



UNIVERSIDADE PARANAENSE – UNIPAR

Recredenciada pela Portaria – MEC n.º 747, de 10/09/2020 – D.O.U. 11/09/2020

Mantenedora: UNIPAR – SOCIEDADE EMPRESARIAL LTDA.

Coordenação de Pós-Graduação *Stricto Sensu* e Pesquisa

Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia Aplicada à Agricultura

Gilianny Rocatto Teixeira

**Alto teor de ácido ascórbico obtido a partir da otimização de método extrativo dos
frutos de *Malpighia emarginata* DC.**

**Umuarama
2025**

Gilianny Rocatto Teixeira

**Alto teor de ácido ascórbico obtido a partir da otimização de método extrativo dos
frutos de *Malpighia emarginata* DC.**

Dissertação apresentada como parte
das exigências para a obtenção do grau
de mestre em Biotecnologia Aplicada
à Agricultura pela Universidade
Paranaense - UNIPAR.

Orientador: Emerson Luiz Botelho
Lourenço

Coorientação: Jaqueline Hoscheid

Umuarama
2025

Ficha Catalográfica

T266a Teixeira, Gilianny Rocatto.

Alto teor de ácido ascórbico obtido da otimização de método extrativo dos frutos de *Malpighia emarginata* DC. / Gilianny Rocatto Teixeira. – Umuarama : Universidade Paranaense – UNIPAR, 2025.

39 f.

Orientador: Dr. Emerson Luiz Botelho Lourenço.
Dissertação (Mestrado) – Universidade Paranaense – UNIPAR.

1. Acerola. 2. Ácido ascórbico. 3. Extrato otimizado. 4. Turbulização. 5. Vitamina C. I. Universidade Paranaense – UNIPAR. II. Título.

(21 ed.) CDD: 634.2

Bibliotecária Responsável Regiane Luiza Campaneli CRB 9/2194

**Alto teor de ácido ascórbico obtido a partir da otimização de método extrativo dos
frutos de *Malpighia emarginata* DC.**

Dissertação aprovada como requisito obrigatório para obtenção do Grau de Doutor ou Mestre no Programa de Pós-graduação em Biotecnologia Aplicada à Agricultura da Universidade Paranaense – UNIPAR, pela seguinte banca examinadora:

Dr. Emerson Luiz Botelho Lourenço
Orientador

Dra. Jaqueline Hoscheid

Dr. Geraldo Emílio Vicentini

Universidade Paranaense – UNIPAR

Umuarama, 28 de Agosto de 2025

AGRADECIMENTOS

O processo é árduo e sem pessoas especiais não seria possível. Agradeço ao meu Deus em primeiro lugar. À minha família tornando possível minha jornada até o fim. Aos meus orientadores Emerson Luiz Botelho Lourenço e Jaqueline Hoscheid por cada etapa muito bem conduzida e à equipe do laboratório Mariana Dalmagro e Mariana Pinc pelo apoio e disponibilidade incondicional.

SUMÁRIO

Resumo	6
Abstract	7
CAPÍTULO I	8
Otimização extrativa de compostos bioativos dos frutos de <i>Malpighia emarginata</i> DC. através do planejamento experimental Box-Behnken	8
1 INTRODUÇÃO	9
2 MATERIAL E MÉTODOS	11
2.1 Material	11
2.2 Métodos extrativos	11
2.2.1 Maceração.....	11
2.2.2 Turbolização.....	11
2.2.3 Soxhlet.....	11
2.3 Rendimento extrativo	12
2.4 Otimização do método extrativo	12
2.5 Análises quantitativas	12
2.5.1 Compostos fenólicos totais.....	12
2.5.2 Atividade antioxidante.....	12
2.6 Caracterização do extrato otimizado	13
2.6.1 Identificação do extrato otimizado por UHPLC-MS/MS.....	13
2.6.2 Doseamento de ácido ascórbico.....	13
_Toc2107552952.7 Análise estatística.....	14
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	15
3.1 Avaliação do potencial extrativo de diferentes técnicas para <i>M. emarginata</i>	15
3.2 Avaliação do impacto das variáveis frente a otimização de método extrativo por turbolização	18
4 CONCLUSÕES	28
5 AGRADECIMENTOS	29
6 REFERÊNCIAS	30
ANEXOS	33
Anexo 1. Normas para publicação na revista <i>Natural Products Research</i>	33

Gilianny Rocatto Teixeira

Alto teor de ácido ascórbico obtido a partir da otimização de método extrativo dos frutos de *Malpighia emarginata* DC.

RESUMO: *Malpighia emarginata* DC., conhecida popularmente como acerola e pertencente à família Malpighiaceae, é uma fruta da biodiversidade brasileira amplamente consumida *in natura*. A casca, polpa e semente são fontes de compostos bioativos, com destaque para as antocianinas, responsáveis pela coloração avermelhada, e ácido ascórbico, reconhecida pela atividade antioxidante eficaz no combate aos radicais livres, auxiliando na prevenção de doenças cardiovasculares, redução dos riscos de neoplasias, obesidade e outras condições crônicas. Diversos fatores influenciam a eficiência dos métodos de extração, incluindo a parte do material a ser utilizada, origem, granulometria, tipo de solvente, tempo de extração e temperatura. Para otimizar processos extrativos, o planejamento experimental é uma ferramenta essencial que permite a determinação das condições ideais para maximizar a extração dos compostos bioativos de interesse. Dentre eles, o delineamento experimental Box-Behnken, por sua vez, possibilita a avaliação dos efeitos dos fatores isolados e de suas interações sobre os parâmetros analisados. O presente estudo objetivou otimizar o processo de extração de compostos bioativos da acerola para potencial desenvolvimento de formulações e/ou suplementos alimentares. Inicialmente, compararam-se os métodos de maceração, turbolização e Soxhlet, analisando o rendimento, teor de compostos fenólicos totais (CFT) e atividade antioxidante por DPPH, para selecionar a técnica extrativa mais eficiente, que foi otimizada por planejamento experimental Box-Behnken, considerando os fatores temperatura de extração (20, 40 e 60 °C), velocidade de agitação (9.000, 12.000 e 15.000 RPM) e razão soluto:solvente (1:10, 1:25 e 1:32 m/v). As variáveis independentes avaliadas foram: rendimento, CFT e atividade antioxidante por DPPH. O método mais eficiente selecionado para otimização foi turbolização com tempo de 5 minutos. Os resultados indicaram efeito estatisticamente significativo de todos os parâmetros avaliados isoladamente e da interação entre temperatura e velocidade de agitação frente as variáveis independentes: CFT e atividade antioxidante. É importante ressaltar que certos compostos da acerola, em especial o ácido ascórbico, apresentam sensibilidade térmica, resultando na possibilidade da degradação e consequente diminuição da atividade antioxidante. Por fim, as condições ideais verificadas para o extrato otimizado de acerola através da turbolização (tempo de 5 minutos) foram velocidade de 9.000 RPM, proporção soluto:solvente de 1:10 g/mL e temperatura de 40 °C. O extrato otimizado foi caracterizado e apresentou flavonoides em sua composição fitoquímica e elevado teor de ácido ascórbico.

Palavras-chave: Acerola. Ácido ascórbico. Extrato otimizado. Turbolização. Vitamina C.

Gilianny Rocatto Teixeira

High ascorbic acid content obtained from the optimization of the extraction method of
Malpighia emarginata DC. Fruits

ABSTRACT: *Malpighia emarginata* DC., popularly known as acerola and belonging to the Malpighiaceae family, is a fruit from Brazilian biodiversity that is widely consumed in its natural state. The peel, pulp and seeds are sources of bioactive compounds, especially anthocyanins, responsible for the reddish color, and vitamin C, recognized for its effective antioxidant activity in combating free radicals, helping to prevent cardiovascular diseases, reduce the risk of neoplasia, obesity and other chronic conditions. Several factors influence the efficiency of extraction methods, including the part of the material to be used, origin, particle size, type of solvent, extraction time and temperature. To optimize extraction processes, experimental planning is an essential tool that allows the determination of ideal conditions to maximize the extraction of the bioactive compounds of interest. Among them, the Box-Behnken experimental design, in turn, allows the evaluation of the effects of isolated factors and their interactions on the parameters analyzed. The present study aimed to optimize the extraction process of bioactive compounds from acerola for potential development of formulations and/or dietary supplements. Initially, the maceration, turbolization and Soxhlet methods were compared, analyzing the yield, total phenolic compound content and antioxidant activity by DPPH, to select the most efficient extraction method. The chosen technique will be optimized by Box-Behnken experimental planning, considering the factors extraction temperature (20, 40 and 60 °C), agitation speed (9,000, 12,000 and 15,000 RPM) and mass/solute ratio (1:10, 1:25 and 1:32 m/v), and the independent variables yield, total phenolic compound content and antioxidant activity by DPPH were measured. The most efficient method selected for optimization was turbolization with a time of 5 minutes. The results indicated a statistically significant effect of all parameters evaluated separately and of the interaction between temperature and stirring speed on the independent variables: phenolic compound content and antioxidant activity. It is important to emphasize that certain acerola compounds, especially ascorbic acid, are thermally sensitive, resulting in the possibility of degradation and consequent decrease in antioxidant activity. Finally, the ideal conditions verified for the optimized acerola extract through turbolization (time of 5 minutes) were a speed of 9000 RPM, a solute-solvent ratio of 1:10 g/mL and a temperature of 40°C. The optimized extract was characterized and presented flavonoids in its phytochemical composition and high vitamin C content.

Key-words: Acerola. Ascorbic acid. Optimized extract. Turbolization. Vitamin C.

CAPÍTULO I

Otimização extrativa de compostos bioativos dos frutos de *Malpighia emarginata* DC. através do planejamento experimental Box-Behnken

RESUMO: O presente estudo investigou a otimização da extração de compostos bioativos de *Malpighia emarginata* (acerola), reconhecida por suas propriedades antioxidantes associadas à alta concentração de ácido ascórbico. A otimização foi realizada pelo método de turbulização, e o planejamento experimental Box-Behnken associado à metodologia de superfície resposta foi aplicado para analisar os efeitos de três variáveis independentes: proporção soluto:solvente (1:10, 1:25 e 1:32 m/v), velocidade (9.000, 12.000 e 15.000 RPM) e temperatura (20, 40 e 60 °C). Os extratos foram avaliados quanto ao rendimento, teor de compostos fenólicos totais (CFT) e atividade antioxidante (DPPH). As condições ideais de extração foram identificadas como proporção soluto:solvente de 1:10, durante 5 minutos em etanol 80%, velocidade de 9.000 RPM e temperatura de 40 °C. Foram identificados flavonoides e alto conteúdo de ácido ascórbico no extrato otimizado. Esses resultados aprimoram as técnicas de extração de compostos bioativos e reforçam o potencial de *M. emarginata* para aplicações industriais.

Palavras-chave: Acerola. Atividade antioxidante. Box-Behnken. Turbulização. Vitamina C.

1 INTRODUÇÃO

A acerola (*Malpighia emarginata* DC. Sin. *Malpighia glabra* L. e *Malpighia puniceifolia* L.), pertencente à família Malpighiaceae, é uma planta nativa da América Central e do Sul, adepta a climas tropicais e subtropicais. Estudos apontam que o Brasil é o maior produtor, consumidor e exportador mundial de acerola, com boa parte destinada à exportação em forma de polpa ou suco para mercados como Europa, Japão e Estados Unidos. A produção nacional está concentrada na região Nordeste, onde as condições climáticas favorecem seu cultivo e produção constante ao longo do ano (Olędzki e Harasym 2024). Além do fator econômico, o valor nutricional impulsiona seu consumo, visto que a concentração de vitamina C na acerola pode alcançar de 1000 a 5000 mg a cada 100 g de polpa, superando em até 100 vezes a quantidade presente em laranjas e em 10 vezes a da goiaba (Silveira et al. 2022).

O alto teor de vitamina C confere à acerola propriedades antioxidantes relevantes, já que essa vitamina é capaz de eliminar eficazmente radicais livres, protegendo o organismo de processos oxidativos associados ao envelhecimento e a diversas doenças crônicas (Olędzki e Harasym 2024). Além disso, outros compostos bioativos, como flavonoides, carotenoides e antocianinas, enriquecem o perfil funcional do fruto. Os flavonoides, especialmente, desempenham um papel importante na prevenção de lipoperoxidação e têm propriedades anti-inflamatórias e imunomodulatórias. Os carotenoides, por sua vez, atuam como pró-vitamina A e contribuem para a saúde da visão e da pele (Belwal et al. 2018; Kim et al. 2019).

A crescente demanda por ingredientes naturais e sustentáveis tem direcionado pesquisas ao uso de extratos vegetais em produtos cosméticos e farmacêuticos, sendo a acerola uma opção atrativa para essas indústrias (Kowalczyk et al. 2024). Extratos de acerola, têm se mostrado eficazes como antioxidantes em formulações dermocosméticas, promovendo proteção contra radiações UV e contribuindo para o clareamento e o antienvelhecimento da pele. Estudos indicam que o extrato de acerola, quando incorporado em dermocosméticos, potencializa o efeito fotoprotetor desses produtos, além de demonstrar efeitos positivos na melanogênese e na inibição da tirosinase, enzima associada à síntese de melanina, o que reforça seu valor como ingrediente ativo em cuidados com a pele (Hanamura, Uchida e Aoki 2008; Panzella e Napolitano 2019).

Apesar do vasto potencial da acerola, a concentração de vitamina C e outros bioativos é altamente dependente dos métodos de extração utilizados. Diferentes técnicas extrativas podem impactar a estabilidade e a biodisponibilidade dos bioativos, limitando a eficácia do extrato em aplicações industriais (Santos et al. 2018; Dang et al 2024). Por isso, é essencial o desenvolvimento e otimização de métodos que maximizem o teor de polifenóis, preservando suas propriedades antioxidantes. Este trabalho teve como objetivo otimizar o processo extrativo da acerola, para potencial desenvolvimento de formulações e/ou suplementos alimentares, permitindo assim o desenvolvimento de soluções mais eficazes e sustentáveis para a saúde e bem-estar.

2 MATERIAL E MÉTODOS

1.1 Material

Frutos *in natura* de acerola (*M. emarginata*) foram coletados no Horto de Plantas Medicinais da UNIPAR (Universidade Paranaense), campus Umuarama (Brasil) (S23°47'55-W53°18'48). O material foi previamente identificado e com exsicata depositada no Herbário da Universidade Paranaense (HEUP) sob o número 138. Os frutos foram congelados e liofilizados e posteriormente submetido a pulverização em moinhos de facas. Partículas com tamanho de 0,180 mm foram selecionadas por agitação em série padrão de peneiras Tyler, para as extrações (Bertel, Caieiras, SP).

2.2 Métodos extrativos

Os extratos foram preparados utilizando etanol 80% como solvente e proporção de 1:25 (p/v) soluto/solvente. O grau alcoólico foi determinado com base em estudos anteriores (da Costa et al. 2020). Após a extração, as amostras foram submetidas a filtração a vácuo seguidos de rotaevaporação (Rotaevaporador Nova Ética) e liofilização (Liofilizador JJ Científica, modelo LJJ02). Os extratos foram armazenados a -20 °C até análise. Todos os extratos foram preparados em triplicatas independentes.

2.2.1 Maceração

A maceração foi realizada em um recipiente vedado à temperatura ambiente por 7 dias, sem realizar a renovação do solvente durante o processo (Tominc et al. 2022).

2.2.2 Turbolização

A extração foi realizada utilizando um dispersor digital Ultra-Turrax® T25 (IKA) equipado com elemento dispersante modelo 18G (IKA). O processo foi conduzido a 12.000 RPM e o tempo de extração definido através de cinética (1, 3, 5, 10, 15 e 20 min). A filtragem foi realizada imediatamente após a extração (Jacobucci et al. 2024).

2.2.3 Soxhlet

A extração por Soxhlet foi conduzida por um período de 6 h (Tominc et al. 2022).

2.3 Rendimento extrativo

O rendimento extrativo (%) foi calculado gravimetricamente, sendo a razão entre a massa do extrato liofilizado (g) e a massa do material vegetal seco (g), multiplicada por 100 (p/p, %).

2.4 Otimização do método extrativo

A metodologia de extração por turbulização foi utilizada para otimizar o processo, empregando um delineamento experimental Box-Behnken com três níveis e triplicata no ponto central. Essa estratégia resultou em 13 combinações e 15 experimentos. A pesquisa investigou os impactos da taxa de cisalhamento/velocidade (9.000, 12.000 e 15.000 RPM), da relação entre soluto:solvente (1:10, 1:25 e 1:32 m/v) e da temperatura (20, 40 e 60 °C), em etanol 80% durante 5 minutos. Após o preparo dos extratos, as amostras foram imediatamente filtradas, rotaevaporadas (Rotaevaporador Nova Ética) e liofilizadas (Liofilizador JJ Científica, modelo LJJ02). Para evitar vies, os experimentos foram realizados de forma aleatória. Os extratos foram avaliados quanto ao rendimento, teor de compostos fenólicos totais (CFT) e atividade antioxidante (AA).

2.5 Análises quantitativas

2.5.1 Compostos fenólicos totais

Para determinação de CFT foi gerada uma curva de calibração utilizando ácido gálico (Sigma-Aldrich®), cobrindo uma faixa de concentração de 250 a 15,625 $\mu\text{g mL}^{-1}$, resultando na equação $y = 7,1533x + 38,464$, com coeficiente de correlação (R^2) de 0,9915. Extratos na concentração de 1000 $\mu\text{g mL}^{-1}$ foram quantificados em triplicata pelo método de Folin-Ciocalteu, e o CFT foi expresso como microgramas de ácido gálico equivalente por grama de extrato ($\mu\text{g}_{\text{EAG}} \text{g}_{\text{ext}}^{-1}$) (Singleton e Rossi, 1965).

2.5.2 Atividade antioxidante

A AA dos extratos foi determinada pela sua capacidade de neutralizar os radicais 2,2-Difenil-1-picrilhidrazil (DPPH) através de uma curva de calibração padrão com ácido gálico ($y = -0,3634x + 604,7$, $R^2 = 0,98$). Essas medições foram realizadas com extratos na concentração de 1000 $\mu\text{g mL}^{-1}$ em um espectrofotômetro UV/Vis (Kasuki®) conforme descrito por Silveira et al. (2018), em triplicata.

2.6 Caracterização do extrato otimizado

2.6.1 Identificação do extrato otimizado por UHPLC-MS/MS

Para a caracterização dos compostos fitoquímicos, preparou-se uma solução do extrato otimizado (ensaio 1) na concentração de $1000 \mu\text{g mL}^{-1}$, utilizando uma mistura de metanol e água na proporção 1:1 (v/v) como solvente. Após a preparação, a solução foi filtrada por meio de filtros de PTFE (Millex, $0,22 \mu\text{m} \times 13 \text{ mm}$, Millipore). Em seguida, alíquotas de $2 \mu\text{L}$ foram injetadas em um sistema de cromatografia líquida de ultra-alta eficiência (UHPLC, modelo Nexera X2, Shimadzu, Japão) acoplado a um espectrômetro de massas do tipo Q-Tof (Impact II, Bruker, Alemanha), equipado com fonte de ionização por eletrospray (ESI). A metodologia empregada baseou-se nos procedimentos descritos por Pinc et al. (2023). Os espectros de massa foram obtidos por ESI, tanto no modo de ionização positiva quanto negativa. O cromatograma de íons e os espectros MS e MS/MS foram visualizados com o software Data Analysis 4.3 e os metabólitos foram anotados comparando os espectros de fragmentação do MassBank of North America (MoNA).

2.6.2 Doseamento de ácido ascórbico

O doseamento de ácido ascórbico do extrato otimizado (ensaio 1) foi quantificado utilizando um sistema UHPLC-MS/MS (Shimadzu Nexera X2, Japão) acoplado a um espectrômetro de massas Q-TOF Impact II (Bruker, Alemanha). Para a separação cromatográfica, $1 \mu\text{L}$ de extrato foi injetado em uma coluna CSH C18 (Waters, EUA, $1,7 \mu\text{m}$, $2,1 \times 100 \text{ mm}$), mantida a $40 \text{ }^\circ\text{C}$. As amostras foram diluídas em água acidificada com 0,1% de ácido fórmico, seguida de centrifugação e filtragem adequada antes da injeção.

A fase móvel consistiu em água ultrapura (com 0,1% de ácido fórmico) (fase A) e metanol (fase B), ambos com grau de pureza LC-MS. O fluxo foi mantido constante em $0,250 \text{ mL min}^{-1}$ durante toda a corrida cromatográfica. O espectrômetro de massas Q-TOF Impact II, equipado com fonte de ionização por eletrospray (ESI), operou no modo de aquisição MS. A taxa de aquisição foi de 1 Hz, com faixa m/z de 50–700. As análises foram realizadas no modo de ionização negativo, com voltagem do capilar ajustada para 3,00 kV, temperatura da fonte a $200 \text{ }^\circ\text{C}$ e fluxo de gás de dessolvatação de 9 L min^{-1} . O ácido ascórbico foi monitorado com base na massa exata ($\pm 10 \text{ ppm}$) e no tempo de

retenção correspondente à curva de calibração do padrão de referência. Todas as análises foram realizadas em triplicata.

2.7 Análise estatística

Para comparar os resultados das técnicas de extração, foi aplicada uma análise de variância (ANOVA) e as médias obtidas foram comparadas utilizando o teste de Tukey com significância de $p \leq 0,05$. A otimização do método de extração foi conduzida por meio de um delineamento Box-Behnken, dentro de um modelo linear, também com nível de significância de $p \leq 0,05$, avaliando três variáveis independentes e triplicatas no ponto central em um único bloco. O software STATISTICA 13.0 (Statsoft®, EUA) foi utilizado para análise dos dados, confecção dos gráficos de superfície resposta e desejabilidade.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Avaliação do potencial extrativo de diferentes técnicas para *M. emarginata*

As técnicas de extração impactam diretamente na qualidade dos compostos bioativos, influenciando em fatores como pureza, rendimento e estabilidade. Métodos distintos, como ultrassom, micro-ondas e extrações convencionais, apresentam eficiências variadas e modificam a estrutura e reatividade dos compostos extraídos. Portanto, a escolha e otimização da técnica extrativa visam preservar a integridade molecular e as propriedades funcionais dos compostos para aplicações industriais (Tena e Asuero 2022).

Os processos de extração apresentaram rendimentos satisfatórios (Tabela 1), visto que o rendimento médio da polpa *in natura*, sem processamento, é de aproximadamente 76,05% (Farinelli et al. 2021). Contudo, a aplicação de diferentes métodos extrativos não resultou em variações estatisticamente significativas nesse parâmetro. Em outro estudo focado na otimização extrativa para recuperação de antocianinas, o método de maceração foi empregado, obtendo rendimentos variando entre 48% e 63% (Cerino et al. 2023).

A análise do teor de CFT revelou diferença estatística significativa entre os métodos, com o melhor resultado obtido pelo uso da turbolização por 5 minutos. Observou-se que, à medida que o tempo de extração aumenta, o teor de CFT diminui, o que pode ser atribuído ao aumento da temperatura da amostra durante a agitação prolongada. Como alguns compostos fenólicos são classificados como termolábeis, o aumento da temperatura pode ocasionar degradação destes bioativos (Tena e Asuero 2022; Antony e Farid 2022).

Componentes da acerola, como compostos fenólicos e o ácido ascórbico, possuem potencial antioxidante, embora pertençam a grupos distintos de substâncias bioativas. Os compostos fenólicos são polifenóis conhecidos por sua capacidade de neutralizar radicais livres, enquanto o ácido ascórbico é uma vitamina hidrossolúvel que também atua como antioxidante. Ambos, entretanto, são suscetíveis à degradação térmica, conforme descrito na literatura (Dang et al. 2024; Santos et al. 2018; Olędzki e Harasym 2024).

Dentre os métodos avaliados, a maceração apresenta baixa seletividade extrativa (Zhang et al. 2023) e além disso, o tempo de extração (7 dias) é significativamente maior em comparação ao tempo de 5 minutos selecionado para turbolização. Em escala industrial, esse longo período implica em maiores custos operacionais e maior consumo

de recursos. O Soxhlet por sua vez, pode comprometer a integridade dos compostos fenólicos da acerola devido ao uso de altas temperaturas. Portanto, o método turbulização foi escolhido. De acordo com os resultados obtidos para o CFT, após 5 minutos não foi observado aumento significativo na eficiência extrativa, logo, esse tempo foi selecionado para a otimização do processo de extração.

Tabela 1. Rendimento, compostos fenólicos totais e potencial antioxidante de extratos de acerola obtidos por diferentes técnicas.

Método	Rendimento (%)	CFT ($\mu\text{g}_{\text{EAG}} \text{g}_{\text{ext}}^{-1}$)	DPPH ($\mu\text{M}_{\text{Trolox}}$)
Maceração	61,33 \pm 2,32 ^a	41,64 \pm 0,99 ^c	1243,90 \pm 19,91 ^a
Turbolização 1'	61,21 \pm 5,78 ^a	43,13 \pm 0,87 ^{bc}	1333,79 \pm 36,09 ^a
Turbolização 3'	62,89 \pm 4,92 ^a	44,72 \pm 0,91 ^{abc}	1321,87 \pm 23,73 ^a
Turbolização 5'	60,27 \pm 1,30 ^a	47,33 \pm 1,46 ^a	1303,52 \pm 121,92 ^a
Turbolização 10'	61,18 \pm 2,47 ^a	42,15 \pm 0,85 ^c	1210,88 \pm 34,19 ^a
Turbolização 15'	55,66 \pm 7,56 ^a	46,86 \pm 0,72 ^{ab}	1304,44 \pm 57,74 ^a
Turbolização 20'	58,71 \pm 3,21 ^a	34,32 \pm 0,92 ^d	1004,49 \pm 116,56 ^a
Soxhlet	62,43 \pm 2,68 ^a	40,90 \pm 0,87 ^c	1277,84 \pm 85,50 ^a

Resultados expressos em média \pm desvio padrão (n=3). Diferentes letras, na mesma coluna, representam diferença estatística ($p < 0,05$) por Teste de Tukey.

3.2 Avaliação do impacto das variáveis frente a otimização de método extrativo por turbolização

Para avaliar o efeito da velocidade de extração, da proporção soluto: solvente e da temperatura sobre o rendimento, CFT e AA por DPPH, foi aplicado um planejamento experimental Box-Behnken em modelo linear com intervalo de confiança de 95%.

Os dados obtidos, incluindo os desvios padrão do ponto central, estão apresentados na Tabela 2. A técnica extrativa utilizada foi turbolização. Os valores experimentais de 'F' superiores ao valor de 'F_{tabelado}' (4,77) indicaram a significância dos modelos. Além disso, o R² e o R² ajustado próximos de 1, com diferença menor que 0,2, entre eles, confirmaram a precisão do modelo (Pascariu et al. 2024).

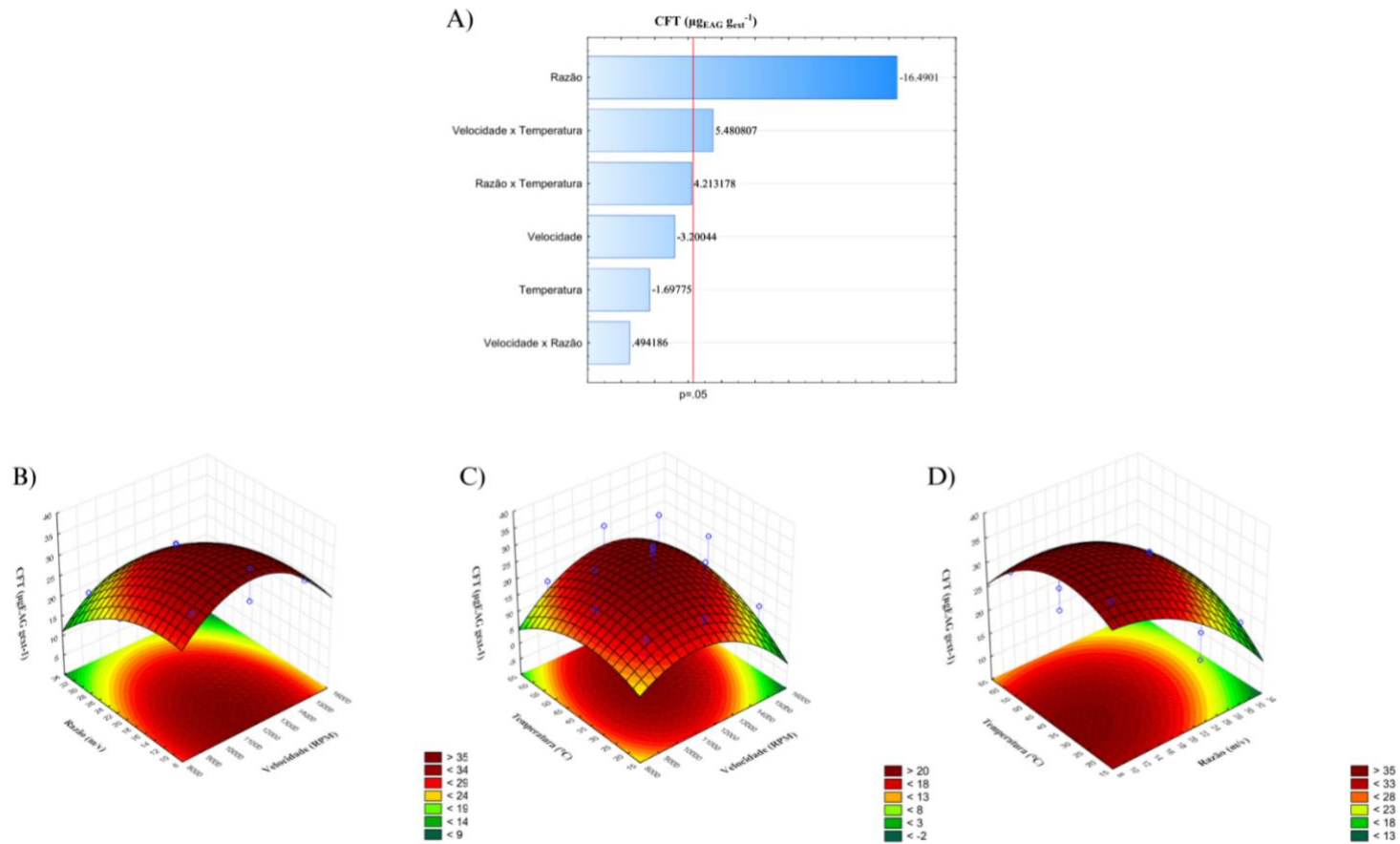
Tabela 2. Avaliação dos fatores de extração e análise de variância na otimização do processo de turbolização.

Ensaio	Velocidade (RPM)	Razão soluto/solvente (g/mL)	Temperatura °C	Rendimento (%)	CFT ($\mu\text{g}_{\text{EAG}} \text{g}_{\text{ext}}^{-1}$)	DPPH ($\mu\text{M}_{\text{Trolox}}$)
1	9000	10	40	47,08	32,02 ± 2,29	1328,38 ± 36,64
2	15000	10	40	41,37	27,55 ± 1,96	1267,84 ± 39,81
3	9000	32	40	50,72	20,28 ± 0	1228,40 ± 66,16
4	15000	32	40	47,51	15,11 ± 0,99	1143,09 ± 38,92
5	9000	25	20	54,17	21,54 ± 0,20	1368,74 ± 23,35
6	15000	25	20	54,67	15,81 ± 0,40	1057,79 ± 50,59
7	9000	25	60	52,33	19,16 ± 0,56	1188,96 ± 75,93
8	15000	25	60	49,36	25,03 ± 1,19	1100,90 ± 78,09
9	12000	10	20	43,24	36,31 ± 1,13	1253,16 ± 38,92
10	12000	32	20	54,12	19,72 ± 0,74	1144,93 ± 44,48
11	12000	10	60	45,10	28,67 ± 1,83	1115,58 ± 7,78
12	12000	32	60	59,37	18,42 ± 0,90	884,42 ± 70,05
13*	12000	25	40	47,46 ± 1,83	30,86 ± 1,06	1019,26 ± 14,73
		R ²		0,8039	0,9418	0,9195
		R ² ajustado		0,4508	0,8371	0,7747
		F calculado		2,28	9,00	6,35
		F tabelado			4,77	

Nota: *Ponto central – Resultado expresso pela média ± desvio padrão ($n=3$).

O ensaio 12 apresentou o maior rendimento extrativo (59,37%). No entanto, o R^2 ajustado não resultou em valor próximo ao R^2 , além disso, o valor de $F_{\text{calculado}}$ foi inferior ao F_{tabelado} , logo, o modelo não foi considerado satisfatório para explicar a influência das variáveis testadas sobre o parâmetro de rendimento.

Para CFT, a razão teve um efeito inversamente proporcional ao teor de CFT, enquanto a velocidade e a temperatura não exerceram efeito significativo isoladamente. Em contrapartida, a interação dos parâmetros razão x temperatura e velocidade x temperatura exerceu efeito positivo sobre a extração (Figura 1). Estudos indicam que, embora cada um desses fatores possa influenciar o processo extrativo de forma individual, quando combinados de maneira otimizada, eles podem exercer efeito sinérgico e melhorar a eficiência extrativa (Che Sulaiman et al. 2017).



Ainda, uma combinação otimizada pode aumentar a transferência de massa e melhorar a solubilização de compostos fenólicos, resultando em extratos com uma maior concentração desses compostos e melhora das atividades biológicas quando comparado ao estudo do efeito de cada variável isoladamente (Anaya-Esparza et al. 2023; Andres et al. 2020).

Quanto a atividade antioxidante, todos os parâmetros analisados isoladamente exerceram um efeito negativo (Figura 2). O aumento da temperatura do solvente pode ter levado a degradação dos compostos térmicos, acelerando reações de oxidação e rompendo as ligações químicas dos antioxidantes (Huarancca-Huarcaya et al. 2022). A razão soluto:solvente elevada resultou em dissolução ineficiente, diminuindo a disponibilidade dos compostos ativos (Lião et al. 2021). Por fim, a maior velocidade de extração provocou o aumento da temperatura e da agitação, fatores que intensificaram a degradação térmica e oxidação dos compostos bioativos (Marjanović et al. 2024).

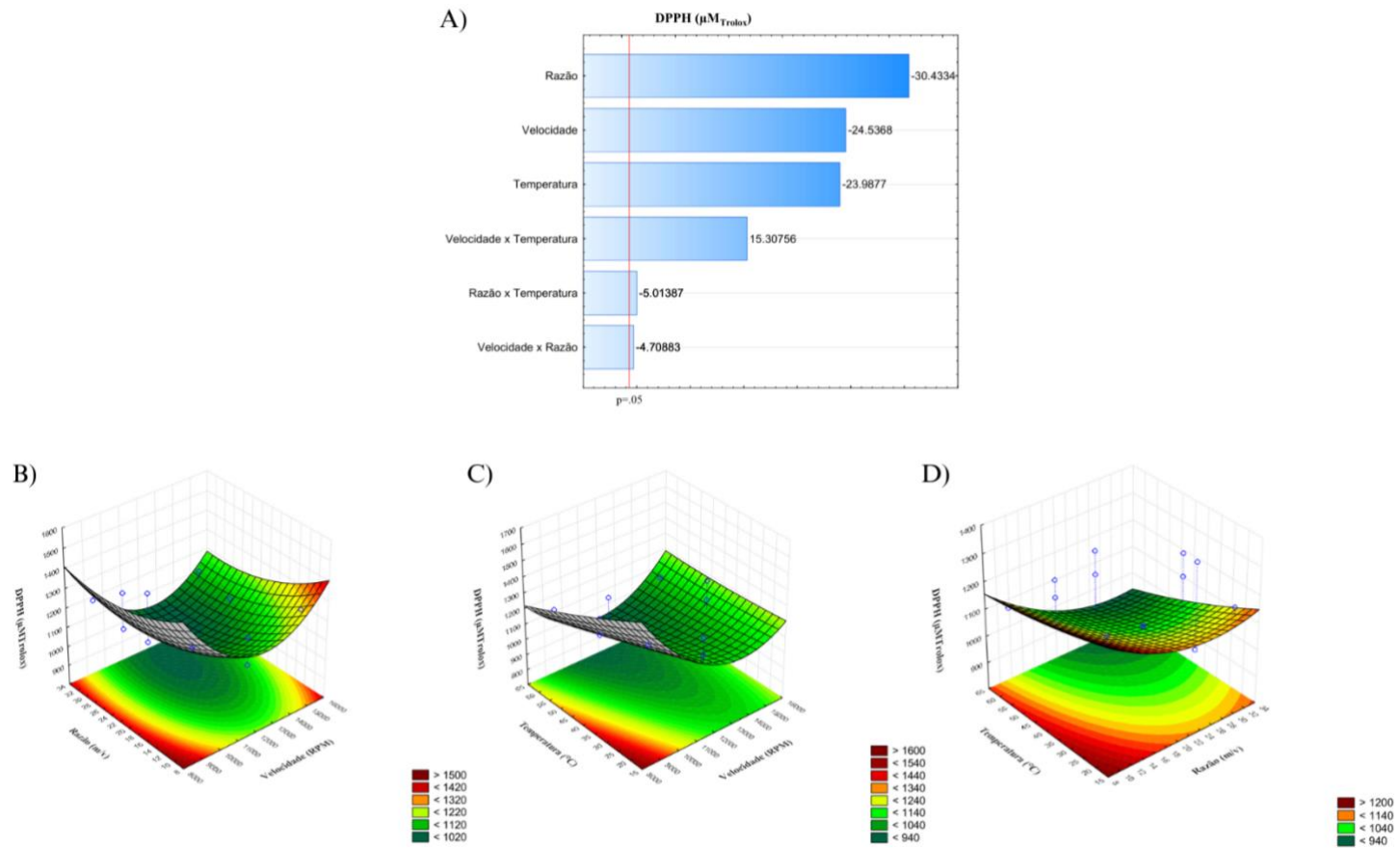


Figura 2. Diagrama de Pareto para o efeito das variáveis independentes frente a atividade antioxidante (A) e gráficos de superfície resposta das interações entre as variáveis (B, C e D).

No entanto, ao avaliar a interação entre a velocidade e a temperatura, observou-se impacto significativo na atividade antioxidante por método de DPPH. É fundamental observar que tanto os parâmetros individuais quanto as interações entre eles exerceram uma influência significativa sobre a eficiência do processo de extração (Nikolić et al. 2023). Nesse caso, todas as variáveis testadas demonstraram impacto significativo sobre os parâmetros analisados. No entanto, o efeito sinérgico entre a baixa velocidade e a baixa temperatura potencializou o efeito antioxidante, maximizando a eliminação do radical.

O método turbulização pode promover uma transferência de massa altamente eficiente, facilitando a liberação de compostos ativos para o solvente extrativo (Xu et al. 2016). No entanto, esse processo resulta na geração de calor (Tena e Asuero 2022), o que pode comprometer a estabilidade de compostos termolábeis. Além disso, a elevação da temperatura durante o processo de extração e também a temperatura do solvente pode ocasionar a degradação desses compostos sensíveis ao calor, reduzindo assim sua AA, como evidenciado por Begun et al. (2023) e Snoussi et al. (2022).

A análise de desejabilidade é uma ferramenta estatística amplamente utilizada para identificar as condições experimentais que otimizam múltiplas respostas simultaneamente (Pimenta et al. 2015). Neste estudo, devido a falta de precisão do modelo ajustado para o parâmetro de rendimento, foram considerados o teor de CFT e AA como variáveis para a análise. A Figura 3 apresenta os parâmetros de desejabilidade, que evidencia as condições ideais para o processo de extração. Observa-se que os melhores resultados são alcançados sob condições de baixa velocidade de agitação (9.000 RPM), baixa proporção de soluto:solvente (1:10) e temperatura intermediária do solvente (40 °C), correspondendo às condições empregadas no Ensaio 1.

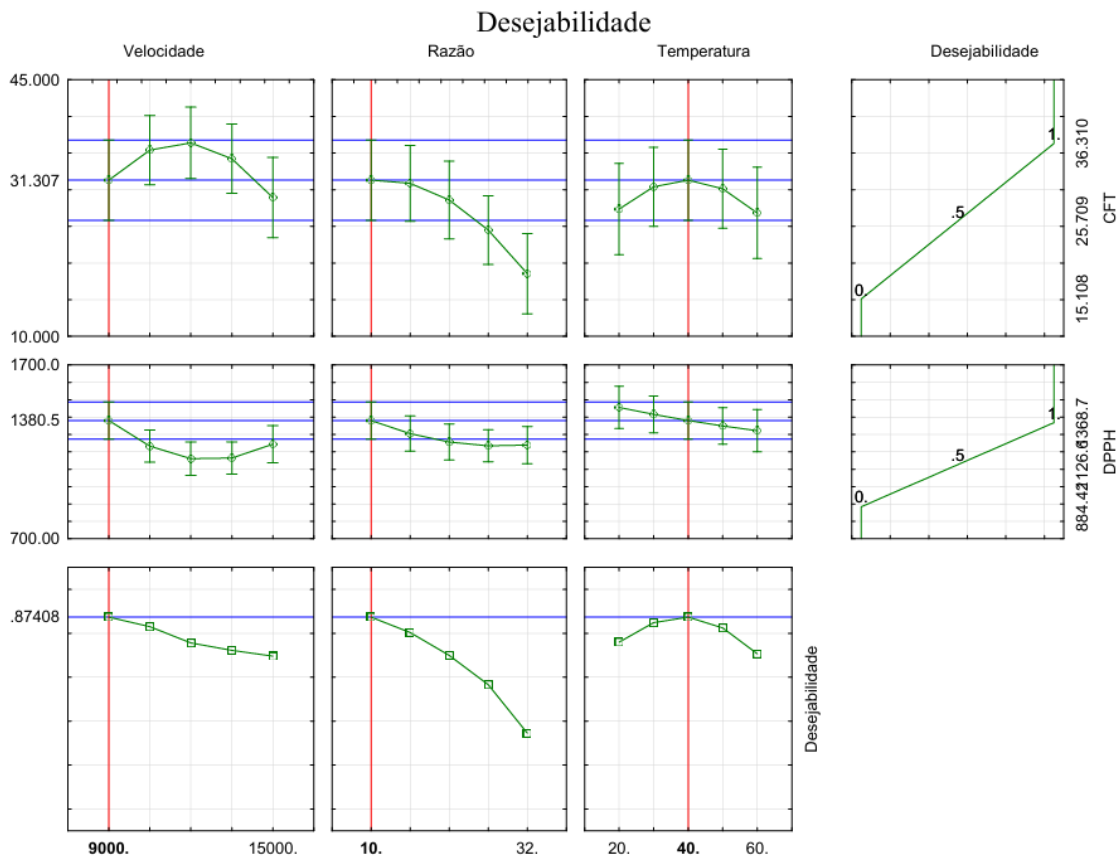


Figura 3. Parâmetros de desejabilidade para a otimização do processo extrativo de acerola por turbulização.

A identificação química do extrato otimizado (ensaio 1) por UHPLC-MS/MS (Tabela 3), permitiu identificar 20 compostos, sendo 18 flavonoides, um ácido orgânico e a vitamina C. Embora o ácido ascórbico seja o composto mais reconhecido da acerola, seu extrato também é rico em flavonoides, que contribuem significativamente para suas propriedades biológicas. Diversos efeitos benéficos têm sido atribuídos aos compostos fenólicos presentes na acerola, incluindo atividades antioxidante, antibacteriana, anti-hiperglicêmica, anti-hiperlipidêmica, anti-inflamatória e hepatoprotetora (Laurindo et al. 2024; Vilver et al. 2024). Entre os flavonoides identificados, destacam-se isorhamnetina, kaempferol e quercetina, que, segundo Wu et al. (2025), apresentam expressiva atividade antioxidante e anti-inflamatória.

Tabela 3. Compostos identificados no extrato otimizado dos frutos de acerola por turbolização, utilizando cromatografia líquida de ultra-alta eficiência e espectrometria de massas (UHPLC-MS/MS).

RT: tempo de retenção; MF: fórmula molecular; MS: massa.

Peak	RT (min)	Compound	MF	Positivo (m/z)	Negativo (m/z)	Classe
				MS	MS	
1	5.71	Kaempferol 3-O-rhamnosídeo	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₀	433.1129	431.0971	Flavonoide
2	9.93	Kaempferol 7-O-rhamnosídeo	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₀	433.1101	431.0956	Flavonoide
3	8.68	Kaempferol 3-O-vicianosídeo	C ₂₆ H ₂₈ O ₁₅	581.1481	579.13292	Flavonoide
4	10.15	Quercetina	C ₁₅ H ₁₀ O ₇	303.0486	301.0335	Flavonoide
5	8.60	Isoquercetina	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	465.1012	463.0859	Flavonoide
6	9.20	Quercitrina	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	449.1063	447.0908	Flavonoide
7	9.97	Isorhamnetina-3-O-glucosídeo	C ₂₂ H ₂₂ O ₁₂	479.1164	477.1015	Flavonoide
8	8.44	Taxifolina	C ₁₅ H ₁₂ O ₇	305.0649	-	Flavonoide
9	9.28	Diidrokaempferol	C ₁₅ H ₁₂ O ₆	289.0693	-	Flavonoide
10	8.10	2-(3,4-di-hidroxifenil)-5,7-di-hidroxi-3- [(2S,3R,4S,5S,6R)-3,4,5-tri-hidroxi-6- [[[(2S,3R,4S,5R)-3,4,5-tri-hidroxi-oxan-2- il]oximetil]oxan-2-il]oxicromen-4-ona	C ₂₆ H ₂₈ O ₁₆	597.1427	595.1278	Flavonoide
	8.90	3-[(2S,3R,4S,5S,6R)-4,5-di-hidroxi-6- (hidroximetil)-3-[(2S,3R,4S,5R)-3,4,5-tri- hidroxioxan-2-il]oxioxan-2-il]oxi-2-(3,4-di- hidroxifenil)-5-hidroxi-7-metoxicromeno-4-ona				
11	10.34	Kaempferol 7-O-neohesperidosídeo	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₅	-	593.1259	Flavonoide
12	10.89	Kaempferol	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	-	285.0393	Flavonoide
13	5.76	Catequina	C ₁₅ H ₁₄ O ₆	-	289.0709	Flavonoide
14	6.67	Afzelequina	C ₁₅ H ₁₄ O ₅	-	273.0749	Flavonoide
15	9.22	Engeletin	C ₂₁ H ₂₂ O ₁₀	-	433.1113	Flavonoide
16	8.35	Astilbina	C ₂₁ H ₂₂ O ₁₁	-	449.1069	Flavonoide
18	9.88	5,8-di-hidroxi-2-(4-hidroxifenil)-7-metoxi-3- [(2S,3R,4R,5R,6S)-3,4,5-tri-hidroxi-6-metiloxan- 2-il]oxicromeno-4-ona	C ₂₂ H ₂₂ O ₁₁	-	461.1059	Flavonoide
		2-il]oxicromeno-4-ona				
19	1.19	Ácido ascórbico	C ₆ H ₈ O ₆	-	175.0242	Vitamina C
20	1.7	Ácido cítrico	C ₆ H ₈ O ₇	-	191.0187	Ácido orgânico

Considerando que o ácido ascórbico é reconhecido como um dos principais constituintes da acerola, o teor de ácido ascórbico foi quantificado, por UHPLC, no extrato otimizado, resultando em $107,95 \pm 1,98$ mg de ácido ascórbico por grama de extrato. De acordo com Poletto et al. (2021), foi reportado teor de 158,2 mg/g em extratos obtidos da acerola por extração de gás-líquido expandido, enquanto outro estudo quantificou o ácido ascórbico nos frutos frescos, com concentrações variando de 1,18 a 2,43 g/100 g (equivalente a 11,8 a 24,3 mg/g) (Ferreira et al. 2021). A comparação evidencia que o teor obtido neste trabalho é superior ao observado em frutas frescas e próximo ao de extratos concentrados, indicando a eficácia do método de extração utilizado. Além disso, o método de turbulização demonstrou ser uma alternativa mais simples e economicamente viável em comparação à extração por gás-líquido expandido, exigindo menor tempo de processamento e infraestrutura menos complexa, sem prejuízo à eficiência na recuperação do ácido ascórbico.

4 CONCLUSÕES

As condições ideais para a obtenção de um extrato otimizado visando maximizar o teor de polifenóis foram determinadas utilizando extração por turbulização com etanol a 80% como solvente, em uma proporção soluto:solvente de 1:10 (p/v), a 40 °C, submetendo a amostra a uma velocidade de 9000 RPM por 5 minutos. A composição fitoquímica do extrato revelou a presença de flavonoides e um alto teor de ácido ascórbico ($107,95 \pm 1,98$ mg/g de extrato), demonstrando a eficiência do processo na preservação de compostos bioativos. Esses achados contribuem para o aprimoramento de técnicas de extração de compostos bioativos e fortalecem o potencial de *M. emarginata* para aplicações industriais.

5 AGRADECIMENTOS

Este trabalho foi apoiado pela Coordenadoria de Pós-Graduação (COPG/UNIPAR, Brasil), Coordenadoria de Pesquisa e Extensão (COPEX/UNIPAR, Brasil), Fundação Araucária de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Estado do Paraná (FA, Paraná/Brasil) e Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES, Brasil).

6 REFERÊNCIAS

- Anaya-Esparza LM, Aurora-Vigo EF, Villagrán Z, Rodríguez-Lafitte E, Ruvalcaba-Gómez JM, Solano-Cornejo MA, Zamora-Gasga VM, Montalvo-González E, Gómez-Rodríguez H, Aceves-Aldrete CE, González-Silva N. 2023. Design of Experiments for Optimizing Ultrasound-Assisted Extraction of Bioactive Compounds from Plant-Based Sources. *Molecules*. 28(23):7752.
- Andres AI, Petron MJ, Lopez AM, Timon ML. 2020. Optimization of Extraction Conditions to Improve Phenolic Content and *In Vitro* Antioxidant Activity in Craft Brewers' Spent Grain Using Response Surface Methodology (RSM). *Foods*. 9(10):1398.
- Antony A, Farid M. 2022. Effect of Temperatures on Polyphenols during Extraction. *Appl Sci*. 12(4):2107.
- Begum SN, Hossain M, Adnan M, Rahaman CH, Reza A. 2023. Optimization and Characterization of Phenolic Extraction Conditions and Antioxidant Activity Evaluation of *Adenanthera pavonina* L. Bark. *Plants*. 12(22):3902.
- Belwal T, Devkota HP, Hassan HA, Ahluwalia S, Ramadan MF, Mocan A, Atanasov AG. 2018. Phytopharmacology of Acerola (*Malpighia* spp.) and its potential as functional food. *Trends Food Sci Technol*. 74, 99-106.
- Cerino MC, Pinela J, Caleja C, Saux C, Pereira E, Barros L. 2023. Dynamic Maceration of Acerola (*Malpighia emarginata* DC.) Fruit Waste: An Optimization Study to Recover Anthocyanins. *Agronomy*. 13(9):2202.
- Che Sulaiman IS, Basri M, Fard Masoumi HR, Chee WJ, Ashari SE, Ismail M (2017) 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. *BMC Chemistry*. 11:1-11.
- da Costa BSL, da Costa Vieira JLC, Cardoso AM, Borges LL. 2020. Otimização da extração assistida por ultrassom de compostos fenólicos totais e flavonoides a partir dos frutos de acerola (*Malpighia* sp). *RBMC*. 6(14).
- Dang YT, Tran H, Kha TC. 2024. Encapsulation of W/O/W Acerola Emulsion by Spray Drying: Optimization, Release Kinetics, and Storage Stability. *Foods*. 13(10):1463.
- Farinelli D, Portarena S, da Silva DF, Traini C, da Silva GM, da Silva EC, da Veiga JF, Pollegioni P, Villa F. 2021. Variability of Fruit Quality among 103 Acerola (*Malpighia emarginata* D. C.) Phenotypes from the Subtropical Region of Brazil. *Agriculture*. 11(11):1078.
- Ferreira IC, Pereira da Silva V, Vilvert JC, de França Souza F, de Freitas ST, dos Santos Lima M. 2021. Brazilian varieties of acerola (*Malpighia emarginata* DC.) produced under tropical semi-arid conditions: bioactive phenolic compounds, sugars, organic acids, and antioxidant capacity. *J Food Biochem*. 45(8):e13829.
- Hanamura T, Uchida E, Aoki H. 2008. Skin-lightening effect of a polyphenol extract from Acerola (*Malpighia emarginata* DC.) fruit on UV-induced pigmentation. *Biosci Biotechnol Biochem*. 72(12):3211-3218.
- Huaranca-Huarcaya E, Paredes-Quiroz LR, Pilares-Estrada NM, Barragán-Condori M, Huamaní-Meléndez VJ. 2022. Cinética da degradação térmica de antocianinas de alaybilí

(*Vaccinium floribundum* Kunth) e macha-macha (*Gaultheria glomerata* (Cav.) Sleumer). Braz J Food Technol. 25:2021106.

Jacobucci NA de O. 2024. Otimização de método extrativo e avaliação do potencial antimicrobiano de *Cuphea carthagenensis* (Jacq.) J. Macbr. [Dissertação de Mestrado, Universidade Paranaense]. Repositório da Universidade Paranaense.

Kim J, Park MK, Li WQ, Qureshi AA, Cho E (2019). Association of vitamin A intake with cutaneous squamous cell carcinoma risk in the United States. JAMA dermatol 155(11), 1260-1268.

Kowalczyk S, Grymel M, Bilik J, Kula W, Wawoczny A, Grymel P, Gillner D. 2024. Selected Plants as Sources of Natural and Active Ingredients for Cosmetics of the Future. Appl Sci. 14(8):3487.

Laurindo LF, Takeda LN, Machado NM, Otoboni AMMB, de Alvares Goulart R, Catharin VCS, Silva LR, Barbalho SM, Direito R. 2024. Health benefits of acerola (*Malpighia* spp) and its by-products: A comprehensive review of nutrient-rich composition, pharmacological potential, and industrial applications. Food Biosci. 62:105422.

Liao J, Guo Z, Yu G. 2021. Process intensification and kinetic studies of ultrasound-assisted extraction of flavonoids from peanut shells. Ultrason Sonochem. 76:105661.

Marjanović B, Benković M, Jurina T, Sokač Cvetnić T, Valinger D, Gajdoš Kljusurić J, Jurinjak Tušek A. 2024. Bioactive Compounds from *Spirulina* spp.—Nutritional Value, Extraction, and Application in Food Industry. Separations. 11(9):257.

Nikolić VG, Troter DZ, Savić IM, Gajić IMS, Zvezdanović JB, Konstantinović IB, Konstantinović SS. 2023. Design and optimization of “greener” and sustainable ultrasound-assisted extraction of valuable bioactive compounds from common centaury (*Centaureum erythraea* Rafn) aerial parts: A comparative study using aqueous propylene glycol and ethanol. Ind Crops Prod. 192:116070.

Olędzki R, Harasym J. 2024. Acerola (*Malpighia emarginata*) Anti-Inflammatory Activity—A Review. Int J Mol Sci. 25(4):2089.

Panzella L, Napolitano A. 2019. Natural and Bioinspired Phenolic Compounds as Tyrosinase Inhibitors for the Treatment of Skin Hyperpigmentation: Recent Advances. Cosmetics. 6(4):57.

Pascariu O-E, Dias LG, Israel-Roming F. 2024. Optimization of Extraction Method of Bioactive Compounds from Elderberries (*Sambucus nigra* L.) and Testing Extract Stability. Horticulturae. 10(7):743.

Pimenta CD, Silva MB, Salomon VAP, Penteadó RB, Gomes FM. 2015. Aplicação das metodologias Desirability e Simplex para otimização das propriedades mecânicas em arames de aço temperados. Production. 25:598-610.

Pinc MM, Dalmagro M, da Cruz Alves Pereira E, Donadel G, Thomaz RT, da Silva C, Macruz PD, Jacomassi E, Gasparotto Junior A, Hoscheid J, Lourenço ELB, Alberton O. 2023. Extraction Methods, Chemical Characterization, and *In Vitro* Biological Activities of *Plinia cauliflora* (Mart.) Kausel Peels. Pharmaceuticals. 16:1173.

Poletto P, Álvarez-Rivera G, López GD, Borges OM, Mendiola JA, Ibáñez E, Cifuentes A. 2021. Recovery of ascorbic acid, phenolic compounds and carotenoids from acerola by-products: An opportunity for their valorization. Lwt. 146:111654.

Santos VO, Rodrigues S, Fernandes FAN. 2018. Improvements on the Stability and Vitamin Content of Acerola Juice Obtained by Ultrasonic Processing. *Foods*. 7(5):68.

Silveira AC, Kassuia YS, Domahovski RC, Lazzarotto M. 2018. Método de DPPH adaptado: uma ferramenta para analisar atividade antioxidante de polpa de frutos da erva-mate de forma rápida e reprodutível. EMBRAPA.

Silveira GCD, Rossi MFM, Peche PM. 2022. Acerola: detalhes do cultivo no Brasil. Revista online: Campos e Negócios. 2022. Disponível em: <https://revistacampoenegocios.com.br/acerola-detalhes-do-cultivo-no-brasil/>

Singleton VL, Rossi JA. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am J Enol Vitic*. 16(3):144-158.

Snoussi A, Bouacida S, Mitić M, Arsić B, Koubaier HBH, Chouaibi M, Janković S, Zlatanović I, Mrmošanin J, Stojanović G, Bouzouita N. 2022. Thermal degradation kinetics of myrtle leaves ethanol extract (*Myrtus communis* L.): effect on phenolic compounds content and antioxidant activity. *J Food Meas Charact*. 16(3):2119-2130.

Tena N, Asuero AG. 2022. Up-To-Date Analysis of the Extraction Methods for Anthocyanins: Principles of the Techniques, Optimization, Technical Progress, and Industrial Application. *Antioxidants*. 11(2):286.

Tominc GC, Dalmagro M, Scheneider NK, Maltauro AP, Zanella GC, Seren AP, Zardeto G, Hoscheid J. 2022. Otimização de método extrativo para raízes de *arctium lappa* L. *Arq Ciênc Saúde UNIPAR*. 26(3).

Vilvert JC, de Freitas ST, dos Santos LF, Ribeiro TDS, Veloso CM. 2024. Phenolic compounds in acerola fruit and by-products: An overview on identification, quantification, influencing factors, and biological properties. *J Food Meas Charact*. 18(1):216-239.

Wu H, Fan L, Yu Q, Li Y, Tong L, Cao C. 2025. The anti-inflammatory mechanism of acerola based on LPS-induced RAW264. 7 macrophages and xylene-induced ear edema in mouse. *J Funct Foods*. 124:106639.

Xu WJ, Zhai JW, Cui Q, Liu JZ, Luo M, Fu YJ, Zu YG. 2016. Ultra-turrax based ultrasound-assisted extraction of five organic acids from honeysuckle (*Lonicera japonica* Thunb.) and optimization of extraction process. *Sep Purif Technol*. 166:73-82.

Zhang M, Zhao J, Dai X, Li X. 2023. Extraction and Analysis of Chemical Compositions of Natural Products and Plants. *Separations*. 10(12):598.

ANEXOS

Anexo 1. Normas para publicação na revista *Natural Products Research*.



Instructions for authors

Thank you for choosing to submit your paper to us. These instructions will ensure we have everything required so your paper can move through peer review, production and publication smoothly. Please take the time to read and follow them as closely as possible, as doing so will ensure your paper matches the journal's requirements.

We offer a range of [editing, manuscript preparation and post publication services](#) to assist you in preparing your manuscript for submission, increase your chance of acceptance, or broaden the readership of your article. General guidance on every stage of the publication process is available at our [Author Services website](#).

Contents

- [About the Journal](#)
- [Open Access](#)
- [Peer Review and Ethics](#)
- [Preparing Your Paper](#)
 - [Article Types](#)
 - [Format-Free Submission](#)
 - [Taylor & Francis Editing Services](#)
 - [Checklist: What to Include](#)
- [Using Third-Party Material](#)
- [Disclosure Statement](#)
- [Clinical Trials Registry](#)
- [Ethics of Experimentation](#)
- [Consent](#)
- [Health and Safety](#)
- [Submitting Your Paper](#)
- [Data Sharing Policy](#)
- [Publication Charges](#)
- [Copyright Options](#)
- [Complying with Funding Agencies](#)
- [My Authored Works](#)

About the Journal

Natural Product Research is an international, peer-reviewed journal publishing high-quality, original research. Please see the journal's [Aims & Scope](#) for information about its focus and peer-review policy.

Please note that this journal only publishes manuscripts in English.

Natural Product Research accepts the following types of article:

- Research article
- Short Communication
- Review
- Letter

Open Access

You have the option to publish open access in this journal via our Open Select publishing program. Publishing open access means that your article will be free to access online immediately on publication, increasing the visibility, readership and impact of your research. Articles published Open Select with Taylor & Francis typically receive 35% more citations* and over 5 times as many downloads** compared to those that are not published Open Select.

Your research funder or your institution may require you to publish your article open access. Visit our [Author Services](#) website to find out more about open access policies and how you can comply with these.

You will be asked to pay an article publishing charge (APC) to make your article open access and this cost can often be covered by your institution or funder. Use our [APC finder](#) to view the APC for this journal.

Please visit our [Author Services website](#) if you would like more information about our Open Select Program.

*Citations received up to 7th August 2024 for articles published in 2019-2023. Data obtained on 7th August 2024, from Digital Science's Dimensions platform, available at <https://app.dimensions.ai> **Usage in 2021-2023 for articles published in 2019-2023.

Peer Review and Ethics

Taylor & Francis is committed to peer-review integrity and upholding the highest standards of review. Once your paper has been assessed for suitability by the editor, it will then be single anonymous peer reviewed by two independent, anonymous expert. If you have shared an earlier version of your Author's Original Manuscript on a preprint server, please be aware that anonymity cannot be guaranteed. Further information on our preprints policy and citation requirements can be found on our [Preprints Author Services page](#). Find out more about [what to expect during peer review](#) and read our guidance on [publishing ethics](#).

Preparing Your Paper

All authors submitting to medicine, biomedicine, health sciences, allied and public health journals should conform to the [Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals](#), prepared by the International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE).

Article Types

Research article

- Should be written with the following elements in the following order: Title page; Abstract; Keywords; 1. Introduction; 2. Results and Discussion; 3. Experimental; 4. Conclusions; Acknowledgments; Declaration of Interest statement; References; appendices (as appropriate); table(s) with caption(s) (on individual pages); figures; figure captions (as a list)
- Should be between 7 and 10 pages, inclusive of:
 - Tables
 - References
 - Figure or table captions
- Should contain an unstructured abstract of 150 words.
- Should contain between 3 and 7 **keywords**. Read [making your article more discoverable](#), including information on choosing a title and search engine optimization.

If including an experimental section: up to 4,500 words, including figures and tables and excluding title page, abstract and keywords. The word count should take into account the equivalent number of words for space occupied by large figures and tables. If publishing the experimental section as online-only supplemental material: up to 3,000 words including figures and tables and excluding title page, abstract and keywords. The word count should take into account the equivalent number of words for space occupied by large figures and tables.

Short Communication

- Should be written with the following elements in the following order: Title page; Abstract; Keywords; 1. Introduction; 2. Results and Discussion; 3. Experimental; 4. Conclusions; Acknowledgments; Declaration of Interest statement; References; appendices (as appropriate); table(s) with caption(s) (on individual pages); figures; figure captions (as a list)
- Should be between 3 and 4 pages, inclusive of:
 - References
 - Figure or table captions
- Should contain an unstructured abstract of 150 words.
- Should contain between 3 and 7 **keywords**. Read [making your article more discoverable](#), including information on choosing a title and search engine optimization.

Any spectra (including NMR, IR, MS), chromatograms (including TLCs, HPLC and GC traces), NMR tables and figures reporting bi-dimensional NMR correlations should either be submitted for review purposes only or as supplemental material to be published online.

Review

- Should be written with the following elements in the following order: Title page; Abstract; Keywords; 1. Introduction; 2. Results and Discussion; 3. Experimental; 4. Conclusions; Acknowledgments; Declaration of Interest statement; References; appendices (as appropriate); table(s) with caption(s) (on individual pages); figures; figure captions (as a list)
- Should be no more than 20 pages, inclusive of:
 - Tables
 - References
 - Figure or table captions

Please send a Review proposal to the Editor-in-Chief (armandodoriano.bianco@uniroma1.it) before submission.

Letter

- Should be written with the following elements in the following order: Title page; Main text; References (if required)
- Should be between 1 and 2 pages.

Format-Free Submission

Authors may submit their paper in any scholarly format or layout. Manuscripts may be supplied as single or multiple files. These can be Word, rich text format (rtf), open document format (odt), PDF, or LaTeX files. Figures and tables can be placed within the text or submitted as separate documents. Figures should be of sufficient resolution to enable refereeing.

- There are no strict formatting requirements, but all manuscripts must contain the essential elements needed to evaluate a manuscript: abstract, author affiliation, figures, tables, funder information, and references. Further details may be requested upon acceptance.
- References can be in any style or format, so long as a consistent scholarly citation format is applied. For manuscripts submitted in LaTeX format a .bib reference file must be included. Author

name(s), journal or book title, article or chapter title, year of publication, volume and issue (where appropriate) and page numbers are essential. All bibliographic entries must contain a corresponding in-text citation. The addition of DOI (Digital Object Identifier) numbers is recommended but not essential.

- The [journal reference style](#) will be applied to the paper post-acceptance by Taylor & Francis.
- Spelling can be US or UK English so long as usage is consistent.

Note that, regardless of the file format of the original submission, an editable version of the article must be supplied at the revision stage.

Taylor & Francis Editing Services

To help you improve your manuscript and prepare it for submission, Taylor & Francis provides a range of editing services. Choose from options such as English Language Editing, which will ensure that your article is free of spelling and grammar errors, Translation, and Artwork Preparation. Taylor & Francis Editing Services can also help you create research promotion materials, including infographics, video abstracts, lay summaries and graphical abstracts, to support your article's impact. For more information, including pricing, [visit this website](#).

Checklist: What to Include

1. **Author details.** Please ensure everyone meeting the International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE) [requirements for authorship](#) is included as an author of your paper. Please ensure all listed authors meet the [Taylor & Francis authorship criteria](#). All authors of a manuscript should include their full name and affiliation on the cover page of the manuscript. Where available, please also include ORCIDs and social media handles (Facebook, Twitter or LinkedIn). One author will need to be identified as the corresponding author, with their email address normally displayed in the article PDF (depending on the journal) and the online article. Authors' affiliations are the affiliations where the research was conducted. If any of the named co-authors moves affiliation during the peer-review process, the new affiliation can be given as a footnote. Please note that no changes to affiliation can be made after your paper is accepted. [Read more on authorship](#).
2. **Graphical abstract** (mandatory). This is an image to give readers a clear idea of the content of your article. It should be a maximum width of 525 pixels. If your image is narrower than 525 pixels, please place it on a white background 525 pixels wide to ensure the dimensions are maintained. Save the graphical abstract as a .jpg, .png, or .tiff. Please do not embed it in the manuscript file but save it as a separate file, labelled GraphicalAbstract1. Taylor & Francis Editing Services provides a [graphical abstract creation service](#) for a fee.
3. You can opt to include a **video abstract** with your article. [Find out how these can help your work reach a wider audience, and what to think about when filming](#). Taylor & Francis Editing Services provides a [video abstract creation service](#) for a fee.
4. **Funding details.** Please supply all details required by your funding and grant-awarding bodies as follows:

<i>For</i>	<i>single</i>	<i>agency</i>	<i>grants</i>
			This work was supported by the [Funding Agency] under Grant [number xxxx].
<i>For</i>	<i>multiple</i>	<i>agency</i>	<i>grants</i>
			This work was supported by the [Funding Agency #1] under Grant [number xxxx]; [Funding Agency #2] under Grant [number xxxx]; and [Funding Agency #3] under Grant [number xxxx].
5. **Disclosure statement.** This is to acknowledge any financial or non-financial interest that has arisen from the direct applications of your research. If there are no relevant competing interests to declare please state this within the article, for example: *The authors report there are no competing interests to declare.* [Further guidance on what is a conflict of interest and how to disclose it](#).
6. **Data availability statement.** If there is a data set associated with the paper, please provide information about where the data supporting the results or analyses presented in the paper can be found. Where applicable, this should include the hyperlink, DOI or other persistent identifier associated with the data set(s). [Templates](#) are also available to support authors.
7. **Data deposition.** If you choose to share or make the data underlying the study open, please deposit your data in a [recognized data repository](#) prior to or at the time of submission. You will be asked to provide the DOI, pre-reserved DOI, or other persistent identifier for the data set.

8. **Supplemental online material.** Supplemental material can be a video, dataset, fileset, sound file or anything which supports (and is pertinent to) your paper. Articles with extenders, such as infographics or video summaries, are up to 108% more likely to be downloaded (based on data in May 2024 from Plain Language Summary of Publication and Clinical Trial Protocol articles published in *Future Oncology* in 2023). We publish supplemental material online via Figshare. Find out more about [supplemental material and how to submit it with your article](#). Taylor & Francis Editing Services can help you create research promotion materials, including infographics, video abstracts, lay summaries and graphical abstracts, to support your article's impact. For more information, including pricing, [visit this website](#).
9. **Figures.** Figures should be high quality (1200 dpi for line art, 600 dpi for grayscale and 300 dpi for colour, at the correct size). Figures should be supplied in one of our preferred file formats: PS, JPEG, TIFF, or Microsoft Word (DOC or DOCX) files are acceptable for figures that have been drawn in Word. For information relating to other file types, please consult our [Submission of electronic artwork](#) document.
10. **Tables.** Tables should present new information rather than duplicating what is in the text. Readers should be able to interpret the table without reference to the text. Please supply editable files.
11. **Equations.** If you are submitting your manuscript as a Word document, please ensure that equations are editable. More information about [mathematical symbols and equations](#).
12. **Units.** Please use [SI units](#) (non-italicized).

Using Third-Party Material

You must obtain the necessary permission to reuse third-party material in your article. The use of short extracts of text and some other types of material is usually permitted, on a limited basis, for the purposes of criticism and review without securing formal permission. If you wish to include any material in your paper for which you do not hold copyright, and which is not covered by this informal agreement, you will need to obtain written permission from the copyright owner prior to submission. More information on [requesting permission to reproduce work\(s\) under copyright](#).

Disclosure Statement

Please include a disclosure statement, using the subheading "Disclosure of interest." If you have no interests to declare, please state this (suggested wording: *The authors report there are no competing interests to declare*). For all NIH/Wellcome-funded papers, the grant number(s) must be included in the declaration of interest statement. [Read more on declaring conflicts of interest](#).

Clinical Trials Registry

In order to be published in a Taylor & Francis journal, all clinical trials must have been registered in a public repository, ideally at the beginning of the research process (prior to participant recruitment). Trial registration numbers should be included in the abstract, with full details in the methods section. Clinical trials should be registered prospectively – i.e. before participant recruitment. However, for clinical trials that have not been registered prospectively, Taylor & Francis journals requires retrospective registration to ensure the transparent and complete dissemination of all clinical trial results which ultimately impact human health. Authors of retrospectively registered trials must be prepared to provide further information to the journal editorial office if requested. The clinical trial registry should be publicly accessible (at no charge), open to all prospective registrants, and managed by a not-for-profit organization. For a list of registries that meet these requirements, please visit the [WHO International Clinical Trials Registry Platform \(ICTRP\)](#). The registration of all clinical trials facilitates the sharing of information among clinicians, researchers, and patients, enhances public confidence in research, and is in accordance with the [ICMJE guidelines](#).

Ethics of Experimentation

Please ensure that all research reported in submitted papers has been conducted in an ethical and responsible manner, and is in full compliance with all relevant codes of experimentation and legislation. All original research papers involving humans, animals, plants, biological material, protected or non-public datasets, collections or sites, must include a written statement in the Methods section, confirming ethical approval has been obtained from the appropriate local ethics committee or Institutional Review Board and that where relevant, informed consent has been obtained. For animal studies, approval must have been obtained from

the local or institutional animal use and care committee. All research studies on humans (individuals, samples, or data) must have been performed in accordance with the principles stated in the [Declaration of Helsinki](#). In settings where ethics approval for non-interventional studies (e.g. surveys) is not required, authors must include a statement to explain this. In settings where there are no ethics committees in place to provide ethical approval, authors are advised to contact the Editor to discuss further. Detailed guidance on ethics considerations and mandatory declarations can be found in our Editorial Policies section on [Research Ethics](#).

Consent

All authors are required to follow the [ICMJE requirements](#) and [Taylor & Francis Editorial Policies](#) on privacy and informed consent from patients and study participants. Authors must include a statement to confirm that any patient, service user, or participant (or that person's parent or legal guardian) in any type of qualitative or quantitative research, has given informed consent to participate in the research. For submissions where patients or participants can be potentially identified (e.g. a clinical case report detailing their medical history, identifiable images or media content, etc), authors must include a statement to confirm that they have obtained written informed consent to publish the details from the affected individual (or their parents/guardians if the participant is not an adult or unable to give informed consent; or next of kin if the participant is deceased). The process of obtaining consent to publish should include sharing the article with the individual (or whoever is consenting on their behalf), so that they are fully aware of the content of the article before it is published. Authors should familiarise themselves with our [policy on participant/patient privacy and informed consent](#). They may also use the Consent to Publish Form, which can be downloaded from the [same Author Services page](#).

Health and Safety

Please confirm that all mandatory laboratory health and safety procedures have been complied within the course of conducting any experimental work reported in your paper. Please ensure your paper contains all appropriate warnings on any hazards that may be involved in carrying out the experiments or procedures you have described, or that may be involved in instructions, materials, or formulae.

Please include all relevant safety precautions; and cite any accepted standard or code of practice. Authors working in animal science may find it useful to consult the [International Association of Veterinary Editors' Consensus Author Guidelines on Animal Ethics and Welfare](#) and [Guidelines for the Treatment of Animals in Behavioural Research and Teaching](#). When a product has not yet been approved by an appropriate regulatory body for the use described in your paper, please specify this, or that the product is still investigational.

Submitting Your Paper

This journal uses Taylor & Francis' [Submission Portal](#) to manage the submission process. The Submission Portal allows you to see your submissions across Taylor & Francis' journal portfolio in one place. To submit your manuscript please click [here](#).

If you are submitting in LaTeX, please convert the files to PDF beforehand. The PDF should be uploaded as the "Manuscript - with author details"/"Manuscript - anonymous" file. You will also need to upload your LaTeX source files, which should be uploaded as a single zip file alongside your submission and marked as "LaTeX Source Files".

Please note that *Natural Product Research* uses [Crossref™](#) to screen papers for unoriginal material. By submitting your paper to *Natural Product Research* you are agreeing to originality checks during the peer-review and production processes.

On acceptance, we recommend that you keep a copy of your Accepted Manuscript. Find out more about [sharing your work](#).

Data Sharing Policy

This journal applies the Taylor & Francis [Basic Data Sharing Policy](#). Authors are encouraged to share or make open the data supporting the results or analyses presented in their paper where this does not violate the protection of human subjects or other valid privacy or security concerns.

Authors are encouraged to deposit the dataset(s) in a recognized data repository that can mint a persistent digital identifier, preferably a digital object identifier (DOI) and recognizes a long-term preservation plan. If you are uncertain about where to deposit your data, please see [this information regarding repositories](#).

Authors are further encouraged to [cite any data sets referenced](#) in the article and provide a [Data Availability Statement](#).

At the point of submission, you will be asked if there is a data set associated with the paper. If you reply yes, you will be asked to provide the DOI, pre-registered DOI, hyperlink, or other persistent identifier associated with the data set(s). If you have selected to provide a pre-registered DOI, please be prepared to share the reviewer URL associated with your data deposit, upon request by reviewers.

Where one or multiple data sets are associated with a manuscript, these are not formally peer-reviewed as a part of the journal submission process. It is the author's responsibility to ensure the soundness of data. Any errors in the data rest solely with the producers of the data set(s).

Publication Charges

There are no submission fees, publication fees or page charges for this journal.

Color figures will be reproduced in color in your online article free of charge. If it is necessary for the figures to be reproduced in color in the print version, a charge will apply.

Charges for color figures in print are £300 per figure (\$400 US Dollars; \$500 Australian Dollars; €350). For more than 4 color figures, figures 5 and above will be charged at £50 per figure (\$75 US Dollars; \$100 Australian Dollars; €65). Depending on your location, these charges may be subject to local taxes.

Copyright Options

Copyright allows you to protect your original material, and stop others from using your work without your permission. Taylor & Francis offers a number of different license and reuse options, including Creative Commons licenses when publishing open access. [Read more on publishing agreements](#).

Complying with Funding Agencies

We will deposit all National Institutes of Health or Wellcome Trust-funded papers into PubMedCentral on behalf of authors, meeting the requirements of their respective open access policies. If this applies to you, please tell our production team when you receive your article proofs, so we can do this for you. Check funders' open access policy mandates [here](#). Find out more about [sharing your work](#).

My Authored Works

On publication, you will be able to view, download and check your article's metrics (downloads, citations and Altmetric data) via [My Authored Works](#) on Taylor & Francis Online. This is where you can access every article you have published with us, as well as your [free eprints link](#), so you can quickly and easily share your work with friends and colleagues.

We are committed to promoting and increasing the visibility of your article. Here are some tips and ideas on how you can work with us to [promote your research](#).

Queries

If you have any queries, please visit our [Author Services website](#) or contact us [here](#).