhana F. J. (2024). Mudanças climáticas e poluição do ar em Parnamirim, Rio Grande do Norte. *I Seminário de graduação de geografia.* (29-38). ISBN: 978-65-5569-480-2.

Oliveira, R. S., Rocha, J. S., Pinheiro, K. H., Mendonça, M. P. & Barão, C. E. (2016). Aplicação de processo ultrassom na extração de catequinas dos resíduos de chá verde. *Brazilian Journal of Food Research*, 3(7), 29-40.
<https://periodicos.utfpr.edu.br/rebrapa/article/viewFile/3724/pdf>.

Padilha, D. S., Luz, R. F. & Cavalcante, R. M. (2019). Prospecção do mercado latino-americano de solventes verdes. *Simpósio de pesquisa operacional e logística da marinha.* (19). (1-13). <http://proceedings.blucher.com.br/article-details/prospeco-do-mercado-latino-americano-de-solventes-verdes-34585>.

Pereira, L. F. A., Firmo, W. C. A. & Coutinho, D. F. (2022). The importance of reusing waste from the food industry: the case of fruit processing. *Research, Society and Development.* 11(12). e38111234089. <https://doi.org/10.33448/rsd-v11i12.34089>.

Plaskova, A. & Mlcek, J. (2023). New insights of the application of water or ethanol-water plant extract rich in active compounds in food. *Nutrition and Food Science Technology.* (1-23). <https://doi.org/10.3389/fnut.2023.1118761>.

Rufino, M. S. M., Alves, R. E., Brito, E. S., Morais, S. M., Sampaio, C. G., Pérez-Jiménez, J. & Saura-Calixto, F. D. (2007). Metodologia Científica: Determinação da



Atividade Antioxidante Total em Frutas pela Captura do Radical Livre ABTS+. *EMBRAPA*. (1-4).

<https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/426954/1/Cot128.pdf>.

Rufino, M. S. M., Alves, R. E., Brito, E. S., Morais, S. M., Sampaio, C. G., Pérez-Jiménez, J. & Saura-Calixto, F. D. (2006). Metodologia Científica: Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pelo Método de Redução do Ferro (FRAP). *EMBRAPA*. (1-4). <http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/664098>.

Santos, A. F. F. (2021). Extração assistida por ultrassom de compostos bioativos das matrizes vegetais (*Eryngium foetidum L e Talinum triangulare Jacq. Willd*) do bioma Amazônico utilizando solventes verdes. *Universidade Federal do Pará*. (1–108). https://repositorio.ufpa.br/bitstream/2011/15266/1/Dissertacao_ExtracaoAssistidaUltrassom.pdf.

Santos, C. H. K. (2016). Otimização multiobjetivo da extração de antioxidantes do resíduo da casca de pinhão (*Araucaria angustifolia (bertol.) kuntze*). *Universidade Tecnológica Federal Do Paraná*. (1-52).

<http://educapes.capes.gov.br/handle/capes/670094>

Santos, P. C. M. (2022). Propriedades antioxidante, antimicrobiana e toxicidade do extrato da casca do alho (*Allium sativum L.*). *Universidade Federal do Ceará*. (1–63). <http://repositorio.ufc.br/handle/riufc/68710>.

Shen, L., Pang, S., Zhong, M., Sun, Y., Qayum, A., Liu, Y., ... & Ren, X. (2023). A comprehensive review of ultrasonic assisted extraction (UAE) for bioactive components: Principles, advantages, equipment, and combined technologies. *Ultrasonics Sonochemistry*, 101, 106646. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2023.106646>.

Silva, G. F. A., Santos, L. G., Gomes, B. M. & Martins, V. G. (2021). Clitoria ternatea: Avaliação do tempo de extração de compostos fenólicos obtidos pela técnica assistida por ultrassom. *Revista Brasileira de Agrotecnologia*. 11(2). (990-994). <https://doi.org/10.18378/REBAGRO.V12I2.8940>.

Souza, M. O., Branco, C. S., Sene, J., DallAgnol, R., Agostini, F., Moura, S. & Salvador, M. (2014). Antioxidant and Antigenotoxic Activities of the Brazilian Pine *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Kuntze. *Antioxidants*. 3(1). (24–37). [10.3390/antiox3010024](https://doi.org/10.3390/antiox3010024).

Statsoft. (2010). *Statistica for Windows*, version 6.0. Tulsa: Statsoft Inc.

Swain, T., & Hillis, W.E. (1959). The phenolic constituents of *Prunus domestica*. I. The quantitative analysis of phenolic constituents. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 10. (63–68). <https://doi.org/10.1002/jsfa.2740100110>.

Tobal L. F. M., Arruda, L. C. P., Oliveira, A. S., Carneiro, G. F. & Guerra, M. M. P. (2020). Diluente quimicamente definido e antioxidantes polifenóis na criopreservação de sêmen ovino. *Ciência Animal*. 30 (4). (294-297). <https://revistas.uece.br/index.php/cienciaanimal/article/view/9922>.

Urzedo N. D. R. (2020). O chá verde e suas propriedades: uma breve revisão bibliográfica abrangendo os anos de 2000 a 2020. *Universidade Federal de Uberlândia*. (1-40). <https://repositorio.ufu.br/handle/123456789/30879>.