

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

LEMUEL CORDEIRO

EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS DE HIBISCO (*Hibiscus sabdariffa* L)
ASSISTIDA POR ULTRASSOM: OTIMIZAÇÃO, ESTABILIDADE E ATIVIDADE
ANTIOXIDANTE.

PONTA GROSSA

2026

LEMUEL CORDEIRO

EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS DE HIBISCO (*Hibiscus sabdariffa* L)
ASSISTIDA POR ULTRASSOM: OTIMIZAÇÃO, ESTABILIDADE E ATIVIDADE
ANTIOXIDANTE.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação
em Ciência e Tecnologia de Alimentos, da Universidade
Estadual de Ponta Grossa, para obtenção do título de
Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Renata Dinnies Santos Salem.

PONTA GROSSA

2026

C794 Cordeiro, Lemuel
Extração de compostos bioativos de hibisco (*Hibiscus sabdariffa*) assistida por ultrassom: otimização, estabilidade e atividade antioxidante / Lemuel Cordeiro. Ponta Grossa, 2026.
75 f.

Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos - Área de Concentração: Ciências e Tecnologia de Alimentos), Universidade Estadual de Ponta Grossa.

Orientadora: Profa. Dra. Renata Dinnies Santos Salem.

1. Capacidade antioxidante. 2. Sustentabilidade. 3. Extração verde. 4. Antocianinas. 5. Modelagem experimental. I. Salem, Renata Dinnies Santos. II. Universidade Estadual de Ponta Grossa. Ciências e Tecnologia de Alimentos. III.T.

CDD: 664

TERMO DE APROVAÇÃO

LEMUEL CORDEIRO

“Extração de compostos bioativos de Hibisco (*Hibiscus sabdariffa*) assistida por ultrassom: otimização, estabilidade e atividade antioxidante”

Dissertação aprovada como requisito para obtenção do grau de Mestre(a) no Curso de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, da Universidade Estadual de Ponta Grossa, pela seguinte banca examinadora:

Orientador: Profa. Dra. Renata Dinnies Santos Salem

Documento assinado digitalmente
 **RENATA DINNIES SANTOS SALEM**
Data: 25/06/2026 14:42:37-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. Renata Dinnies Santos Salem – UEPG-PR - Presidente

Documento assinado digitalmente
 **MICHELE ROSSET**
Data: 26/06/2026 11:40:59-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. Michele Rosset – IFPR-PR – Membro Titular Externo

Documento assinado digitalmente
 **ALINE ALBERTI**
Data: 29/06/2026 18:25:46-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. Aline Alberti – UEPG-PR – Membro Titular Interno

Documento assinado digitalmente
 **MARINA TOLENTINO MARINHO**
Data: 08/07/2026 19:13:29-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Marina Tolentino Marinho – UEPG-PR – Membro Titular Interno

Ponta Grossa, 24 de junho de 2026.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por me conceder saúde, força e sabedoria para enfrentar os desafios e por me permitir concluir esta etapa tão importante da minha formação acadêmica.

À minha orientadora, Prof.^a Dr.^a Renata, pela confiança, dedicação, orientação e pelos valiosos ensinamentos transmitidos ao longo do desenvolvimento deste trabalho. Sua contribuição foi fundamental para a realização desta pesquisa e para o meu crescimento profissional e científico.

À minha companheira, Luana, pelo amor, carinho, compreensão e incentivo em todos os momentos. Sua presença, apoio e companheirismo foram fundamentais para que esta conquista se tornasse possível.

À Universidade Estadual de Ponta Grossa, em especial ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos e aos laboratórios do Departamento de Engenharia de Alimentos, pela infraestrutura e pelo suporte disponibilizados para a execução deste estudo.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos, cujo apoio foi essencial para o desenvolvimento desta pesquisa.

Aos meus pais, pelo amor, pelos ensinamentos, pelo incentivo constante e por todo o apoio ao longo da minha trajetória. Sou profundamente grato por todos os esforços realizados e por sempre acreditarem em mim.

Aos professores, colegas e amigos que, de alguma forma, contribuíram para a realização deste trabalho, compartilhando conhecimentos, experiências e palavras de incentivo.

Por fim, agradeço a todos que fizeram parte desta caminhada e contribuíram, direta ou indiretamente, para a concretização deste sonho. Esta conquista representa não apenas um resultado acadêmico, mas também o apoio, a confiança e a colaboração de todos aqueles que estiveram ao meu lado durante essa jornada.

RESUMO

A extração assistida por ultrassom (EAU) representa uma alternativa eficiente e sustentável para a recuperação de compostos bioativos a partir de matrizes vegetais. O presente trabalho teve como objetivo otimizar as condições de extração de compostos fenólicos totais (CFT), flavonoides totais (FT) e antocianinas totais (AT) dos cálices desidratados de *Hibiscus sabdariffa*, utilizando um delineamento fatorial Box-Behnken com três variáveis independentes: concentração de etanol (X_1 : 25, 50 e 75%), temperatura (X_2 : 30, 45 e 60 °C) e tempo de ultrassom (X_3 : 5, 10 e 15 min). Antes do planejamento, avaliou-se o efeito preliminar do ultrassom na extração de antocianinas em diferentes tempos de sonicação (0, 5, 10 e 15 min), e a estrutura dos cálices, antes e após o tratamento, foi analisada por microscopia eletrônica de varredura com emissão de campo (MEV-FEG). Os modelos ajustados apresentaram coeficientes de determinação de 0,8247, 0,7897 e 0,9270 para CFT, FT e AT, respectivamente. A concentração de etanol (X_1) foi a variável de maior impacto sobre as três respostas, com o maior t-valor absoluto registrado para AT ($t = -25,195$; $p < 0,001$). A otimização por função de desejabilidade global resultou em desejabilidade de 0,7455, com condições ótimas de 44,17% de álcool, 60 °C e 13,83 min de ultrassom, produzindo o extrato global (HG) com valores preditos de 20,07 mg EAG/g cd para CFT, 3,96 mg EAG/mL para FT e 4,30 mg ECG/mL para AT. A atividade antioxidante foi avaliada pelos métodos DPPH, ABTS e FRAP, com destaque para o extrato otimizado de flavonoides (HF), que apresentou o maior valor de FRAP ($4386,78 \pm 120,48 \mu\text{M}$). A estabilidade das antocianinas do extrato HG foi avaliada em diferentes condições de pH, luz e temperatura. A maior atividade antioxidante foi observada em pH ácido ($1259,43 \mu\text{M}$ em pH 4), com redução acentuada em condições alcalinas ($333,29 \mu\text{M}$ em pH 13). A exposição à luz acelerou a degradação do cátion flavílio, com meia-vida de 69 h sob luz frente a 157 h no escuro. O aumento da temperatura reduziu progressivamente a retenção de cor, com valores de 82, 74 e 71% após 8 h a 60, 80 e 100 °C, respectivamente. Os resultados demonstram que a EAU otimizada pelo delineamento Box-Behnken é uma estratégia eficiente para a obtenção de extratos de *H. sabdariffa* com elevado conteúdo de compostos bioativos e potencial de aplicação como ingrediente funcional na indústria de alimentos.

Palavras-chave: Capacidade antioxidante; sustentabilidade; extração verde; antocianinas; modelagem experimental.

ABSTRACT

Ultrasound-assisted extraction (UAE) represents an efficient and sustainable alternative for recovering bioactive compounds from plant matrices. This study aimed to optimize the extraction conditions for total phenolic compounds (TPC), total flavonoids (TF), and total anthocyanins (TA) from dehydrated *Hibiscus sabdariffa* calyces using a Box-Behnken factorial design with three independent variables: ethanol concentration (X_1 : 25, 50, and 75%), temperature (X_2 : 30, 45, and 60 °C), and ultrasound time (X_3 : 5, 10, and 15 min). Before the experimental design, the preliminary effect of ultrasound on anthocyanin extraction was assessed at different sonication times (0, 5, 10, and 15 min), and the structure of the calyces before and after treatment was analyzed by field emission scanning electron microscopy (FE-SEM). The fitted models showed coefficients of determination of 0.8247, 0.7897, and 0.9270 for TPC, TF, and TA, respectively. Ethanol concentration (X_1) was the most influential variable across all three responses, with the highest absolute t-value recorded for TA ($t = -25.195$; $p < 0.001$). Global desirability optimization yielded a desirability of 0.7455, with optimal conditions of 44.17% ethanol, 60 °C, and 13.83 min of ultrasound, producing the global optimized extract (HG) with predicted values of 20.07 mg GAE/g dw for TPC, 3.96 mg QE/mL for TF, and 4.30 mg CGE/mL for TA. Antioxidant activity was assessed by DPPH, ABTS, and FRAP methods, with the flavonoid-optimized extract (HF) showing the highest FRAP value ($4386.78 \pm 120.48 \mu\text{M}$). Anthocyanin stability in extract HG was evaluated under different pH, light, and temperature conditions. The highest antioxidant activity was observed under acidic conditions ($1259.43 \mu\text{M}$ at pH 4), with a marked reduction under alkaline conditions ($333.29 \mu\text{M}$ at pH 13). Light exposure accelerated flavylum cation degradation, with a half-life of 69 h under light versus 157 h in the dark. Increasing temperature progressively reduced color retention, reaching values of 82, 74, and 71% after 8 h at 60, 80, and 100 °C, respectively. The results demonstrate that the UAE optimized by Box-Behnken design is an efficient strategy for obtaining *H. sabdariffa* extracts with high bioactive compound content and potential application as a functional ingredient in the food industry.

Keywords: Antioxidant capacity; phenolic compounds; flavonoids; anthocyanins; experimental design.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	8
2	OBJETIVOS	9
2.1	OBJETIVO GERAL.....	9
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	9
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	10
3.2	PLANTAS ALIMENTÍCIAS NÃO CONVENCIONAIS (PANC's).....	10
3.2.2	<i>Hibiscus sabdariffa</i> L.	12
3.3	COMPOSTOS FENÓLICOS	13
3.3.2	Flavonoides.....	15
3.3.3	Antocianinas	16
3.3.4	Atividade Antioxidante.....	17
3.4	EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS ASSISTIDA POR ULTRASSOM...	18
3.5	APLICAÇÕES DE <i>Hibiscus sabdariffa</i>	20
4	MATERIAIS E MÉTODOS	24
4.1	AMOSTRAS E REAGENTES.....	25
4.2	COMPOSIÇÃO CENTESIMAL DE <i>Hibiscus Sabdariffa</i>	26
4.3	EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS ASSISTIDA POR ULTRASSOM...	26
4.4	MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV-FEG)	26
4.5	OBTENÇÃO DOS EXTRATOS OTIMIZADOS.....	27
4.5.1	Determinação de Compostos Fenólicos Totais (CFT).....	28
4.5.2	Determinação de flavonoides totais (FT)	28
4.5.3	Determinação de antocianinas totais (AT)	29
4.6	DETERMINAÇÃO DE ATIVIDADE ANTIOXIDANTE.....	29
4.6.1	Avaliação da atividade antioxidante pela inibição do radical livre (DPPH)	29
4.6.2	Avaliação da atividade antioxidante através do método de redução do ferro (FRAP).	30
4.6.3	Avaliação da atividade antioxidante pela inibição do radical livre (ABTS)	30

4.7	ESTABILIDADE DAS ANTOCIANINAS NO EXTRATO OTIMIZADO	31
4.7.1	Efeito do pH na Atividade Antioxidante <i>in vitro</i>	31
4.7.2	Efeito da Luz	31
4.7.3	Efeito da Temperatura	32
4.8	ANÁLISE ESTATÍSTICA	33
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	34
5.1	PREPARAÇÃO DA AMOSTRA	34
5.2	COMPOSIÇÃO CENTESIMAL DE <i>Hibiscus sabdariffa</i>	34
5.3	EFEITO PRÉVIO DO ULTRASSOM NA EXTRAÇÃO DE ANTOCIANINAS	35
5.4	MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV-FEG)	36
5.5	DETERMINAÇÃO DOS EXTRATOS OTIMIZADOS DE HIBISCO	
	OTIMIZAÇÃO DA EXTRAÇÃO HIDROALCOÓLICA DE HIBISCO	39
5.6	ATIVIDADE ANTIOXIDANTE	50
5.7	ESTABILIDADE DO EXTRATO GLOBAL OTIMIZADO	52
5.7.1	Estabilidade frente a variações de pH	52
5.7.2	Estabilidade à Luz	54
5.7.3	Estabilidade à Temperatura	57
6	CONCLUSÃO	59
	REFERÊNCIAS	60

1 INTRODUÇÃO

Métodos eficientes de extração de compostos bioativos de plantas alimentícias não convencionais (PANC's) e alimentos funcionais são áreas de intensa pesquisa, impulsionada pelo crescente interesse na utilização de produtos naturais para promover a saúde e o bem-estar. Nesse contexto, o *Hibiscus sabdariffa* emerge como uma planta de grande potencial devido à sua rica composição fitoquímica, que inclui antioxidantes, flavonoides, ácidos orgânicos e antocianinas.

A tecnologia de extração assistida por ultrassom (EAU) tem se destacado como uma abordagem promissora para a obtenção de extratos vegetais de alta qualidade, devido à sua capacidade de aumentar a eficiência do processo de extração e a solubilização dos compostos bioativos presentes nas plantas. Por meio da aplicação de ultrassom ocorre a ruptura das células vegetais e a liberação dos compostos bioativos, resultando em extratos mais concentrados e biodisponíveis.

No entanto, apesar do potencial da EAU, ainda há desafios a serem superados em relação à otimização dos parâmetros de extração, como a temperatura, o tempo de exposição e a proporção entre o material vegetal e o solvente. Além disso, a caracterização detalhada dos compostos bioativos presentes nos extratos de *Hibiscus sabdariffa* é essencial para compreender seus potenciais efeitos funcionais.

Através de uma combinação de técnicas analíticas, é possível identificar e quantificar os principais compostos presentes nos extratos, incluindo ácidos fenólicos, flavonoides e antocianinas e com isso obter um extrato de maior valor nutricional.

Além disso, ao explorar os benefícios da tecnologia ultrassônica para a obtenção de extratos vegetais, há contribuição para o desenvolvimento de práticas mais sustentáveis na indústria de produtos naturais e fitoterápicos, pela demanda dos consumidores por produtos menos processados. Assim, a obtenção de extratos dos cálices de *Hibiscus sabdariffa* assistida por ultrassom e a caracterização de seus compostos bioativos representam uma área de pesquisa promissora.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Otimizar a extração e quantificar os compostos bioativos de extratos dos cálices de *Hibiscus sabdariffa*, obtidos com auxílio de ultrassom

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar a composição centesimal dos cálices de *Hibiscus sabdariffa*;
- Avaliar a estrutura das paredes vegetais dos cálices de hibisco antes e após extração com o auxílio do ultrassom, através da microscopia eletrônica de varredura;
- Otimizar a extração dos compostos fenólicos, flavonoides, antocianinas e das três classes simultaneamente por meio de planejamento experimental;
- Avaliar as atividades antioxidantes do extrato em relação aos diferentes métodos de extração;
- Determinar a estabilidade das antocianinas presentes no extrato em diferentes condições de temperatura, pH e luz.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.2 PLANTAS ALIMENTÍCIAS NÃO CONVENCIONAIS (PANC's)

Poucas plantas são utilizadas como fonte de alimento no planeta Terra, mesmo tendo uma biodiversidade enorme, chegando a ter milhares de espécies espalhadas pelo planeta. Dentre as plantas existentes, 90% do fornecimento de alimento no mundo vem apenas de 103 espécies diferentes (Pereira *et al.*, 2023; Iqbal *et al.*, 2022).

Com o passar dos anos, por conta do crescimento populacional mundial, surge como necessidade a busca por alternativas como fonte de alimentos, que possam garantir e atender às necessidades nutricionais, a segurança alimentar, uma alimentação saudável e incentivar uma sociedade mais sustentável. Entretanto, diversas espécies de plantas que possuem características que possam contribuir para a alimentação humana são utilizadas parcialmente ou nem chegam a ser utilizadas, podendo ser denominadas plantas alimentícias não convencionais (PANC's) (Pereira *et al.*, 2023; Iqbal *et al.*, 2022; Ferreira *et al.*, 2024).

Por conta de mecanismos de adaptação e uma grande resistência em ambientes considerados hostis para diversas plantas, as PANC's podem ser encontradas facilmente em locais não esperados como praças, beira de estradas e terrenos baldios, eventualmente sendo vistas como arbustos, ervas daninhas, pragas ou até mesmo consideradas apenas como um mato sem utilidade (Fangueiro *et al.*, 2022). Contudo, ainda que no Brasil haja uma grande biodiversidade de plantas, podendo chegar a mais de 46.000 espécies, a utilização de PANC's permanece de maneira pouco explorada, mesmo com diversos usos documentados em várias aldeias indígenas e comunidades tradicionais (Santos *et al.*, 2024).

As PANC's surgem como uma forma alternativa economicamente e nutricionalmente viável para a alimentação humana. Porém, as cadeias produtivas de algumas plantas se mantêm apenas na comercialização *in natura* ou minimamente processada, não abrangendo muitos locais de venda além da zona de produção. Junto disso, as PANC's podem gerar uma maior renda para os produtores, uma vez que se tornam mais populares através dos estudos comprovando sua eficácia na promoção de uma dieta mais nutritiva (Santos *et al.*, 2024; Souza *et al.*, 2023).

Em grande parte das PANC's, diversas partes podem ser consumidas como forma de alimento com alto valor nutricional e de baixo custo para os humanos, como as flores, folhas, caules e até raízes, porém muitas ainda são subutilizadas (Soares *et al.*, 2024). Na definição de PANC's pode-se incluir plantas alimentícias que possuam métodos de processamento

minimizados, as que não possuem valor de mercado ou as que são vendidas em pequena escala (Mendonça *et al.*, 2023).

Como forma de melhorar a utilização dessas plantas na alimentação humana, é essencial a identificação das espécies existentes, junto com estudos para encontrar o melhor potencial para cultivo a curto, médio e longo prazo, além de propor formas fáceis de preparo e com boa composição nutricional. Apesar de que, no Brasil, existam políticas públicas que auxiliam na comercialização dessas PANC's, a compra de alimentos menos conhecidos é escassa (Ranieri *et al.*, 2024).

Essa escassez na procura dessas plantas, pode ser referente ao pouco estudo, por conta do crescimento substancial das monoculturas e produções agrícolas, onde as espécies que possuem alto valor comercial são as mais procuradas e analisadas (Ferreira *et al.*, 2024). Porém, no Brasil, algumas pesquisas têm sido realizadas com temas que possuem relação ao desenvolvimento de novos produtos alimentícios com as PANC's, além da sua composição centesimal, seus compostos bioativos e suas propriedades farmacológicas (Souza *et al.*, 2023). Comumente, as plantas alimentícias não convencionais são ótimas fontes de compostos que possuem características anti-inflamatórias e antioxidantes, junto com nutrientes, vitaminas e alguns minerais (Mendonça *et al.*, 2023). A implementação de políticas que atribuam valores com ligação à saúde e à sustentabilidade pode aumentar significativamente o consumo e a produção de PANC's (Souza *et al.*, 2023).

As PANC's tradicionalmente têm sido utilizadas como forma de tratamento e prevenção natural de várias doenças como as neurodegenerativas, distúrbios renais, hipertensão e atuam como agentes anticancerígenos, por conta da sua composição química que possui notável conteúdo de minerais e compostos fenólicos (Ferreira *et al.*, 2024; Torres *et al.*, 2022).

Dentre as diversas fontes de alimentos que existem, as PANC's não necessitam da aplicação de insumos químicos e nem da criação de novas áreas de plantio, devido ao fato de diversas dessas plantas possuírem características de resistência a ambientes hostis (Fangueiro *et al.*, 2022).

Diversos agricultores possuem áreas que estão repletas de PANC's, podendo intensificar a alimentação de qualidade de muitas famílias, porém há o problema da falta de conhecimento sobre as plantas, ou até a falta de instruções de preparo atingindo também a população em geral (Gomes; Oliveira, 2023).

3.2.2 *Hibiscus sabdariffa* L.

A planta *Hibiscus sabdariffa*, conhecida em diversas regiões do mundo como *Roselle*, e aqui no Brasil como hibisco ou vinagreira, faz parte da família das Malvaceae. A origem da palavra *roselle* é por conta do nome de uma menina francesa, que era composto por duas palavras: “rous” e “elle”, significando vermelho e ela, respectivamente, surgindo assim o nome popular da planta devido à sua cor característica ser vermelha. Por conta disso, o hibisco é amplamente utilizado como corante e ingrediente de diversas bebidas (Salami; Afolayan, 2020).

Considerado uma planta herbácea, o hibisco possui como característica a capacidade de ser acessível durante todo o ano, com galhos eretos e ramificados, sendo cultivado em diversas áreas ao redor do mundo. Pode chegar a uma altura entre 1,5 e 2,5 metros, sendo nativa da Ásia e da África tropical, tendo a possibilidade de ser encontrada em outras regiões tropicais e subtropicais como a Índia, Malásia, América Central e Austrália (Chatepa *et al.*, 2023; Ahmed *et al.*, 2023).

As folhas são de cor verde escura a vermelha, lisas, tendo de 3 a 5 lóbulos que possuem tamanho de 8 a 15 cm de comprimento. As flores são vermelhas a amarelas com um centro escuro, nascendo solitárias nas axilas das folhas; os cálices, que são o agrupamento de 5 sépalas, são proeminentes com coloração vermelha viva e carnuda (Yasmin *et al.*, 2023).

Os extratos aquosos e/ou alcoólicos dos cálices, folhas e flores do hibisco contêm diversos compostos como os ácidos fenólicos, vitamina C e flavonoides, com maior concentração sendo das antocianinas que resultam em um produto natural elevado em capacidade antioxidante, minimizando o estresse oxidativo e possíveis inflamações (Chatepa *et al.*, 2023; Ajiboye *et al.*, 2024).

Em especial os cálices de hibisco, que podem ser comercializados secos ou *in natura* como demonstrado na Figura 1, são amplamente reconhecidos por conta das suas propriedades químicas que impactam positivamente na saúde do consumidor. Essas propriedades são devidas aos compostos antioxidantes que realizam a neutralização de radicais livres presentes nas células do organismo, evitando possíveis danos oxidativos que podem diminuir a vida útil da célula (Clímaco *et al.*, 2023).

Além dessas propriedades, o hibisco mostrou em testes *in vitro* que possui a capacidade de ser anti-hipertensivo, auxiliando no controle da pressão arterial mais elevada; também há indícios de efeito anticancerígeno, o qual inibe o crescimento de células que podem ser consideradas cancerígenas. As antocianinas do hibisco podem ser utilizadas para o tratamento

de febre, fígado e leucemia, sendo alguns exemplos de aplicações medicinais que foram investigadas no mundo (Clímaco *et al.*, 2023; Rizkiyah *et al.*, 2023; Khan *et al.*, 2022).

Figura 1 - Cálices de *Hibiscus sabdariffa* in natura



Fonte: o autor.

As formas mais comuns de preparo para consumo de *Hibiscus sabdariffa* são a infusão, como a produção de chás, e a obtenção de extratos aquosos/alcoólicos para posterior aplicação em outros produtos, ou até mesmo a produção de medicamentos. Porém, o efeito tóxico possui dados limitados, sendo necessário realizar uma pesquisa dos efeitos adversos ao adicionar extratos dessa planta em novos produtos (Mendonça *et al.*, 2023).

Os compostos bioativos que estão presentes nos cálices do hibisco, que apresentam propriedades que contribuem para a redução de peso através da inibição do acúmulo de lipídeos e da supressão da adipogênese são: as antocianinas (cianidina e delphinidina); ácidos orgânicos (ácido cítrico, ácido málico e ácido hibístico), ácidos fenólicos (ácido clorogênico e ácido gálico) e flavonoides (miricetina, quercetina e kaempferol) (Dilokthornsakul *et al.*, 2024; Arce-Reynoso *et al.*, 2023; Navidad-Murrieta *et al.*, 2023).

3.3 COMPOSTOS FENÓLICOS

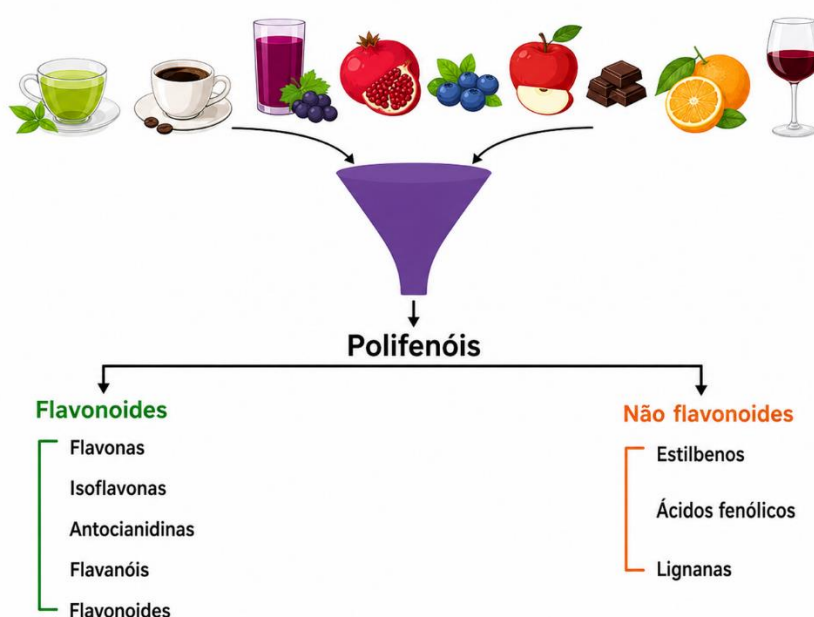
Sendo compostos por pelo menos um anel aromático ligado a um grupo hidroxila, os compostos fenólicos são metabólitos secundários das plantas que principalmente são sintetizados pela via metabólica dos fenilpropanoides que têm a possibilidade de obter diferentes propriedades por conta de outros ligantes presentes na estrutura principal (Vinci *et al.*, 2024; Silva *et al.*, 2024).

Por volta de 8.000 polifenóis foram identificados e classificados em dois principais grupos: os flavonoides e os não flavonoides. Dentre os flavonoides estão: flavonas, flavanóis, flavononas, isoflavonas e antocianidinas, e dentre os não flavonoides tem-se: ácidos fenólicos, estilbenos, lignanas, como demonstrado na Figura 2 (Vinci *et al.*, 2024; El-Hack *et al.*, 2023).

O papel de defesa e proteção das plantas contra a radiação ultravioleta e danos por patógenos é desempenhado pelos compostos fenólicos, além de que, nos alimentos, fazem parte das características sensoriais impactando no amargor, sabor, odor, cor e estabilidade à oxidação (Vinci *et al.*, 2024).

A melhoria da saúde das propriedades biológicas dos compostos fenólicos é influenciada pela ingestão, absorção e transporte para os locais-alvo e pelo metabolismo do organismo. A biodisponibilidade dos compostos está condicionada à sua bioacessibilidade a partir da matéria-prima, estabilidade durante a digestão gastrointestinal, absorção e metabolização antes de atingir os tecidos-alvo (Arce-Reynoso *et al.*, 2023).

Figura 2 - Classificação dos Polifenóis



Fonte: o autor (2026).

A forma mais comum de extração desses compostos fenólicos das plantas e seus derivados consiste nas etapas de maceração, percolação e extração por solvente. Porém, esses métodos possuem limitações por conta da instabilidade térmica de algumas biomoléculas e do longo tempo para a extração (Sanou *et al.*, 2023; Wu *et al.*, 2024).

Contudo, a grande diversidade estrutural dos compostos fenólicos, associada à variedade de matrizes alimentares e às limitações das tecnologias disponíveis, dificulta a realização de processos de extração que sejam simultaneamente eficientes, sustentáveis e economicamente viáveis. (Wu *et al.*, 2024; Vinci *et al.*, 2024). Diversos parâmetros como a composição do produto, flora intestinal e a composição química impactam diretamente na eficiência da absorção dos polifenóis (El-Hack *et al.*, 2023).

Além da degradabilidade térmica, os compostos fenólicos são extremamente sensíveis às condições do ambiente em que estão, por conta de serem metabolizados rapidamente, como o pH, a presença de luz e/ou oxigênio. Devido a isso, estudos minuciosos devem ser realizados a fim de compreender o comportamento dos compostos fenólicos nos locais onde são absorvidos e como foram incorporados em produtos farmacêuticos ou alimentares (Duque-Soto *et al.*, 2023).

3.3.2 Flavonoides

Diversas pesquisas estão sendo realizadas no campo de compostos naturais para a sua aplicação em novos produtos, além do estudo para o aprimoramento do processamento industrial em larga escala. Os flavonoides, um grupo de compostos polifenólicos, têm chamado a atenção de diversos pesquisadores devido ao fato de estarem amplamente dispersos na natureza e exibirem uma grande atividade biológica, tornando-os relevantes para múltiplos campos científicos (Liga *et al.*, 2023).

Estando presentes em várias frutas, vegetais, ervas, caules, cereais, flores e sementes, os flavonoides que são um grupo importante de metabólitos secundários dos vegetais, são utilizados de maneira abrangente na produção de diversos alimentos, com o intuito de diminuir o uso de produtos sintéticos e beneficiar a saúde humana. Até agora, mais de 10.000 flavonoides foram isolados e identificados (Sun *et al.*, 2022; Ma *et al.*, 2024; Chen *et al.*, 2023).

Os flavonoides possuem 15 átomos de carbono dispostos em três anéis (C6-C3-C6) rotulados como A, B e C, sendo sintetizados por meio da via metabólica dos fenilpropanoides (Nascimento *et al.*, 2022; Chen *et al.*, 2023). Além dos vegetais e frutas, que são as principais fontes de flavonoides, algumas pesquisas mostram que microrganismos como fungos e bactérias podem ser utilizados para a produção de flavonoides a partir de biomassa vegetal (Liga *et al.*, 2023).

Devido às suas propriedades benéficas à saúde como a capacidade antioxidante, os flavonoides estão sendo utilizados como ingrediente fundamental em medicamentos anti-

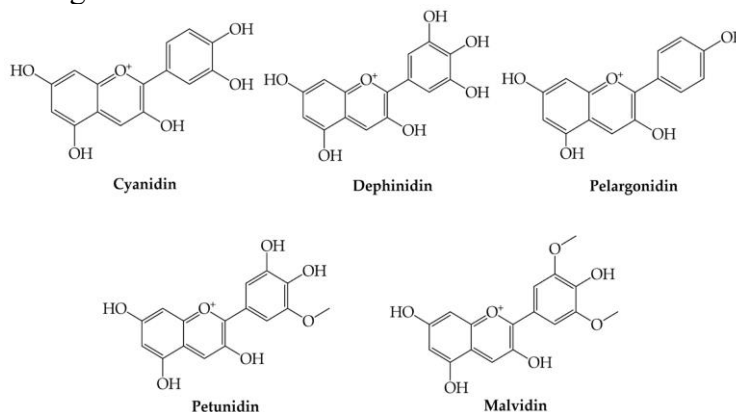
inflamatórios, antibacterianos e auxiliares na redução da pressão arterial em humanos e estão desenvolvendo-se como potenciais compostos terapêuticos para essas doenças (Li *et al.*, 2023a). Apesar desses benefícios, eles necessitam ser ingeridos através de alimentos ou medicamentos, pois não são sintetizados de forma direta pelo corpo humano (Nascimento *et al.*, 2022; Ma *et al.*, 2024). Os flavonoides possuem diversas categorias como chalconas, flavonas, flavononas, flavanois, flavonóis e antocianinas, sendo as flavonas e flavonóis os grupos mais encontrados entre todas as espécies de plantas (Sun *et al.*, 2022; Ma *et al.*, 2024; Chen *et al.*, 2023).

Diferentes mecanismos importantes para a prevenção de doenças são favorecidos pelos flavonoides, que demonstram beneficiar diversas partes do corpo humano como o músculo esquelético, fígado, pâncreas, adipócitos, células de imunidade e células neurais (Li *et al.*, 2023a). Um estudo feito por Madurece *et al.* (2024) com o extrato rico em flavonoides do cálice de *Hibiscus sabdariffa*, demonstrou um efeito positivo na ação anti-hipertensiva, reduzindo significativamente os parâmetros de pressão arterial sistólica e diastólica em ratos hipertensos.

3.3.3 Antocianinas

Em uma grande variedade de flores e frutos que possuem coloração roxo-avermelhada, são encontradas as antocianinas, um subgrupo dos flavonoides, sendo altamente utilizadas como corantes naturais, capazes de substituir aditivos sintéticos na indústria. São pigmentos orgânicos e solúveis em água, possuindo grupos hidroxila, carboxila, metoxila e glicosila ligados a um anel aromático, como demonstrado na Figura 3, e o seu consumo apresenta impacto benéfico na saúde humana (Hoang *et al.*, 2024; Hoang *et al.*, 2023).

Figura 3 - Estruturas das antocianinas mais comuns.



Fonte: Liga *et al.*, 2023.

Esse grupo de compostos fenólicos tem-se mostrado como um ingrediente chave nas indústrias, principalmente na de alimentos, cosméticos e farmacêutica, por conta da sua atividade antioxidante, a qual é responsável pelas atividades anti-glicêmicas e anti-cancerígenas. Normalmente encontradas nas plantas, como em flores, caules e folhas, as antocianinas estão majoritariamente presentes nas camadas celulares internas, como na epiderme e nas células periféricas do mesófilo (Rizkiyah *et al.*, 2023; Hoang *et al.*, 2024).

Na planta de *Hibiscus sabdariffa*, especialmente no seu cálice, foram encontradas quatro principais antocianinas: delfinidina-3-O-glicosídeo, delfinidina-3-O-sambubiosídeo, cianidina-3-O-glicosídeo e cianidina-3-O-sambubiosídeo, sendo estas antocianinas responsáveis pela coloração avermelhada dos cálices (Jabeur *et al.*, 2017). No extrato aquoso de hibisco, dentre as quatro principais, a delfinidina-3-O-sambubiosídeo e a cianidina-3-O-sambubiosídeo são os compostos mais predominantes (Khan *et al.*, 2022).

As antocianinas possuem a propriedade de alterar reversivelmente sua estrutura através da diferença de pH, variando assim a sua cor entre preto, azul, roxo e vermelho. Por conta disso, são amplamente utilizadas como corante natural na indústria alimentícia e de impressão 3D. A quantidade de antocianinas presentes no hibisco é semelhante às framboesas e possui maior concentração do que outras plantas comestíveis (Hoang *et al.*, 2023).

Uma das limitações da utilização das antocianinas como corante natural em produtos alimentícios e farmacêuticos é devida à instabilidade, a variações drásticas de pH, temperatura, luz, alguns íons metálicos, enzimas, oxigênio, ácido ascórbico, açúcares e outras substâncias que podem danificar a sua estrutura (Nhon *et al.*, 2022; Bakar *et al.*, 2023).

3.3.4 Atividade Antioxidante

O estresse oxidativo (EO) e o estresse nitrosativo (EN) nas células podem surgir devido a um desequilíbrio entre a produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) ou de espécies reativas de nitrogênio (ERNs), um subproduto natural do metabolismo corporal, e os mecanismos de defesa antioxidantes do corpo. Em condições fisiológicas normais, os antioxidantes neutralizam os EROs e os ERNs evitando assim o EO e o EN, porém diversos fatores podem levar a produção excessiva dessas espécies reativas (ERs) causando danos a componentes celulares como o DNA, proteínas e lipídeos (Oke *et al.*, 2024; Iqbal *et al.*, 2024; Perluigi; Di Domenico; Butterfield, 2023).

Os fatores externos, como a poluição do ar, fumaça do tabaco, herbicidas, luz ultravioleta e radiação ionizante podem levar a um acúmulo excessivo de espécies reativas

(ERs) ou interferirem no sistema de captura de radicais livres, causando uma série de problemas patológicos no organismo (Yoshikawa; You, 2024; Chen *et al.*, 2024). Conforme Chen *et al.* (2024), as ERs provocam a oxidação celular, sobretudo nas camadas lipídicas das membranas. Adicionalmente, modificam a estrutura de proteínas, enzimas e ácidos nucleicos, levando ao mau funcionamento ou à morte celular. Um exemplo dessas espécies são os aldeídos insaturados e as carbonilas proteicas que levam à oxidação, alterando seriamente a estrutura do DNA (Perluigi; Di Domenico; Butterfield, 2023).

A capacidade antioxidante dos flavonoides varia devido à sua estrutura. Íons metálicos como ferro e cobre podem gerar radicais livres, causando desequilíbrios redox e elevando ERO's. A ligação desses íons por flavonoides, que é influenciada pela quantidade e posição de grupos hidroxila e carbonila, contribui para suas propriedades antioxidantes (Zhou *et al.*, 2023).

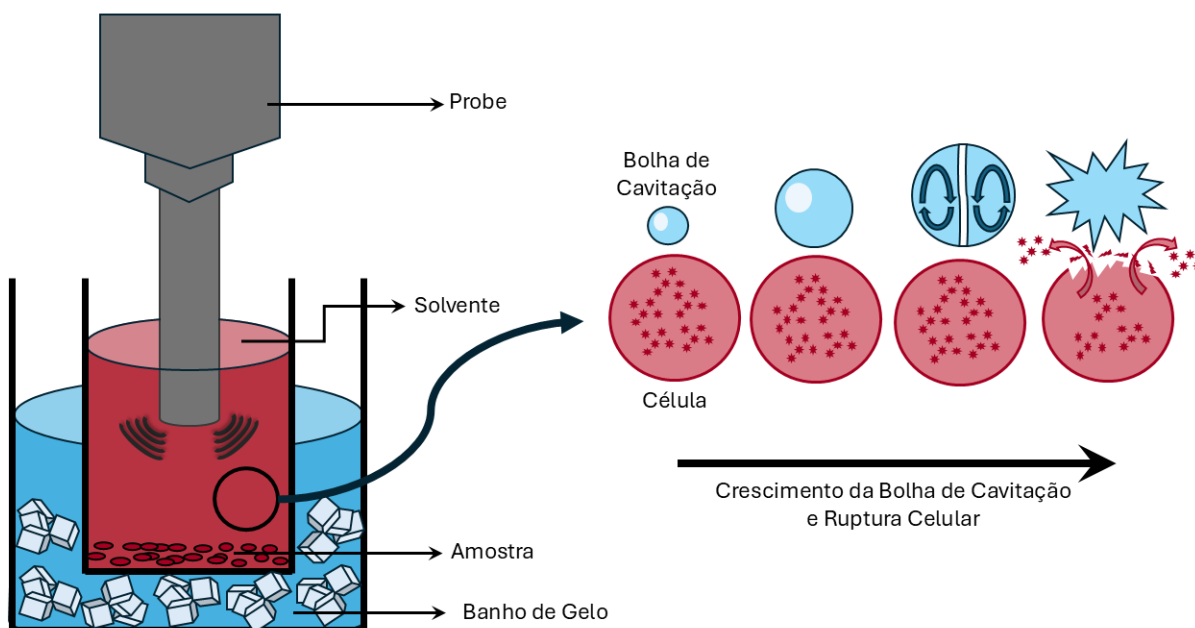
3.4 EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS ASSISTIDA POR ULTRASSOM

Para a extração de compostos bioativos a partir de matéria-prima vegetal, existem diversos fatores que afetam a sua qualidade e o tempo, com isso, a busca pela otimização dos processos é de grande importância. A extração assistida por ultrassom (EAU) é uma inovação tecnológica capaz de aumentar a eficiência no isolamento de compostos bioativos de plantas (Diwathe *et al.*, 2024). Com isso, a EAU se torna rápida e confiável para a extração de metabólitos primários e secundários (Sanou *et al.*, 2023).

Tradicionalmente, para a extração de compostos bioativos de plantas, são utilizados processos de extração térmica como, por exemplo, a extração por Soxhlet, a extração por destilação em água e a extração por destilação a vapor. Porém, estes métodos possuem desvantagens devido à utilização de altas temperaturas que podem ocasionar a perda de componentes voláteis, em função da sensibilidade térmica e do alto consumo de energia, além da necessidade da utilização de grandes quantidades de solventes e de longos tempos de extração (Diwathe *et al.*, 2024; Shen *et al.*, 2023).

O ultrassom produzido por ondas sonoras é uma forma de energia vibracional utilizada como uma tecnologia promissora para eliminar alguns patógenos, através da ruptura da parede celular de bactérias e fungos, nos alimentos e como forma de manter os vegetais e frutas frescos por mais tempo (Tahmasebi *et al.*, 2023). O ultrassom cria diferenças de pressão gerando cavitação por conta das bolhas que explodem liberando energia (Figura 4). Essas bolhas geram elevadas forças de cisalhamento causando a ruptura celular, melhorando a transferência de massa e aumentando a eficiência de extração (Siddiqui *et al.*, 2023).

Figura 4 - Mecanismo de ação do ultrassom



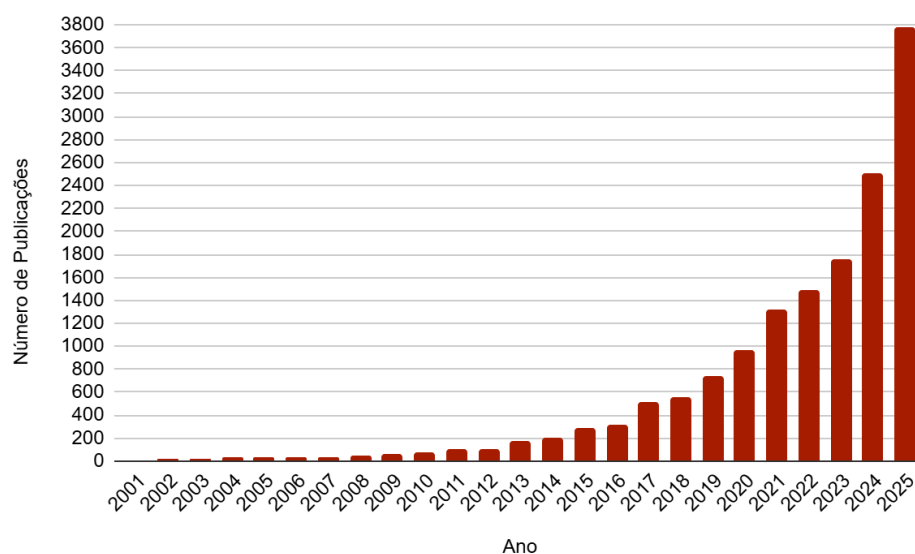
Fonte: o autor.

O uso das ondas ultrassônicas reduz significativamente o tempo de extração devido à explosão das bolhas geradas pela cavitação, o que provoca o rompimento das paredes celulares. Esse fenômeno acelera a difusão dos componentes presentes no interior da célula, aumentando a transferência de massa e resultando em uma eficiência de extração mais elevada. Dessa forma, o ultrassom combina simultaneamente o efeito térmico, o efeito mecânico e o efeito de cavitação, contribuindo para a otimização da extração de compostos bioativos de matrizes vegetais (Nhon *et al.*, 2022; Shen *et al.*, 2023).

Para a extração de compostos fenólicos de *Hibiscus sabdariffa*, a extração assistida por ultrassom destaca-se como um dos métodos mais eficientes e modernos atualmente disponíveis. Isso se deve principalmente ao seu baixo custo operacional, ao curto tempo de extração e ao reduzido consumo de solventes. Além disso, essa técnica é amplamente reconhecida como uma alternativa mais ecológica quando comparada aos métodos tradicionais de extração (Bakar *et al.*, 2023; Siddiqui *et al.*, 2023).

A partir de uma pesquisa e análise de dados realizadas em 2026 na base *ScienceDirect*, utilizando palavras-chave “*ultrasound-assisted extraction bioactive compounds*”, foram obtidos 15.169 resultados, evidenciando o crescente interesse científico pelo tema (Figura 5).

Figura 5 - Artigos publicados sobre extração assistida por ultrassom entre 2001 e 2025

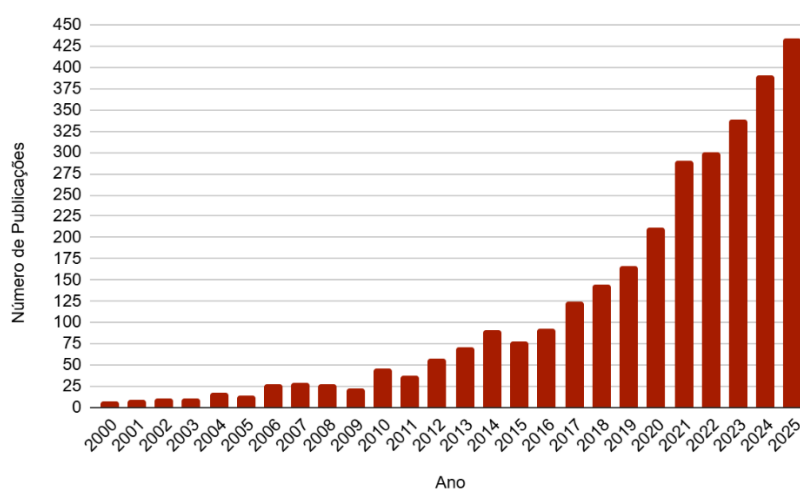


Fonte: o autor.

3.5 APLICAÇÕES DE *Hibiscus sabdariffa*

O uso de extrato aquoso de *Hibiscus sabdariffa* em alimentos está previsto pela Instrução Normativa nº 159 de 2022 (Brasil, 2022), que estabelece as listas das partes de espécies vegetais autorizadas para o preparo de chás e para o uso como especiarias. O mesmo levantamento foi realizado com as palavras-chave “*Hibiscus sabdariffa*” obtendo 2.600 resultados (Figura 6).

Figura 6 - Número de artigos publicados sobre *Hibiscus sabdariffa* entre 2000 e 2025



Fonte: o autor.

O conjunto de estudos apresentados no Quadro 1 permite contextualizar o presente trabalho em uma perspectiva ampla, abrangendo desde o reconhecimento do potencial funcional dos cálices de *Hibiscus sabdariffa* como matéria-prima para a indústria de alimentos até estratégias avançadas de otimização da extração de seus compostos bioativos.

Cid-Ortega e Guerrero-Beltrán (2015) estabelecem o embasamento conceitual para o uso dos cálices de *H. sabdariffa*, destacando sua riqueza em antocianinas, polifenóis e fibras com atividades antioxidante e antimicrobiana. Esse perfil fitoquímico justifica o interesse em otimizar a extração simultânea de compostos fenólicos totais (CFT), flavonoides totais (FT) e antocianinas totais (AT), respostas centrais do presente trabalho.

Mohamed *et al.* (2024) ampliam essa perspectiva ao demonstrarem que diferentes tecidos da planta acumulam compostos bioativos relevantes, reforçando a importância de métodos extrativos eficientes e direcionados à fração de interesse. No presente trabalho, os cálices desidratados foram a matriz escolhida por concentrarem as maiores quantidades de antocianinas e fenólicos da planta.

Quadro 1 – Resumo de algumas aplicações de *Hibiscus sabdariffa*

(continua)

Título do Artigo	Objetivo	Método de Extração/ Processamento	Principais observações e Conclusão	Referência
<i>Hibiscus sabdariffa</i> L. Extract as a Natural Additive in Food Packaging Biodegradable Films	Avaliar extrato de <i>H. sabdariffa</i> como aditivo em filmes biodegradáveis de para embalagens	Extração por acetona; incorporação em matriz polimérica	Filmes com extrato apresentaram maior atividade antioxidante e antimicrobiana e propriedades mecânicas frente ao controle	Hernández - Hernández <i>et al.</i> , 2024.
Seeking Optimal Extraction Method for Augmenting <i>Hibiscus sabdariffa</i> Bioactive Compounds	Comparar UAE, campo elétrico pulsado e agitação convencional para extração de compostos bioativos de cálices de <i>H. sabdariffa</i>	UAE, campo elétrico pulsado (PEF) e agitação convencional	UAE e PEF superaram a extração convencional; concentração de etanol e tempo foram os fatores mais determinantes sobre o teor de polifenóis e atividade antioxidante	Kourelatou <i>et al.</i> , 2024
Research on optimization of spray drying conditions of anthocyanins from <i>Hibiscus sabdariffa</i> and application to marshmallows	Otimizar secagem por atomização de antocianinas de <i>H. sabdariffa</i> e avaliar aplicação do pó em marshmallows	Extração convencional seguida de secagem por atomização com maltodextrina e goma arábica	Pó com 100,22 mg/g de antocianinas e encapsulação de 93,87%; marshmallows com boa aceitação sensorial e capacidade antioxidante satisfatória	Hoang <i>et al.</i> , 2024

Quadro 1 – Resumo de algumas aplicações de *Hibiscus sabdariffa*

(continuação)

Título do Artigo	Objetivo	Método de Extração/ Processamento	Principais observações e Conclusão	Referência
Optimization of ultrasound-assisted extraction using RSM for total anthocyanin content, total phenolic content and antioxidant activities of Roselle (<i>Hibiscus sabdariffa</i> L.) calyces	Otimizar UAE de cálices de <i>H. sabdariffa</i> por delineamento Box-Behnken variando temperatura, tempo e razão sólido:solvente	UAE com delineamento Box-Behnken e RSM	R ² entre 0,97 e 0,98; condições ótimas: 80 °C, 48 min e razão 1:60; UAE superou extração Soxhlet para todos os atributos avaliados	Ahmed <i>et al.</i> , 2023.
Roselle calyces (<i>Hibiscus sabdariffa</i>), an alternative to the food and beverages industries: a review	Revisar o uso de cálices de <i>H. sabdariffa</i> como ingrediente funcional nas indústrias alimentícia e de bebidas	Revisão Bibliográfica	Contém compostos bioativos que melhoram a qualidade nutricional e funcional dos alimentos	Cid-Ortega; Guerrero-Beltrán, 2015
Phytochemical screening, assessment of biological activity and nutritional value of Sudanese <i>Hibiscus sabdariffa</i> L. seeds	Avaliar a composição fitoquímica, atividade biológica e valor nutricional das sementes de <i>H. sabdariffa</i>	Extração convencional com etanol e metanol	Sementes ricas em flavonoides, taninos e proteínas, com alta atividade antioxidante e antimicrobiana, indicando potencial para uso em alimentos funcionais	Mohamed <i>et al.</i> , 2024
<i>Hibiscus</i> (<i>Hibiscus sabdariffa</i> L.) extracts freeze-dried and encapsulated by ionic gelation: an approach for yogurt application	Aplicar extratos encapsulados de <i>H. sabdariffa</i> em iogurte avaliando estabilidade e propriedades antioxidantes	Liofilização e microencapsulação por gelação iônica	Encapsulação preservou as antocianinas durante armazenamento; iogurtes enriquecidos apresentaram maior atividade antioxidante e coloração estável	Stella <i>et al.</i> , 2023

Fonte: o autor (2026).

Stella *et al.* (2023) e Hernández-Hernández *et al.* (2024) evidenciam que a qualidade do extrato, em termos de teor de antocianinas e de fenólicos, é determinante para o desempenho tecnológico em aplicações industriais como encapsulação em iogurtes e incorporação em embalagens ativas. Isso reforça que a otimização da etapa extrativa, objeto desta dissertação, é condição prévia indispensável para qualquer uso aplicado do extrato de hibisco.

Kourelatou *et al.* (2024) confirmam a superioridade da UAE frente à extração convencional e identificam a concentração de etanol e o tempo como os fatores mais influentes sobre o teor de polifenóis.

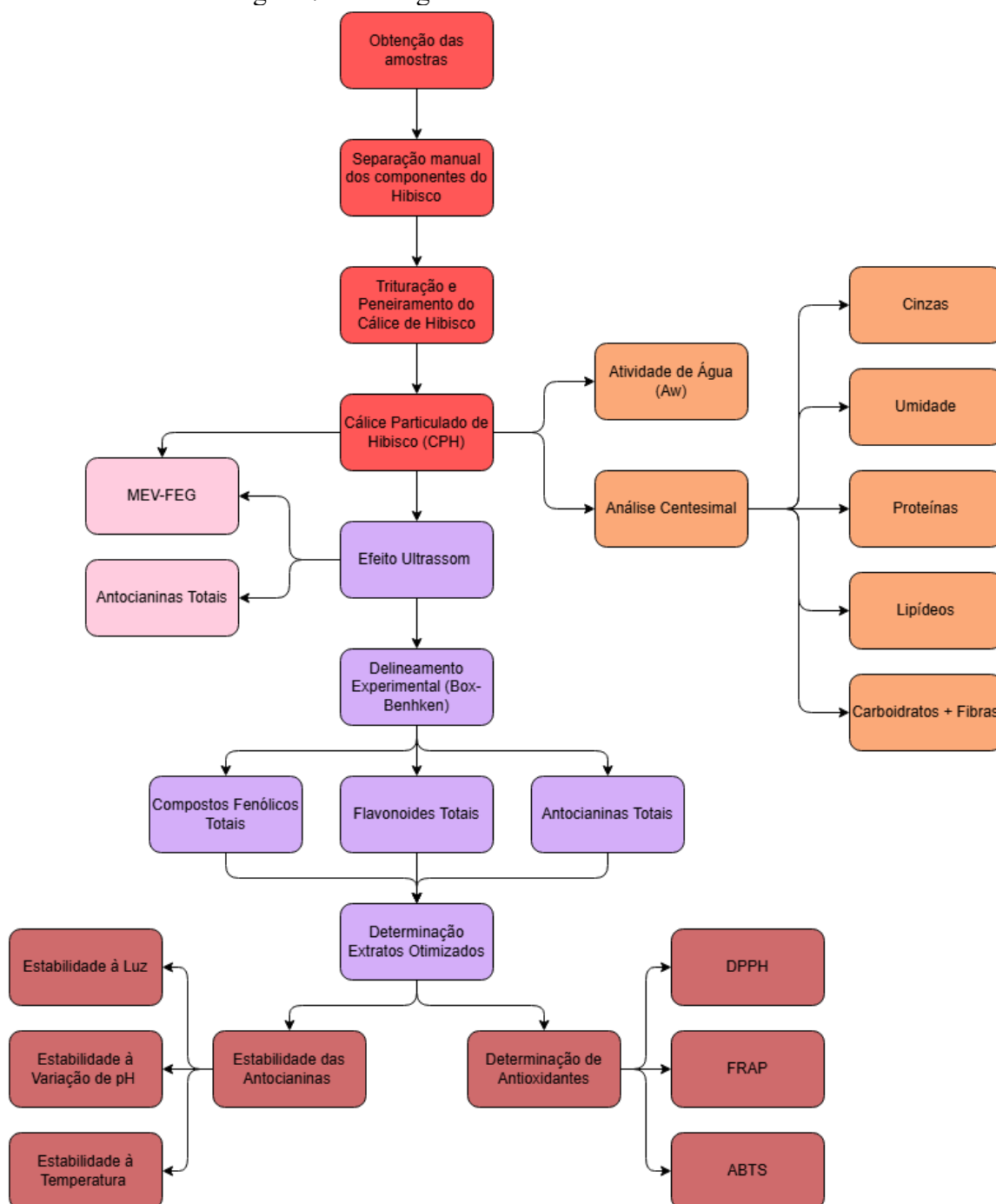
Ahmed *et al.* (2023) e Boukerche *et al.* (2023) aplicaram especificamente o delineamento Box-Behnken à UAE de cálices de *H. sabdariffa*, obtendo modelos com R^2 entre 0,97 e 0,98. Ambos os estudos confirmam a robustez do Box-Behnken como ferramenta de otimização para esse sistema.

Por fim, Hoang *et al.* (2024) demonstram que antocianinas de *H. sabdariffa* devidamente processadas mantêm estabilidade e aceitação suficientes para aplicação em alimentos de consumo direto, possuindo potencial concreto para uso como ingrediente funcional em produtos alimentícios.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

Este trabalho foi desenvolvido nos laboratórios do Centro de Tecnologia Agroalimentar (CTA), com auxílio do Complexo de Laboratórios Multiusuários (C-Labmu), da Universidade Estadual de Ponta Grossa. Os métodos para as análises dos extratos de *Hibiscus sabdariffa* estão dispostos em forma de fluxograma na Figura 7.

Figura 7 – Fluxograma de métodos e análises



Fonte: o autor.

4.1 AMOSTRAS E REAGENTES

As amostras dos cálices de *Hibiscus sabdariffa* previamente desidratados foram adquiridas em comércio local (Figura 8) (marca *Organic Land, Herbs, Spices & Seeds*, lote HFB, safra de julho de 2023, produzida no Egito).

Figura 8 - Cálices de *Hibiscus sabdariffa* desidratados.



Fonte: o autor.

Após a aquisição, as amostras prosseguiram para o processo de separação manual dos cálices de outras partes da planta. As amostras então foram trituradas a partir da utilização de primeiramente um liquidificador para as partes mais grossas, sendo utilizada moagem, com moinho modelo TecMill-TE-633 (Tecnal) para as partes mais finas.

Peneiras de *mesh* 40 foram utilizadas de modo a separar frações do hibisco, a fim de facilitar o processo de extração. Em seguida, as amostras foram encaminhadas para a selagem em embalagem de polietileno a vácuo utilizando embaladora modelo JET 40 (JETVAC), sendo identificadas com data e nome e ficaram armazenadas em ambiente escuro e em temperatura ambiente (25 °C) até o momento das análises.

Os reagentes utilizados foram de grau de pureza analítico. Foram usados os reagentes Folin-Ciocalteu, Trolox (6-hydroxy-2,5,7,8- tetramethyl-choromane-2-carboxylic acid), ABTS (2,2'-azino-bis (3-ethybenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt), DPPH (2,2-diphenyl-1- picrylhydrazyl). As soluções aquosas foram preparadas com água destilada.

4.2 COMPOSIÇÃO CENTESIMAL DE *Hibiscus Sabdariffa*

Para caracterização química dos cálices de *Hibiscus sabdariffa* foram realizadas as análises de umidade, cinzas, proteínas, lipídeos, conforme metodologia descrita pelo Instituto Adolfo Lutz (2008), carboidratos e fibra alimentar foram determinados por diferença. Foi realizada a análise de atividade de água no equipamento Aqualab Series 3 TE. As análises foram realizadas em triplicata.

4.3 EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS ASSISTIDA POR ULTRASSOM

O processo de extração assistida por ultrassom dos compostos bioativos foi realizado no equipamento Vibra-Cell (SONICS), modelo USC 1400. Um grama da amostra foi adicionado em 30 mL do solvente (etanol:água, 75:25) e então postas no equipamento em frequência de 20 kHz e amplitude de 50%. Um estudo preliminar sobre o efeito do ultrassom foi realizado a fim de compreender melhor o comportamento das antocianinas na extração hidroalcoólica assistida por ultrassom durante diferentes tempos de extração: 0, 5, 10 e 15 min a 30°C.

Após a extração no ultrassom, os extratos prosseguiram para uma incubadora *shaker* de piso (NT 740, NovaTecnica) por 10 minutos, mantendo a sua temperatura de extração pré-definida, garantindo a agitação dos cálices no extrato. Então, os extratos foram centrifugados à 1800 x g em uma centrífuga modelo Celm Combate (TECNAL), por 10 minutos em temperatura ambiente. O sobrenadante foi filtrado em papel Whatman nº 4 e então foi armazenado em freezer a - 18 °C (Pinela *et al.*, 2019).

O sistema de sonda foi utilizado para a extração por conta da alta intensidade ultrassônica fornecida em uma pequena superfície, amplamente utilizado para a sonificação de pequenos volumes de amostra, ao contrário do banho ultrassônico onde essa intensidade é dissipada. A sonda foi imersa diretamente no béquer entrando em contato com o solvente e a amostra (Pinela *et al.*, 2019).

Devido ao rápido aumento de temperatura do sistema, foi utilizado um banho de gelo para evitar degradação dos compostos bioativos da amostra (Figura 4).

4.4 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV-FEG)

As estruturas das paredes vegetais do hibisco pré e pós-tratamento com ultrassom foram analisadas por meio de um microscópio eletrônico de emissão de campo (MEV-FEG) MIRA 3

(Tescan, República Tcheca). As amostras de hibisco foram pulverizadas sobre uma fita de carbono e metalizadas com ouro e paládio (150 s; 20 mA) a fim de promover uma superfície condutora de elétrons. No canhão de emissão de campo foi gerada uma tensão de corrente de 15 kV no feixe de elétrons (Bet *et al.*, 2018).

4.5 OBTENÇÃO DOS EXTRATOS OTIMIZADOS

Para a otimização das condições de extração assistida por ultrassom dos compostos bioativos dos cálices de *Hibiscus sabdariffa*, foi utilizado um planejamento fatorial Box-Behnken (1960), com três variáveis independentes e três níveis cada, totalizando 15 ensaios experimentais, sendo três repetições no ponto central. As variáveis independentes avaliadas foram a concentração de etanol (A: 25, 50 e 75%), a temperatura (B: 30, 45 e 60 °C) e o tempo de ultrassom (C: 5, 10 e 15 min), codificadas nos níveis -1, 0 e +1, conforme apresentado na Tabela 1. As variáveis dependentes, também denominadas respostas, foram o teor de compostos fenólicos totais (CFT), o teor de flavonoides totais (FT) e o teor de antocianinas totais (AT).

Tabela 1 – Matriz do Planejamento Fatorial *Box-Behnken* com os níveis reais e codificados.

Ensaios	Etanol (%)	Temperatura (°C)	Tempo de Ultrassom (min)
1	25 (-1)	30 (-1)	10 (0)
2	75 (1)	30 (-1)	10 (0)
3	25 (-1)	60 (1)	10 (0)
4	75 (1)	60 (1)	10 (0)
5	25 (-1)	45 (0)	5 (-1)
6	75 (1)	45 (0)	5 (-1)
7	25 (-1)	45 (0)	15 (1)
8	75 (1)	45 (0)	15 (1)
9	50 (0)	30 (-1)	5 (-1)
10	50 (0)	60 (1)	5 (-1)
11	50 (0)	30 (-1)	15 (1)
12	50 (0)	60 (1)	15 (1)
13	50 (0)	45 (0)	10 (0)
14	50 (0)	45 (0)	10 (0)
15	50 (0)	45 (0)	10 (0)

Fonte: o autor (2026).

A qualidade do ajuste do modelo foi avaliada por meio do coeficiente de determinação (R^2) e do R^2 ajustado, além da análise de variância (ANOVA), considerando significativos os efeitos com $p < 0,05$. A adequação do modelo também foi verificada por meio da análise da falta de ajuste (*lack of fit*), sendo desejável que esta não seja significativa ($p > 0,05$), indicando que o modelo é adequado para descrever os dados experimentais.

A partir dos resultados obtidos pelo planejamento Box-Behnken e pela função desejabilidade, foram determinadas as condições ótimas de extração para cada resposta, resultando em quatro extratos otimizados: de Compostos Fenólicos (HCF), de Flavonoides (HF), de Antocianinas (HA) e a combinação das condições que melhor representam a maximização de todos os compostos bioativos de interesse em uma única condição de extração (HG). A atividade antioxidante dos extratos otimizados, foi avaliada pelos métodos DPPH, ABTS e FRAP.

4.5.1 Determinação de Compostos Fenólicos Totais (CFT)

O teor de compostos fenólicos totais foi determinado pelo método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu, conforme descrito por Swain e Hillis (1959), utilizando o ácido gálico como padrão de referência. Em tubos de ensaio, foram adicionados 1 mL dos extratos, 1 mL de etanol 95%, 5 mL de água destilada e 0,5 mL do reagente de Folin-Ciocalteu. Após a homogeneização, a mistura ficou em repouso por 5 minutos, seguida da adição de 1 mL de carbonato de sódio 5% e nova homogeneização.

As soluções foram incubadas à temperatura ambiente e protegidas da luz por 1 hora. A absorbância foi medida a 725 nm em um espectrofotômetro UV-VIS Shimadzu 1240. Uma amostra em branco foi preparada nas mesmas condições, substituindo-se o extrato por etanol. A curva analítica foi construída no intervalo de concentrações de 10 a 100 µg/mL de ácido gálico, com os resultados expressos em microgramas de GAE (equivalente ao ácido gálico) por mililitro de extrato (µg GAE /mL). Os resultados foram calculados utilizando a equação da reta da curva analítica de ácido gálico, e a amostra em branco foi utilizada para zerar o espectrofotômetro.

4.5.2 Determinação de flavonoides totais (FT)

O teor de flavonoides totais foi determinado pelo método espectrofotométrico descrito por Zhishen, Mengcheng e Jianming (1999), utilizando quercetina como padrão de referência. Em tubos de ensaio, foram adicionados 0,25 mL dos extratos, 1,25 mL de água destilada e 0,075 mL de nitrito de sódio 50 g/L. Após homogeneização, a mistura repousou por cinco minutos, seguida da adição de 0,15 mL de cloreto de alumínio 100 g/L e de um novo repouso por seis minutos.

Em seguida, foram adicionados 0,5 mL de NaOH 1 mol/L e mais 0,275 mL de água destilada. As medidas de absorbância foram realizadas a 510 nm em um espectrofotômetro UV-VIS Shimadzu 1240. Uma amostra em branco foi preparada nas mesmas condições, sem a adição do extrato. Os resultados foram calculados usando a equação da reta da curva analítica com intervalo de 50 a 1000 microgramas de quercetina por mL de extrato (μg quercetina/mL). A amostra em branco foi utilizada para zerar o espectrofotômetro.

4.5.3 Determinação de antocianinas totais (AT)

As antocianinas totais foram determinadas pelo método de pH diferencial de acordo com Tavakolifar *et al.* (2016). Resumidamente, o tampão pH = 1 foi preparado usando KCl 0,2 M e ácido clorídrico 0,2 N, e o tampão pH = 4,6 foi preparado com acetato de sódio 0,2 M e ácido acético 2,0 M. A cor dos pigmentos das antocianinas mudou com as mudanças de pH. A absorção das amostras foi medida por espectrofotômetro UV-VIS (Shimadzu 1240) em pH = 1 e pH = 4,5. A diferença na absorção é proporcional ao teor de antocianinas. As antocianinas totais foram calculadas usando as Equações 1 e 2:

$$\text{Teor de Antocianinas (mg/g Cd)} = \frac{A \cdot PM \cdot FD \cdot 30}{\epsilon \cdot L \cdot 1000} \quad (1)$$

$$A = (A_{519 \text{ nm}} - A_{700 \text{ nm}})_{\text{pH}=1} - (A_{519 \text{ nm}} - A_{700 \text{ nm}})_{\text{pH}=4,5} \quad (2)$$

Onde:

FD = Fator de diluição do extrato;

Cd= Cálice desidratado

L = Comprimento da cubeta (cm);

ϵ = Coeficiente de absorção de Cianidina - 3 - glicosídeo (26900 L / mol.cm);

PM = Peso molecular Cianidina - 3 - glicosídeo (449,2 g / mol);

A = absorbância.

4.6 DETERMINAÇÃO DE ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

4.6.1 Avaliação da atividade antioxidante pela inibição do radical livre (DPPH)

A capacidade de eliminação do radical DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil) foi avaliada utilizando o método descrito por Brand-Williams *et al.* (1995), com modificações. Em tubos de

ensaio, foram adicionados 150 μ L de cada extrato otimizado e 2.850 μ L da solução de DPPH na concentração de 1 mM. As soluções foram incubadas no escuro e à temperatura ambiente por 24 horas. A leitura das absorvâncias das amostras foi realizada em um espectrofotômetro UV-VIS Shimadzu 1240 a um comprimento de onda de 515 nm, sendo os resultados comparados com a curva de calibração de Trolox (TE) no intervalo de 2,5 a 100 μ M e os resultados foram expressos pela equação da reta da curva analítica de Trolox.

4.6.2 Avaliação da atividade antioxidante através do método de redução do ferro (FRAP)

A avaliação da atividade antioxidante pela capacidade de redução do ferro (FRAP - *Ferric Reducing Antioxidant Power*) foi realizada de acordo com Benzie e Strain (1996), com algumas modificações. Foram preparadas soluções de TPTZ (2,4,6-Tris(2-piridil)-s-triazina) a 0,08 mM em 0,05 mol/L HCl, cloreto férrico (3 mM FeCl₃ em 5 mM C₆H₈O₇), e Trolox a 1 mM. Em tubos de ensaio, foram adicionados 100 μ L dos extratos otimizados, 100 μ L da solução de cloreto férrico 3 mM e 1.800 μ L da solução de TPTZ 1 mM.

As amostras foram mantidas em banho-maria a 37 °C por 30 minutos e, em seguida, incubadas à temperatura ambiente e protegidas da luz por 10 minutos. Uma amostra em branco foi preparada nas mesmas condições de análise, contendo apenas cloreto férrico 3 mM e a solução de TPTZ. A leitura das absorvâncias das amostras foi realizada a 595 nm em um espectrofotômetro UV-VIS Shimadzu 1240. A curva analítica foi construída no intervalo de concentrações de 100 a 500 μ M de Trolox, e os resultados foram expressos pela equação da reta da curva analítica de Trolox.

4.6.3 Avaliação da atividade antioxidante pela inibição do radical livre (ABTS)

A análise de captura do radical ABTS (2,2'-azino-di-(3-etilbenzotiazolina ácido sulfônico)) foi realizada conforme o método proposto por Re *et al.* (1999), com modificações. Primeiramente, foram preparadas soluções estoque de ABTS 7 mM e persulfato de potássio 140 mM. A solução do radical ABTS foi obtida pela mistura de 5 mL de ABTS 7 mM com 88 μ L de persulfato de potássio 140 mM, incubada no escuro a 25 °C por 16 horas.

Após a incubação, 1 mL dessa solução foi diluído em etanol até alcançar uma absorvância de $0,70 \pm 0,05$ a 734 nm (UV-VIS Shimadzu 1240). Em ambiente escuro, foram adicionados 30 μ L de cada diluição dos extratos otimizados a tubos de ensaio contendo 3,0 mL da solução de ABTS, e a mistura foi homogeneizada em um agitador de tubos. A absorvância

foi medida a 734 nm, após 6 minutos de reação, usando etanol como branco, e comparada com a curva de calibração de Trolox (TE) de intervalo de 50 a 200 μM . Os resultados foram expressos pela equação da reta da curva analítica de Trolox.

4.7 ESTABILIDADE DAS ANTOCIANINAS NO EXTRATO OTIMIZADO

4.7.1 Efeito do pH na Atividade Antioxidante *in vitro*

O estudo da estabilidade das antocianinas em diferentes pHs foi realizado de acordo com o método proposto por Pedro, Granato e Rosso (2016) com adaptações. O extrato otimizado HG foi diluído com água deionizada para obtenção de uma absorbância próxima a 1.00 ($\lambda_{\text{máx}} = 525 \text{ nm}$) e acondicionado em uma cuba extratora (25 °C), protegido da luz e sob constante agitação.

Alíquotas de NaOH (5 mol/L) foram adicionadas ao HG diluído e o pH monitorado com pHmetro. Amostras do extrato em diferentes valores de pH foram retiradas para posterior análise. Após atingir o pH final (13), a titulação reversa foi realizada com alíquotas de ácido clorídrico (HCl 1,0 mol/L) até atingir o pH inicial da solução. A atividade antioxidante foi avaliada pelo método de captura do radical DPPH nos extratos em diferentes valores de pH.

4.7.2 Efeito da Luz

O efeito da luz na estabilidade das antocianinas presentes no extrato otimizado HG, foi avaliado de acordo com o método proposto por Escher *et al.* (2020). O HG diluído (1:1 v/v) em solução tampão com citrato de sódio e ácido cítrico 0,05 mol/L (pH 3,6) foi distribuído em tubos de ensaios devidamente lacrados e expostos à luz direta a um conjunto de seis lâmpadas fluorescentes brancas (20 W), acondicionados em uma câmara de madeira fechada com temperatura interna de $35 \pm 2 \text{ }^{\circ}\text{C}$. Para controle, tubos com HG foram armazenados sob abrigo da luz dentro da mesma caixa.

A absorbância máxima e os perfis espectrais foram obtidos em intervalos de 12 h, durante 4 dias (96 h). A avaliação da estabilidade foi realizada através da absorbância obtida no comprimento de onda máximo, proporção de pigmentos amarelos (PA), vermelhos (PV) e azuis (PZ), calculados conforme as Equações 3, 4 e 5, respectivamente:

$$\% PA = \left(\frac{Abs\ 420\ nm}{Abs\ 420\ nm + Abs\ 520\ nm + Abs\ 620\ nm} \right) \times 100 \quad (3)$$

$$\% PV = \left(\frac{Abs\ 520\ nm}{Abs\ 420\ nm + Abs\ 520\ nm + Abs\ 620\ nm} \right) \times 100 \quad (4)$$

$$\% PZ = \left(\frac{Abs\ 620\ nm}{Abs\ 420\ nm + Abs\ 520\ nm + Abs\ 620\ nm} \right) \times 100 \quad (5)$$

A partir das absorbâncias obtidas no comprimento de onda, a porcentagem de retenção de cor (%R), constante de velocidade de degradação das antocianinas (k) e tempo de meia-vida ($t_{1/2}$) foram calculados com as Equações 6, 7 e 8, respectivamente.

$$\%R = \frac{At}{A_0} \times 100 \quad (6)$$

$$\ln \frac{At}{A_0} = -k \times t \quad (7)$$

$$t_{1/2} = \frac{\ln 2}{k} \quad (8)$$

Onde:

A_t = absorbância no tempo t;

A_0 = absorbância inicial;

t = tempos determinados (h).

4.7.3 Efeito da Temperatura

Para avaliar o efeito da temperatura (60, 80 e 100 °C) sobre o extrato otimizado HG, o método proposto por Escher *et al.* (2020) foi utilizado com pequenas modificações. Para obtenção da absorbância próxima a 1.00 ($\lambda_{m\acute{a}x} = 525\ nm$), o HG foi diluído em solução tampão com citrato de sódio e ácido cítrico 0,05 mol/L (pH 3,6) e foi distribuído em tubos de ensaio, lacrados e imersos em banho termostatizado (60 e 80 °C) e banho de glicerina (100 °C), protegidos da luz.

Os perfis espectrais nas diferentes temperaturas foram registrados em intervalos de 30 min durante um período de 8 h. A partir das absorbâncias obtidas no comprimento de onda de 525 nm, a porcentagem de retenção de cor (%R), constante de velocidade de degradação das

antocianinas (k) e tempo de meia-vida ($t_{1/2}$) foram calculados com as equações 6, 7 e 8, respectivamente.

4.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram apresentados como média $\pm$ desvio padrão. As diferenças significativas foram avaliadas ao nível de 95% de intervalo de confiança por ANOVA, seguido do teste de diferença de médias de Fisher LSD ($p < 0,05$). Foi utilizado o software *Statistic 7.0*.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 PREPARAÇÃO DA AMOSTRA

Ao realizar o pré-tratamento das amostras, que consistiu no processo de separação dos cálices de hibisco, evidenciou-se uma grande quantidade de corpos estranhos e contaminantes na amostra (24,8%) que foram separados e retirados manualmente, assim como evidenciado por Misturini *et al.* (2020) em outros tipos de chás de plantas, como por exemplo: pedaços de galhos, fragmentos de pedras e outras partes não originárias do hibisco.

A presença desses materiais é comumente associada a práticas inadequadas de colheita, processamento, secagem e armazenamento, refletindo falhas no controle de qualidade e na rastreabilidade das matérias-primas. Durante a colheita e o beneficiamento, a ausência de etapas eficientes de seleção e limpeza favorece a incorporação e permanência de contaminantes físicos (Şentürk *et al.*, 2025).

5.2 COMPOSIÇÃO CENTESIMAL DE *Hibiscus sabdariffa*

Após a separação, trituração e o peneiramento, realizou-se a análise centesimal dos cálices de *Hibiscus sabdariffa*, conforme apresentado na Tabela 2. O baixo teor de umidade (12,39 g/ 100g) associado à reduzida atividade de água ($A_w = 0,539 \pm 0,001$) constitui o principal fator limitante para a proliferação de microrganismos, uma vez que valores de A_w inferiores a 0,60 limitam de forma significativa o desenvolvimento da maioria dos microrganismos deteriorantes e patogênicos (Prada-Ramírez *et al.*, 2024).

Tabela 2 – Composição dos cálices de *Hibiscus sabdariffa*

Parâmetros	Teores (g/100g cd)
Umidade	12,39 $\pm$ 0,11
Cinzas	11,11 $\pm$ 0,11
Proteínas	7,95 $\pm$ 0,18
Lipídios	0,87 $\pm$ 0,06
Carboidratos e Fibras Alimentares	80,07
Atividade de água	0,539 $\pm$ 0,001 *

Nota: Valores médios seguidos do desvio padrão; (* adimensional); cd: cálice desidratado.

Considerando que as amostras são de origem comercial, tais parâmetros assumem especial relevância, uma vez que estão diretamente relacionados à estabilidade microbiológica e à manutenção da qualidade do produto durante longos períodos de armazenamento. Adicionalmente, estudos recentes demonstram que produtos vegetais comercializados, como chás e infusões, podem apresentar diferentes níveis de contaminantes provenientes da cadeia produtiva, reforçando a importância do controle de qualidade e das condições de armazenamento para garantir a segurança do produto (Kaczyński *et al.*, 2024).

Valores de aproximadamente 0,87 g/100 g de lipídeos em cálices de *Hibiscus sabdariffa* são considerados baixos, porém compatíveis com a composição química natural dessa matriz vegetal. Estudos de composição centesimal demonstram que os cálices de hibisco apresentam reduzido conteúdo lipídico, geralmente inferior a 2%, devido à sua função fisiológica não oleaginosa (Balabare, 2021; Salami; Afolayan, 2021; Akther *et al.*, 2023).

Os métodos de secagem normalmente não exercem influência significativa sobre o teor total de lipídeos dos cálices, especialmente porque a quantidade lipídica inicial já é naturalmente baixa. Em processos convencionais de secagem, os principais compostos afetados tendem a ser antocianinas, compostos fenólicos e vitamina C, e não os lipídios totais (Salami; Afolayan, 2021; Ahmed *et al.*, 2023; Sanou *et al.*, 2022).

O alto teor de cinzas (11,11 g/100 g) também foi encontrado por Bedi, Bekele e Gule (2020), que também observaram alto teor de minerais na espécie, devido aos fatores de plantio e colheita do hibisco. Devido ao seu baixo teor proteico (7,95 g/100 g), Balabare (2021) reforça que o principal interesse tecnológico do cálice está associado aos compostos bioativos, especialmente as antocianinas.

Os carboidratos e fibras alimentares encontrados (80,07 g/100 g) são os maiores constituintes presentes nos cálices desidratados, e assim como Kokare *et al.* (2025), esses parâmetros juntos somam mais de 80% da constituição físico-química da planta, englobando açúcares, amido residual e, principalmente, polissacarídeos estruturais, como celulose, hemiceluloses e pectinas. A elevada participação dessa fração está diretamente relacionada à constituição da parede celular vegetal.

5.3 EFEITO PRÉVIO DO ULTRASSOM NA EXTRAÇÃO DE ANTOCIANINAS

Na Tabela 3, observa-se que a aplicação de ultrassom influenciou diretamente o rendimento de extração das antocianinas, sendo um dos principais focos de estudo. A amostra HS00 (sem tratamento ultrassônico) apresentou o menor teor de antocianinas ($1,64 \pm 0,01$ mg/g

cd), enquanto o tratamento com 10 minutos de ultrassom (HS10) apresentou o maior valor ($2,52 \pm 0,08$ mg/g cd), semelhante ao Ensaio 12 do planejamento experimental. Tal valor representa um incremento de aproximadamente 50% em relação ao controle (sem tratamento ultrassônico); o aumento está associado ao efeito cavitacional do ultrassom, que promove a ruptura da parede celular e a maior liberação dos pigmentos para o meio extrator (Chemat *et al.*, 2011).

Tabela 3 – Total de antocianinas nos cálices de *Hibiscus sabdariffa* pós-extração.

Amostra	Antocianinas Totais (mg ECG/g cd)
HS00	$1,64 \pm 0,01^c$
HS05	$2,22 \pm 0,24^{ab}$
HS10	$2,52 \pm 0,08^a$
HS15	$1,89 \pm 0,02^{bc}$

Nota: cd: cálice desidratado; ECG: Equivalente Cianidina-3-Glicosídeo. HS00: 0 minutos de ultrassom; HS05: 5 min de ultrassom; HS10: 10 min de ultrassom; HS15: 15 min de ultrassom; valores médios seguidos do desvio padrão. Letras minúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa. (Fischer LSD $p < 0,05$).

Por outro lado, a redução observada em 15 minutos de extração com ultrassom (HS15) ($1,89 \pm 0,02$ mg/g cd) pode ser atribuída à degradação física das antocianinas, devido à exposição excessiva ao tratamento com ultrassom, efeito também relatado por Sun *et al.* (2017). Pinela *et al.* (2019) destacam que tempos prolongados ou potências elevadas aumentam a temperatura local, destacam que tempos prolongados ou potências elevadas aumentam a temperatura local, o que pode degradar compostos sensíveis reduzindo o seu teor.

Os tempos de sonicação avaliados (0, 5, 10 e 15 minutos) foram selecionados com base no comportamento cinético característico da extração assistida por ultrassom, no qual o rendimento de compostos bioativos tende a aumentar progressivamente até atingir um ponto máximo, declinando a partir de então em função da cavitação provocada. A inclusão do tratamento de 15 minutos no delineamento, portanto, foi utilizada para mapear a faixa de 5 a 15 minutos como intervalo do planejamento Box-Behnken e garantiu a demonstração da queda pós-máximo, confirmando que o tempo ótimo de extração foi efetivamente alcançado e não subestimado (Devi; Das; Badwaik, 2024; Khan *et al.*, 2024; Linares; Rojas, 2022).

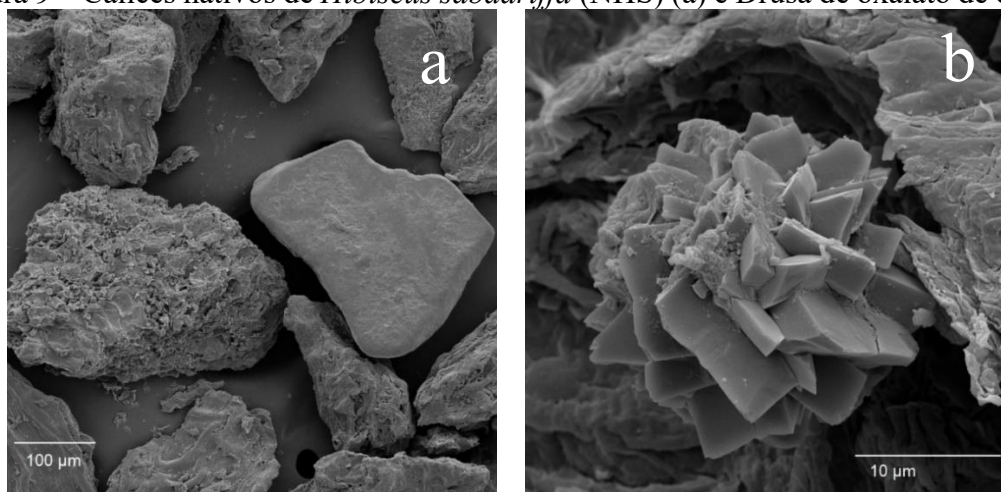
5.4 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV-FEG)

As micrografias dos cálices de hibisco, da amostra nativa de *Hibiscus sabdariffa* (NHS) antes das extrações e da drusa de oxalato de cálcio, proveniente do metabolismo da planta, estão

ilustradas nas Figuras 9a e 9b, respectivamente. Uma micrografia similar ao cálice sem extração (NHS) foi encontrada por Juhari, Martens e Petersen (2021), evidenciando que o tipo de secagem pode afetar a estrutura da planta, podendo facilitar a extração de compostos.

As drusas são compostas por oxalato de cálcio (CaOx), formadas a partir de múltiplos cristais que se espalham a partir de um núcleo central. Do ponto de vista funcional, pesquisas recentes elucidaram o papel fisiológico diversificado das drusas, destacando sua função na regulação do cálcio tecidual, na defesa contra herbivoria e nas potenciais contribuições para o sequestro de carbono e a ciclagem de nutrientes dos vegetais (Ensikat *et al.*, 2025; He *et al.*, 2024).

Figura 9 – Cálices nativos de *Hibiscus sabdariffa* (NHS) (a) e Drusa de oxalato de cálcio (b)



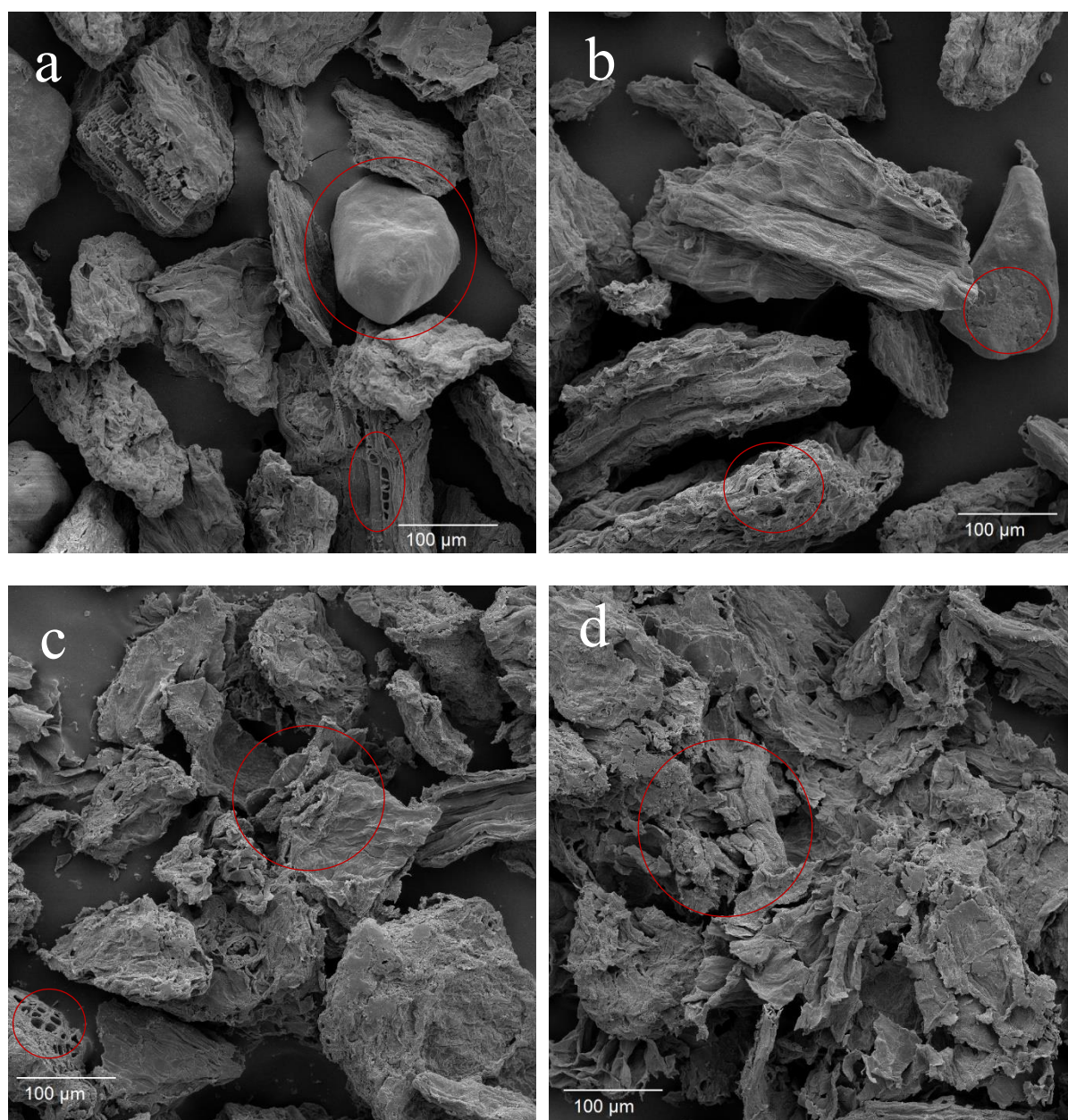
Nota: a: Ampliação de 450x; b: Ampliação de 8150x

Fonte: o autor (2026).

A presença de drusas nos tecidos vegetais pode exercer influência sobre os rendimentos obtidos, sobretudo em processos assistidos por ultrassom. Os cristais de oxalato de cálcio, ao serem fragmentados pela cavitação acústica, liberam íons Ca^{2+} no meio extrativo, o que pode promover a quelação ou coprecipitação de compostos fenólicos e flavonoides, reduzindo parcialmente sua disponibilidade na fase líquida (Nazir *et al.*, 2025; Volk *et al.*, 2002).

As micrografias pós-tratamentos (HS00; HS05; HS10 e HS15) ilustradas na Figura 10, 10a, 10b, 10c e 10d, respectivamente, evidenciam efeito de cavitação nas paredes celulares do vegetal, o que acabou ocasionando uma deterioração que se acentuou conforme o tempo de tratamento aumentava.

Figura 10 - Cálices de hibisco extração pós-extração assistida por ultrassom em diferentes tempos



Nota: Ampliação de 500x. Figuras 10a: HS00: 0 minutos de ultrassom; 10b: HS05: 5 minutos de ultrassom; 10c: HS10: 10 minutos de ultrassom; 10d: HS15: 15 minutos de ultrassom.
Fonte: o autor (2026).

Observou-se no cálice *in natura* (Figura 9a) e nos tempos iniciais de extração (Figura 10a e 10b) a presença de partículas arredondadas, de superfície lisa e sem aspecto celular, diferentes da drusa de oxalato de cálcio. Tais partículas apresentam morfologia típica de material amorfo orgânico, sendo compatíveis com aglomerados de substâncias extraídas juntas do cálice, possivelmente associados a ceras e lipídeos (Victório *et al.*, 2025).

A falta dessas partículas em tempos mais longos de extração pode ser devida a sua dispersão e/ou solubilização no extrato ao longo do processo. Na Figura 10b, é possível verificar

o início do desaparecimento desses compostos, pois a sua superfície começa a apresentar sinais de deterioração (Chemat; Zill-e-Huma; Khan, 2011).

As micrografias confirmam os achados para os resultados dos teores de antocianinas durante diferentes tempos de ultrassom. A amostra HS00 apresenta partículas com superfícies íntegras, enquanto HS05 e HS10 mostram fragmentação acentuada e maior porosidade, características que favorecem a extração de compostos bioativos (Chemat; Zill-e-Huma; Khan, 2011; Martínez-Zamora *et al.*, 2024).

Na Figura 10d, observam-se colapso estrutural e aglomeração de partículas, possivelmente aprisionando parte das antocianinas ou degradando as suas estruturas, o que explica o menor rendimento final. Resultados semelhantes foram observados por Sanou *et al.* (2023) ao aplicar ultrassom em hibisco, e por Pinela *et al.* (2019) na otimização da extração de antocianinas por metodologia de superfície de resposta.

Nas Figuras 10a e 10c, observam-se cavidades alongadas correspondentes aos lúmens celulares, ou seja, vestígios de células vegetais resultantes do extravasamento do conteúdo celular e da preservação predominante das paredes celulares após a extração dos compostos bioativos e do preparo da amostra para microscopia eletrônica de varredura. Esses lúmens evidenciam o efeito do ultrassom sobre a matriz vegetal, indicando que houve uma maior exposição do conteúdo intracelular (Kumar, Srivastav e Sharanagat, 2021; Xue e Li, 2023).

5.5 DETERMINAÇÃO DOS EXTRATOS OTIMIZADOS DE HIBISCO OTIMIZAÇÃO DA EXTRAÇÃO HIDROALCOÓLICA DE HIBISCO

Após o planejamento experimental e a extração assistida por ultrassom em cada um dos fatores independentes, foram realizadas as análises para cada uma das classes de compostos bioativos, obtendo-se os resultados demonstrados na Tabela 4.

A partir dos resultados obtidos, nota-se que os teores de compostos fenólicos tiveram uma ampla faixa de variação (14,785 a 21,000 mg EAG/g cd), sendo o maior teor observado no ensaio 12 (21,000 mg EAG/g cd), sugerindo uma condição próxima do ótimo experimental. O parâmetro de tempo de ultrassom diretamente a solubilização e a difusão dos compostos no meio, devido à intensificação do efeito de cavitação gerado, promovendo a ruptura celular e consequente aumento da liberação de metabólitos secundários (Mushtaq *et al.*, 2025; Kumar *et al.*, 2020).

Tabela 4 – Quantificação de Compostos Fenólicos, Flavonoides e Antocianinas de extratos de cálices de *Hibiscus sabdariffa* de acordo com o planejamento experimental Box Behnken.

Ensaio	Variáveis (X ₁ : X ₂ : X ₃)	Compostos Fenólicos (mg EAG/g cd)	Flavonoides (mg EAG/g cd)	Antocianinas (mg ECG/g cd)
1	25: 30: 10	16,174 ± 0,401 ^{efg}	2,969 ± 0,049 ^{fgh}	4,236 ± 0,107 ^{ab}
2	75: 30: 10	14,785 ± 0,191 ⁱ	2,900 ± 0,251 ^{fgh}	2,689 ± 0,152 ^d
3	25: 60: 10	17,463 ± 0,201 ^d	3,150 ± 0,347 ^{efg}	4,153 ± 0,201 ^{ab}
4	75: 60: 10	15,568 ± 0,201 ^{fghi}	3,042 ± 0,034 ^{efgh}	2,809 ± 0,088 ^d
5	25: 45: 05	16,578 ± 0,088 ^{def}	2,932 ± 0,110 ^{fgh}	4,232 ± 0,184 ^{ab}
6	75: 45: 05	14,936 ± 0,444 ^{hi}	2,740 ± 0,078 ^h	2,641 ± 0,028 ^d
7	25: 45: 15	15,997 ± 1,035 ^{efgh}	3,229 ± 0,109 ^{def}	4,067 ± 0,192 ^b
8	75: 45: 15	15,062 ± 0,463 ^{ghi}	2,838 ± 0,121 ^{gh}	2,682 ± 0,046 ^d
9	50: 30: 05	16,856 ± 0,422 ^{de}	3,346 ± 0,074 ^{de}	3,692 ± 0,020 ^c
10	50: 60: 05	19,509 ± 0,152 ^b	3,822 ± 0,065 ^{ab}	3,744 ± 0,078 ^c
11	50: 30: 15	19,206 ± 0,152 ^{bc}	3,484 ± 0,028 ^{cd}	3,536 ± 0,032 ^c
12	50: 60: 15	21,000 ± 2,125 ^a	4,133 ± 0,232 ^a	4,341 ± 0,178 ^a
13	50: 45: 10	18,650 ± 0,232 ^c	4,046 ± 0,098 ^{bc}	3,839 ± 0,092 ^b
14	50: 45: 10	18,827 ± 0,497 ^c	3,436 ± 0,142 ^{bc}	4,197 ± 0,092 ^b
15	50: 45: 10	18,145 ± 0,461 ^c	3,713 ± 0,191 ^{bc}	4,137 ± 0,054 ^b

Nota: EAG: Equivalente Ácido Gálico; ECG: Equivalente Cianidina-3-glicosídeo; cd: cálice desidratado; X₁: %; X₂: Temperatura (°C); X₃: Tempo de ultrassom (min); Valores médios seguidos do desvio padrão. Letras minúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa. (Fischer LSD p < 0,5).

Fonte: o autor (2026).

Os maiores valores observados para flavonoides (4,133 mg EAG/g cd, ensaio 12) e antocianinas (4,341 mg ECG/g cd, ensaio 12) sugerem uma condição próxima do ótimo experimental, o que é consistente com a literatura, onde extrações assistidas por ultrassom frequentemente resultam em maiores rendimentos quando comparadas a métodos convencionais, devido ao aumento da área de contato sólido-líquido e à redução da resistência à transferência de massa (Pinela *et al.*, 2019).

Paraíso *et al.* (2019), que utilizaram o mesmo planejamento experimental com variáveis de tempo de sonificação, concentração de solvente e temperatura, reforçam que a concentração do solvente exerce papel central na eficiência de extração dos compostos bioativos. Algo que corrobora os dados encontrados demonstrados na Tabela 5. Nela pode-se notar que a composição do solvente (variável X₁) foi significativa para todas as respostas, demonstrando

que a composição do solvente é um dos principais fatores para a extração ultrassônica (Villalobos-Vega *et al.*, 2023).

Tabela 5 - Coeficientes de regressão significativos dos modelos ajustados para as variáveis dependentes.

Variável dependente	Fatores	Coef. de regressão	Erro padrão	t-valor	p-valor	-95% de confiança	+95% de confiança
CFT (mg EAG/g cd)	Constante	16,928	0,113	149,371	<0,001	16,697	17,159
	X ₁ (L)	-0,733	0,139	-5,279	<0,001	-1,015	-0,450
	X ₁ (Q)	1,511	0,102	14,788	<0,001	1,303	1,719
	X ₂ (L)	0,815	0,139	5,870	<0,001	0,532	1,098
	X ₂ (Q)	-0,239	0,102	-2,339	0,026	-0,447	-0,031
	X ₃ (L)	0,423	0,139	3,049	0,005	0,141	0,706
	R ² ajustado	0,8247					
	p <i>lack-of-fit</i>	0,0063					
FT (mg EAG/mL)	Constante	3,215	0,035	92,859	<0,001	3,145	3,285
	X ₁ (L)	-0,095	0,042	-2,241	0,031	-0,181	-0,009
	X ₁ (Q)	0,369	0,031	11,838	<0,001	0,306	0,433
	X ₂ (L)	0,181	0,042	4,270	<0,001	0,095	0,267
	X ₃ (L)	0,105	0,042	2,486	0,017	0,020	0,191
	R ² ajustado	0,7897					
	p <i>lack-of-fit</i>	0,2150					
AT (mg ECG/mL)	Constante	3,568	0,024	150,148	<0,001	3,520	3,617
	X ₁ (L)	-0,733	0,029	-25,195	<0,001	-0,793	-0,674
	X ₁ (Q)	0,252	0,021	11,769	<0,001	0,208	0,296
	X ₂ (L)	0,112	0,029	3,834	<0,001	0,052	0,171
	X ₃ (Q)	0,074	0,021	3,451	0,002	0,030	0,118
	X ₂ × X ₃	0,188	0,041	4,574	<0,001	0,104	0,272
	R ² ajustado	0,927					
	p <i>lack-of-fit</i>	0,0203					

Nota: CFT: compostos fenólicos totais; FT: flavonoides totais; AT: antocianinas totais; X₁: solvente (%v/v); X₂: temperatura (°C); X₃: tempo de ultrassom (min); L = efeito linear; Q = efeito quadrático; EAG: Equivalente ácido gálico; ECG: Equivalente Cianidina-3-Glicosídeo; cd: cálice desidratado. Apenas os coeficientes com p < 0,05 foram incluídos.

Os modelos ajustados para as três respostas avaliadas, CFT, FT e AT, apresentaram coeficientes de determinação satisfatórios, com R² ajustado de 0,8247, 0,7897 e 0,9270,

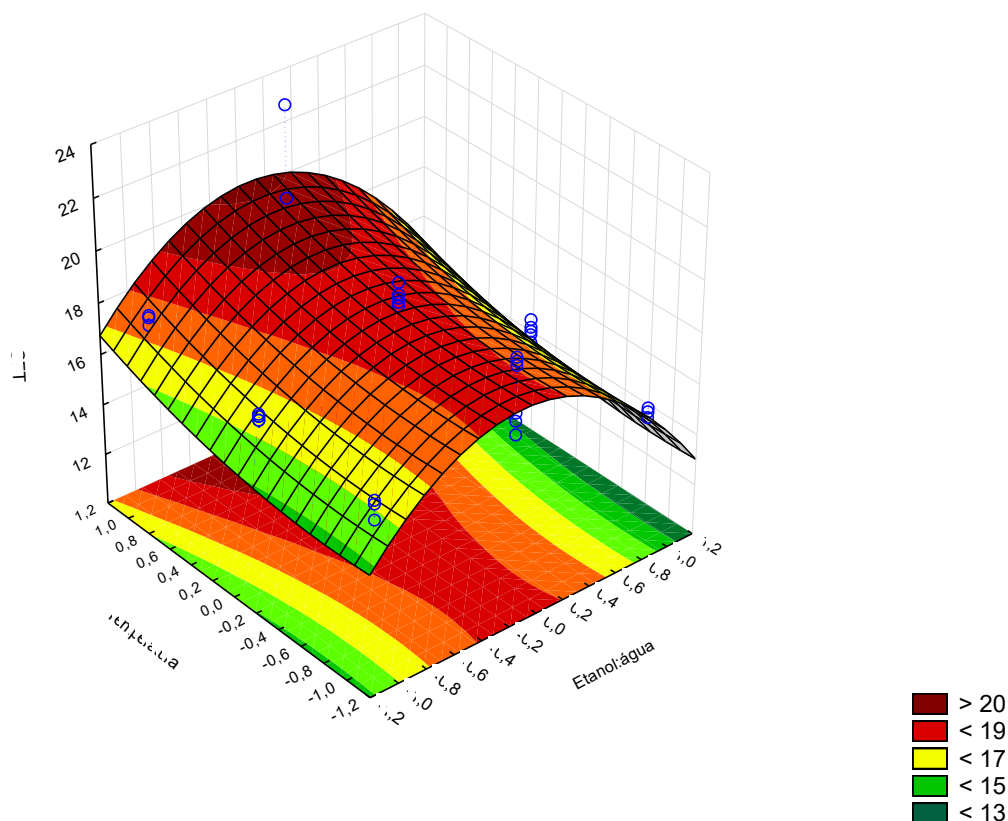
respectivamente, indicando que os modelos foram capazes de explicar de forma adequada a variação dos dados experimentais dentro da faixa estudada. O modelo ajustado para os flavonoides totais não apresentou falta de ajuste significativa ($p = 0,2150$), confirmando que o modelo polinomial de segunda ordem foi adequado para descrever o comportamento dessa resposta (Elgudayem *et al.*, 2023; Bezerra *et al.*, 2008)

Para os compostos fenólicos totais e as antocianinas totais, os modelos apresentaram falta de ajuste significativa ($p < 0,05$), o que indica que podem existir componentes da variação não totalmente encontrados pelo modelo utilizado. Contudo, considerando que os coeficientes de determinação ajustados foram satisfatórios e que os modelos apresentaram efeitos altamente significativos e coerentes, eles foram mantidos para fins de otimização das condições de extração, conforme adotado em estudos similares que utilizaram o mesmo planejamento (Paraíso *et al.*, 2019; Kourelatou *et al.*, 2024).

Para os compostos fenólicos totais, a variável de maior impacto sobre a resposta foi a concentração de etanol (X_1), cujo efeito quadrático apresentou o maior t-valor entre todos os termos do modelo ($t = 14,788$; $p < 0,001$), indicando que essa variável foi determinante para o teor de CFT extraído. O efeito quadrático positivo de X_1 (coef. = 1,511) evidencia uma curvatura acentuada na superfície de resposta, existindo um ponto de máximo em concentrações intermediárias de etanol, conforme visualizado na Figura 11. O efeito linear de X_1 foi negativo (coef. = $-0,733$), indicando que concentrações alcoólicas acima do ponto ótimo reduzem o teor de CFT, o que pode ser atribuído à diminuição da polaridade do solvente em altas concentrações de etanol, prejudicando a solubilização dos compostos fenólicos de caráter mais polar (Cheaib *et al.*, 2018; Xiang *et al.*, 2024).

Resultado semelhante foi observado por Paraíso *et al.* (2019), que ao otimizar a extração assistida por ultrassom de *Hibiscus sabdariffa* utilizando o planejamento Box-Behnken, verificaram que concentrações intermediárias de etanol resultaram nos maiores teores de compostos fenólicos totais. Adicionalmente, Inthachat *et al.* (2023) reportaram comportamento parecido ao otimizar a extração de compostos fenólicos de *Citrus maxima*, identificando 50% de etanol como concentração ótima para a maximização do teor de compostos fenólicos totais, confirmando a existência de um ponto de máximo em concentrações intermediárias de solvente alcoólico.

Figura 11 - Superfície de resposta e gráfico de contorno para o efeito da proporção etanol:água e da temperatura sobre o teor de CFT.



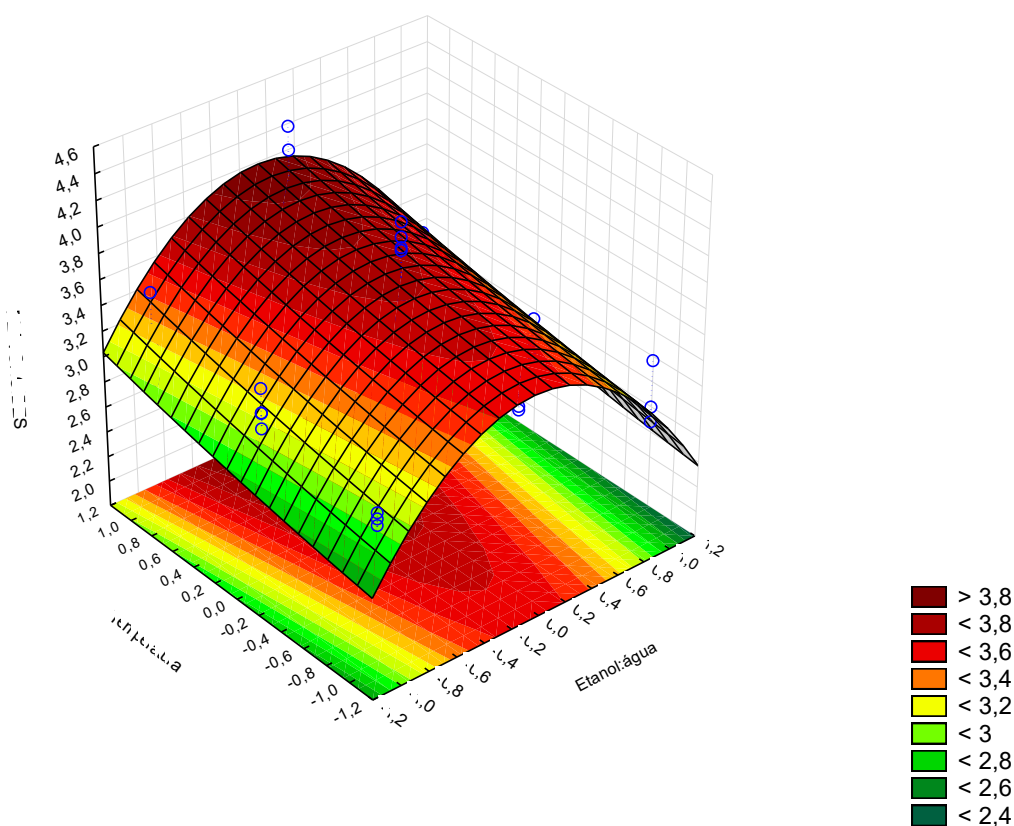
Fonte: o autor (2026).

O efeito linear de X_2 (temperatura) foi positivo e significativo (coef. = 0,815; $p < 0,001$), demonstrando que temperaturas mais elevadas favorecem a extração de CFT, possivelmente pela maior solubilidade dos compostos e pela maior eficiência de transferência de massa proporcionada pelo ultrassom (Shen *et al.*, 2023; Cheaib *et al.*, 2018). O efeito quadrático de X_2 foi negativo e significativo (coef. = -0,239; $p = 0,026$), indicando que temperaturas muito altas podem levar à degradação térmica de alguns compostos fenólicos, confirmando a existência de um ponto ótimo de temperatura dentro da faixa estudada. O efeito linear do tempo de ultrassom (X_3) também foi positivo e significativo (coef. = 0,423; $p = 0,005$), colaborando com o fato de que tempos mais prolongados de sonificação favorecem a ruptura celular e a liberação dos compostos presentes na matriz vegetal dos cálices de *Hibiscus sabdariffa* (Siddiqui *et al.*, 2023; Elgudayem *et al.*, 2023).

Para os flavonoides totais, a concentração de etanol (X_1) também foi a variável de maior impacto, com o efeito quadrático apresentando o maior t-valor do modelo ($t = 11,838$; $p < 0,001$), evidenciando novamente uma curvatura acentuada na resposta com um ponto de máximo em concentrações intermediárias de etanol, conforme demonstrado na Figura 12. O

efeito linear de X_1 foi negativo (coef. = $-0,095$), indicando que concentrações elevadas de etanol tendem a reduzir o teor de flavonoides extraídos, ainda que de forma menos expressiva do que observado para o CFT. Esse comportamento está de acordo com o reportado por Inthachat *et al.* (2023) e Cheaib *et al.* (2018), que verificaram que concentrações alcoólicas acima do ponto ótimo diminuem a extração de flavonoides por reduzir a polaridade do solvente, diminuindo a solubilidade de compostos polares.

Figura 12 - Superfície de resposta e gráfico de contorno para o efeito da concentração de etanol (X_1) e da temperatura (X_2) sobre FT



Fonte: o autor (2026).

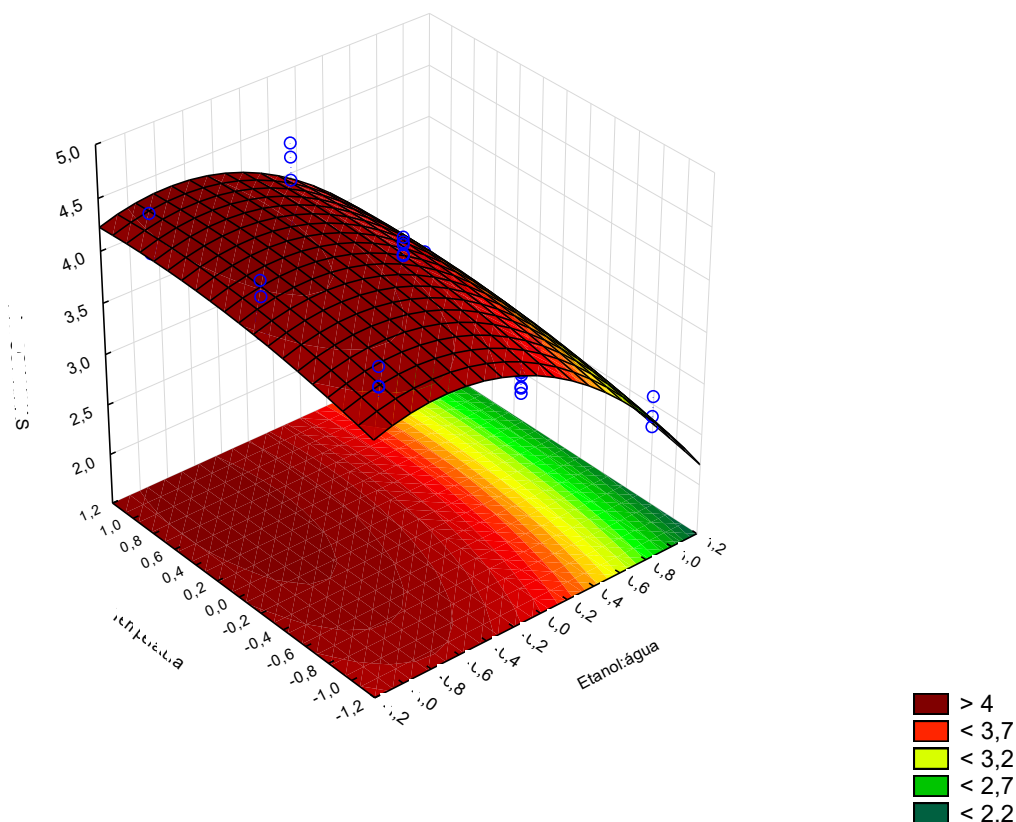
O efeito linear de X_2 foi positivo e significativo (coef. = $0,181$; $p < 0,001$), confirmando que temperaturas mais elevadas favorecem a extração de flavonoides dos cálices de hibisco, possivelmente pela maior mobilidade molecular e maior eficiência de transferência de massa em temperaturas próximas a $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ (Shen *et al.*, 2023; Siddiqui *et al.*, 2023). O efeito linear de X_3 foi positivo e significativo (coef. = $0,105$; $p = 0,017$), indicando que o aumento do tempo de sonificação contribui positivamente para o teor de FT, diretamente ligado com o comportamento observado para o CFT e com os resultados reportados por Nhon *et al.* (2022) e

Elgudayem *et al.* (2023), que verificaram que o tempo de sonificação exerce influência positiva sobre a extração de compostos fenólicos e flavonoides em diferentes matrizes vegetais.

O modelo ajustado para as AT apresentou o melhor ajuste entre as três respostas, com R^2 ajustado de 0,9270, e a concentração de etanol (X_1) foi novamente a variável de maior impacto, com o efeito linear apresentando o maior t-valor absoluto de todo o estudo ($t = -25,195$; $p < 0,001$). O coeficiente linear de X_1 foi fortemente negativo (coef. = $-0,733$), indicando que o aumento da concentração de etanol exerce um efeito negativo pronunciado sobre o teor de AT, conforme visualizado na Figura 13.

Esse comportamento está diretamente relacionado à natureza polar das antocianinas, que possuem maior afinidade por solventes aquosos ou com baixa concentração alcoólica, sendo a presença de água no sistema essencial para potencializar a sua extração (Nhon *et al.*, 2022; Bakar *et al.*, 2023).

Figura 13 – Superfície de resposta e gráfico de contorno para o efeito da concentração de etanol (X_1) e da temperatura (X_2) sobre AT.



Fonte: o autor (2026).

Resultado semelhante foi reportado por Paraíso *et al.* (2019), que ao otimizar a EAU de *Hibiscus sabdariffa* verificaram que a condição de 25% de etanol resultou nos maiores teores de antocianinas, confirmando que concentrações alcoólicas mais baixas favorecem a extração

desse grupo de compostos. Ainda, Xiang *et al.* (2024) verificaram que o teor de antocianinas totais atingiu seu valor máximo em baixas concentrações de etanol, de acordo com o efeito negativo observado para a variável X_1 no presente estudo.

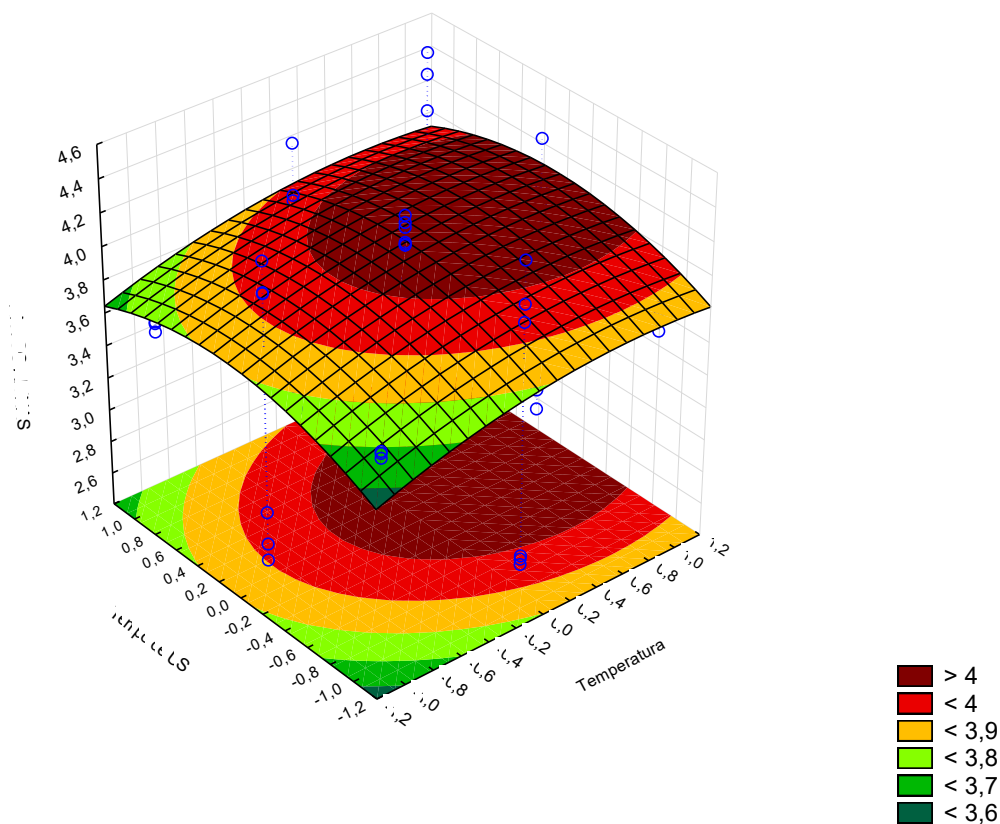
O efeito quadrático de X_1 foi positivo (coef. = 0,252; $p < 0,001$), indicando a presença de curvatura na resposta, com a existência de um ponto de mínimo em concentrações intermediárias de etanol. O efeito linear de X_2 foi positivo e significativo (coef. = 0,112; $p < 0,001$), confirmando que temperaturas mais elevadas favorecem a extração de antocianinas dos cálices de *Hibiscus sabdariffa* (Siddiqui *et al.*, 2023; Shen *et al.*, 2023).

O efeito quadrático de X_3 foi positivo e significativo (coef. = 0,074; $p = 0,002$), indicando que tempos de sonificação mais prolongados, dentro da faixa estudada, contribuem positivamente para a extração de antocianinas. A interação entre X_2 e X_3 foi positiva e altamente significativa (coef. = 0,188; $p < 0,001$), indicando que o efeito do tempo de ultrassom sobre a extração de antocianinas é potencializado em temperaturas mais elevadas, atuando de forma sinérgica na maximização da quantidade extraída, conforme demonstrado na Figura 14.

Esse comportamento sinérgico entre temperatura e tempo de sonificação foi igualmente reportado por Shen *et al.* (2023) e Nhon *et al.* (2022), que relataram que o ultrassom combina simultaneamente o efeito térmico, mecânico e de cavitação, sendo a sua eficiência potencializada pela combinação de temperatura e tempo adequados.

De forma geral, a concentração de etanol (X_1) foi a variável independente de maior impacto sobre as três respostas avaliadas, em concordância com o reportado por Cheaib *et al.* (2018), Paraíso *et al.* (2019) e Villalobos-Vega *et al.* (2023), que identificaram a concentração do solvente como o fator determinante para a extração de compostos bioativos em diferentes matrizes vegetais. Esses resultados reforçam a importância da escolha adequada da concentração de solvente na extração assistida por ultrassom de compostos bioativos de matrizes vegetais (Elgudayem *et al.*, 2023; Inthachat *et al.*, 2023).

Figura 14 – Superfície de resposta e gráfico de contorno para o efeito da temperatura (X_2) e do tempo de ultrassom (X_3) sobre AT



Fonte: o autor (2026).

Os valores preditos, experimentais e os intervalos de confiança obtidos para cada resposta, bem como para a desejabilidade global (CFT, FT e AT simultaneamente), são apresentados nas Tabelas 6 e 7, permitindo avaliar a precisão do modelo e a eficiência das condições otimizadas.

Tabela 6 - Comparação entre valores preditos e experimentais nos extratos otimizados de compostos fenólicos (HCF), flavonoides (HF) e antocianinas (HA) de *Hibiscus sabdariffa* considerando as respostas individuais

Variável dependente	Valores preditos	IC – 95%	IC + 95%	Valores experimentais	Erro Relativo (%)
CFT (mg EAG/g cd)	20,42	19,86	20,99	$19,98 \pm 0,26$	2,20
FT (mg EAG/mL)	3,99	3,83	4,14	$3,83 \pm 0,13$	4,18
AT (mg ECG/mL)	4,38	4,25	4,51	$4,46 \pm 0,14$	1,79

Nota: Resultados experimentais individuais expressos em média $\pm$ desvio padrão; FT: flavonoides totais; CFT: compostos fenólicos totais; AT: antocianinas totais; cd: cálice desidratado; EAG: Equivalente Ácido Gálico; ECG: Equivalente Cianidina-3-glicosídeo; IC: intervalo de confiança.

Fonte: o autor (2026).

Tabela 7 - Comparação entre valores preditos e experimentais no extrato otimizado combinado (HG) de *Hibiscus sabdariffa* considerando as respostas globais

Variável dependente	Valores preditos	IC – 95%	IC + 95%	Valores experimentais	Erro Relativo (%)
CFT (mg EAG/g cd)	20,07	19,48	20,67	19,74 ± 0,22	1,67
FT (mg EAG/mL)	3,96	3,53	4,39	3,62 ± 0,10	9,39
AT (mg ECG/mL)	4,30	4,17	4,42	4,39 ± 0,16	2,05

Nota: Resultados experimentais individuais expressos em média ± desvio padrão. FT: flavonoides totais; CFT: compostos fenólicos totais; AT: antocianinas totais; cd: cálice desidratado; EAG: Equivalente Ácido Gálico; ECG: Equivalente Cianidina-3-glicosídeo; IC: intervalo de confiança.

Fonte: o autor (2026).

A otimização das condições de extração foi realizada por meio da função de desejabilidade, mostrando a distribuição dos principais grupos de compostos bioativos em extratos de *Hibiscus sabdariffa* obtidos por diferentes condições otimizadas de extração assistida por ultrassom. As condições ótimas são mostradas na Tabela 8.

Tabela 8 – Condições ótimas para extração de cada um dos extratos otimizados de *Hibiscus sabdariffa*

Amostra	% Etanol	Temperatura (°C)	Tempo de Ultrassom (min)
HCF	46,67	60	15
HF	48,33	60	14,5
HA	34,17	60	13,3
HG	44,17	60	13,83

Nota: HCF: extrato otimizado de compostos fenólicos; HF: extrato otimizado de flavonoides; HA: extrato otimizado de antocianinas; HG: extrato otimizado global combinado.

Fonte: o autor (2026).

Para CFT, a desejabilidade individual foi de 0,6645, com valor predito de 20,42 mg EAG/g cd, nas condições de 46,67% de etanol, 60 °C e 15 minutos de ultrassom. Para os FT, a desejabilidade individual foi de 0,7870, com valor predito de 3,99 mg EAG/mL, nas condições de 48,33% de etanol, 60 °C e 14,5 minutos de ultrassom. Para as AT, a maior desejabilidade individual foi obtida (0,9383), com valor predito de 4,38 mg ECG/mL, nas condições de 34,17% de etanol, 60 °C e 13,3 minutos de ultrassom. A temperatura de 60 °C foi a condição ótima para as três respostas individuais, corroborando os efeitos positivos da temperatura sobre a extração de compostos bioativos por ultrassom observados nos coeficientes de regressão dos modelos (Shen *et al.*, 2023; Siddiqui *et al.*, 2023).

Considerando as três respostas simultaneamente, a função de desejabilidade global resultou em 0,7455, com condições ótimas de extração de 44,17% de etanol, 60 °C e 13,83

minutos de ultrassom e valores preditos de 20,07 mg EAG/g cd para CFT, 3,96 mg EAG/mL para FT e 4,30 mg ECG/mL para AT. Esses valores preditos foram ligeiramente inferiores aos obtidos pelas desejabilidades individuais, o que é esperado, uma vez que a função desejabilidade global busca um equilíbrio entre todas as respostas, não priorizando nenhuma delas de forma isolada (Kourelatou *et al.*, 2024; Paraíso *et al.*, 2019; Villalobos-Vega *et al.*, 2023).

O extrato HCF apresentou teor de compostos fenólicos totais de $19,979 \pm 0,263$ mg EAG/g cd, valor semelhante ao obtido para a amostra HG. Embora esses valores indiquem uma quantidade relevante de compostos fenólicos, eles podem ser inferiores aos reportados em alguns estudos. Uma faixa de 24,32 à 28,40 (mg EAG/g cd) de CFT foi observada em extratos de cálices de hibisco obtidos por diferentes métodos de extração, comprovando que variações metodológicas podem influenciar significativamente a quantificação desses compostos (Cira-Chavez *et al.*, 2025; Yagi *et al.*, 2023).

Além disso, a literatura demonstra que parâmetros de extração exercem forte influência sobre o rendimento de compostos fenólicos. Em estudos que realizaram otimização de extração, os valores de fenólicos totais podem variar amplamente, evidenciando que condições experimentais mais intensas ou solventes de maior polaridade podem aumentar a recuperação desses compostos (Sanou *et al.*, 2023; Villalobos-Vega *et al.*, 2023).

Esse comportamento indica que a condição combinada de extração (HG) foi capaz de manter a eficiência de recuperação dos fenólicos totais, mesmo quando o processo não foi direcionado exclusivamente para essa classe de compostos. Esse resultado é tecnicamente relevante, pois demonstra a possibilidade de obtenção de um extrato mais amplo, com elevado conteúdo fenólico, sem perdas significativas em relação à condição específica de maximização (HCF) (Sanou *et al.*, 2023; Larasati *et al.*, 2023).

Essa observação está de acordo com estudos que enfatizam que técnicas otimizadas, como extração assistida por energia (ultrassom e micro-ondas) ou métodos verdes (enzimáticos ou por solventes eutéticos profundos), podem maximizar a recuperação de fenólicos totais em diversas matrizes vegetais, incluindo cálices de hibisco, com obtenção de perfis ricos em moléculas bioativas quando as variáveis de processo são cuidadosamente ajustadas (Cira-chavez *et al.*, 2025).

Para os flavonoides, o maior teor foi observado no extrato HF ($3,834 \pm 0,132$ mg EAG/g cd), enquanto a amostra HG apresentou valor ligeiramente inferior ($3,621 \pm 0,097$ mg EAG/g cd). Esse resultado indica que, embora a condição HF seja mais específica para a extração de

flavonoides, a condição combinada também se mostra eficiente, mantendo rendimento equivalente dentro do nível de significância adotado (Hao *et al.*, 2023; Teixeira *et al.*, 2024).

Comportamento semelhante foi observado para as antocianinas. O extrato HA apresentou teor de $4,459 \pm 0,142$ mg ECG/g cd, enquanto o extrato HG apresentou $4,388 \pm 0,159$ mg ECG/g cd, igualmente sem diferença estatística significativa ($p > 0,05$). Esse resultado evidencia que a estratégia de extração simultânea não compromete a recuperação das antocianinas, compostos reconhecidamente sensíveis às condições de processo, como temperatura, tempo e intensidade de ultrassom (Kaufmann *et al.*, 2025).

De modo geral, os resultados demonstram que a condição HG possibilita a obtenção de um extrato com elevado conteúdo de fenólicos totais, flavonoides e antocianinas, com rendimentos equivalentes àqueles obtidos nas condições individuais de otimização. Esse comportamento é importante, pois reduz a necessidade de múltiplos processos de extração, o que implica menor consumo de solvente, menor tempo de processamento e maior viabilidade de aplicação em escala (Paraíso *et al.*, 2019; Park *et al.*, 2022).

Além disso, considerando a matriz vegetal do hibisco, rica em polifenóis estruturalmente distintos e fortemente associados à parede celular, a eficiência observada para a condição combinada sugere que os parâmetros operacionais adotados favoreceram simultaneamente os mecanismos de cavitação, ruptura celular e difusão de massa, aspectos fundamentais nos processos de extração assistida por ultrassom. A elevada recuperação conjunta de flavonoides e antocianinas também indica que as condições empregadas foram suficientemente brandas para evitar degradação térmica e oxidativa desses compostos, especialmente das antocianinas, reconhecidas por sua instabilidade frente a variações de pH, temperatura e exposição prolongada à energia (Zhang *et al.*, 2023).

5.6 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

O potencial antioxidante dos diferentes extratos otimizados foi avaliado pelos métodos de captura de radical DPPH, ABTS e pela capacidade de redução de íons de ferro (FRAP) (Tabela 9).

Os resultados de FRAP indicam que a amostra HF apresentou os maiores valores de atividade antioxidante ($4386,784 \pm 120,479$ μ M), seguida por HA e HCF. Porém, HG apresentou os menores valores em todos os métodos, podendo indicar que condições de processamento influenciaram diretamente a quelatação de íons metálicos livres e a captura de radicais livres (Villa-Lobos *et al.*, 2023; Yagi *et al.*, 2023).

Tabela 9 – Atividade antioxidante dos extratos otimizados de hibisco.

Amostra	DPPH (μM)	ABTS(μM)	FRAP (μM)
HCF	2408,414 $\pm$ 44,294 ^a	2722,132 $\pm$ 16,520 ^b	3528,281 $\pm$ 76,092 ^c
HF	2484,435 $\pm$ 56,992 ^a	2814,059 $\pm$ 34,765 ^a	4386,784 $\pm$ 120,479 ^a
HA	2493,512 $\pm$ 51,210 ^a	2731,145 $\pm$ 16,222 ^b	4004,210 $\pm$ 48,525 ^b
HG	2137,237 $\pm$ 27,513 ^b	2363,439 $\pm$ 32,892 ^c	2631,338 $\pm$ 57,682 ^d

Nota: Valores médios expressos seguidos do desvio padrão. Letras minúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa (LSD $p < 0,05$).

Além disso, a redução observada na amostra HG pode estar associada à degradação dos compostos bioativos nas condições mais intensas do ultrassom. Estudos indicam que, embora a extração aumente a liberação dos compostos bioativos, condições excessivas podem reduzir a atividade antioxidante devido à degradação estrutural da célula e da antocianina, assim como visto nas Figuras 11c e 11d, desses compostos, afetando diretamente os resultados dos antioxidantes (Bevan *et al.*, 2023; Debnath *et al.*, 2024).

Observa-se ainda que os valores de FRAP foram superiores aos de DPPH e ABTS para todas as amostras, especialmente para HF, indicando maior capacidade redutora dos extratos. Esse comportamento é frequentemente encontrado para hibisco, uma vez que flavonoides possuem alta eficiência na redução de íons férricos (Borrás-Linares *et al.*, 2023). De acordo com Hoang *et al.* (2023), os extratos de hibisco apresentam forte atividade redutora metálica, frequentemente superior aos demais métodos antioxidantes.

Os resultados de DPPH mostraram que não houve diferença entre os ensaios HCF, HF e HA sendo maiores que os teores de HG. Isso pode ser devido à maximização de todos os compostos presentes, levando à perda de algum componente que possa ser mais reativo com o radical DPPH, sendo altamente sensível à presença de compostos fenólicos de baixo peso molecular e alta capacidade redutora (Zhang *et al.*, 2023; Nurcholis *et al.*, 2021).

O hibisco, por conta da sua composição química rica em flavonoides e antocianinas (delfinidina e a cianidina-3-glicosídeo), possui uma alta capacidade de doação de hidrogênio. Hoang *et al.* (2023) demonstram que extratos de *H. sabdariffa* apresentam elevada atividade sequestrante de DPPH, com valores dependentes da concentração de polifenóis e da estrutura química dos compostos presentes, particularmente aqueles com grupos hidroxila livres em posições estratégicas do anel aromático.

Para o ensaio ABTS, observa-se maior valor para HF (2814 μM), seguido por HA e HCF, enquanto HG apresentou novamente o menor desempenho. Esse comportamento reforça a maior eficiência da condição HF na extração de compostos com elevada capacidade antioxidante. Diferentemente do DPPH, o método ABTS baseia-se na neutralização do radical

ABTS•⁺ e permite a atuação por mecanismos combinados de transferência de elétron e de hidrogênio, o que amplia significativamente sua sensibilidade. Além disso, sua aplicabilidade em sistemas aquosos e orgânicos possibilita a detecção tanto de compostos hidrofílicos quanto lipofílicos, tornando-o mais representativo da capacidade antioxidante total do extrato (Gulcin, 2020; George *et al.*, 2022).

Um ponto importante para a escolha dos métodos antioxidantes são as suas complementaridades, onde o DPPH tende a superestimar compostos com alta capacidade de doação de hidrogênio, o ABTS fornece uma avaliação mais abrangente da capacidade antioxidante total, enquanto o FRAP está mais associado ao poder redutor. Com isso, o extrato HF demonstrou um melhor potencial antioxidante em comparação com os outros extratos (Rumpf; Burger; Schulze, 2023; Angeli; Morozova; Scampicchio, 2023).

Embora HG apresente valores elevados e equilibrados de fenólicos, flavonoides e antocianinas, sua atividade antioxidante foi consistentemente inferior nos três ensaios. Esse resultado evidencia que a atividade antioxidante não depende apenas da concentração total, mas da estrutura química, da posição e número de grupos hidroxila, e da disponibilidade desses grupos para reação. Além disso, interações como copigmentação entre antocianinas e outros fenólicos podem estabilizar as moléculas, porém reduzir sua reatividade imediata frente aos radicais livres e agentes oxidantes (Xiang *et al.*, 2025; Wang *et al.*, 2023).

5.7 ESTABILIDADE DO EXTRATO GLOBAL OTIMIZADO

5.7.1 Estabilidade frente a variações de pH

Os resultados obtidos evidenciam que a atividade antioxidante do extrato de *Hibiscus sabdariffa* é fortemente dependente do pH do meio, com desempenho superior em condições ácidas e declínio progressivo com o aumento da alcalinidade. Esse comportamento está diretamente relacionado à estabilidade estrutural das antocianinas, compostos majoritariamente responsáveis pela capacidade antioxidante desta espécie. Os valores de atividade antioxidante pelo método DPPH dos extratos de *Hibiscus sabdariffa* submetidos a diferentes condições de pH estão apresentados na Tabela 10.

Os maiores valores de atividade antioxidante foram observados nas condições de pH ácido (pH 2 e pH 4), com médias de 1242,07 µM e 1259,43 µM, respectivamente, e em pH neutro (pH 7), houve redução moderada do valor médio (1118,00 µM). A amostra pH 2 final apresentou valor intermediário de 683,49 µM, com redução de aproximadamente 45% em

relação ao inicial, indicando degradação das antocianinas, levando à redução da atividade antioxidante. As condições alcalinas (pH 9 e pH 13) apresentaram os menores valores de atividade antioxidante, com médias de 356,71 μM e 333,29 μM , respectivamente

Tabela 10 – Atividade antioxidante (DPPH) do extrato de *Hibiscus sabdariffa* em diferentes condições de pH.

Amostra	DPPH (μM)
pH2 inicial	1242,07 $\pm$ 3,19 ^a
pH4	1259,43 $\pm$ 7,02 ^a
pH7	1118,00 $\pm$ 7,86 ^b
pH9	356,71 $\pm$ 24,62 ^d
pH13	333,29 $\pm$ 24,65 ^d
pH2 final	683,49 $\pm$ 9,32 ^c

Nota: Valores médios expressos seguidos do desvio padrão. Letras minúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa (LSD $p < 0,05$).

Entre as antocianinas identificadas nos cálices de *Hibiscus sabdariffa*, destacam-se a delfinidina-3-glicosídeo e a cianidina-3-glicosídeo, pigmentos que apresentam marcada sensibilidade ao pH por meio de transformações estruturais reversíveis em solução aquosa. Em solução aquosa, as antocianinas podem existir em quatro formas estruturais em equilíbrio: o cátion flavílio (AH^+), a base quinoidal (A), a pseudobase ou carbinol (B) e a chalcona, sendo a predominância de cada forma determinada pelo pH do meio (Chongwilaikasem *et al.*, 2024; Li; Simon; Wu, 2024).

Em condições fortemente ácidas pH 2 e pH 4, predomina a forma de cátion flavílio, que confere alta solubilidade em água às antocianinas e representa a estrutura mais estável. Essa estabilidade estrutural resulta na maior disponibilidade de grupos hidroxila para a doação de hidrogênio ao radical DPPH, explicando os maiores valores de atividade antioxidante observados nessas condições, 1242,07 μM e 1259,43 μM , respectivamente (Xue *et al.*, 2024). As antocianinas do hibisco são reconhecidas como a principal fonte da capacidade antioxidante desta espécie, e sua preservação em meio ácido é, portanto, determinante para a manutenção da bioatividade do extrato (Sadowska-Bartosz; Bartosz, 2024).

Em pH neutro (pH 7), foi observada redução moderada da atividade antioxidante (9,9%). Com o aumento do pH, formam-se as estruturas incolores, que apresentam menor reatividade frente ao radical livre DPPH. Estudos com extratos ricos em antocianinas demonstraram que a atividade antioxidante pelo método DPPH pode variar de 73% em pH 4,5

a 39% em pH 10, padrão consistente com os dados obtidos (De Moura *et al.*, 2024; Escher *et al.*, 2020; Yan *et al.*, 2023).

A queda mais acentuada da atividade antioxidante foi verificada em condições alcalinas, com valores médios de 356,71 μM (pH 9) e 333,29 μM (pH 13). Em pH elevado, as antocianinas sofrem deprotonação na estrutura do anel, com formação de bases quinoidais neutras e, posteriormente, bases quinoidais aniônicas de coloração azul, estruturas instáveis que se degradam rapidamente, comprometendo a integridade dos grupos funcionais responsáveis pela atividade antioxidante (Xue *et al.*, 2024; Zhang, *et al.*, 2025).

5.7.2 Estabilidade à Luz

A análise da proporção de pigmentos, associada às constantes de velocidade de degradação (k) e aos tempos de meia-vida ($t_{1/2}$), teve seus dados apresentados na Tabela 11 e revela que o extrato otimizado HG de *Hibiscus sabdariffa* apresentou degradação progressiva das antocianinas ao longo de 96 horas, com comportamento distinto entre as condições de exposição à luz e armazenamento no escuro.

Tabela 11 – Proporção de pigmentos e parâmetros da cinética de degradação de antocianinas no extrato otimizado HG de *Hibiscus sabdariffa* expostos e protegidos da luz por um período de 96 h

Tempo	%Pigmentos Vermelhos		%Pigmentos Amarelos		%Pigmentos Azuis	
	Luz	Escuro	Luz	Escuro	Luz	Escuro
0 min	38 $\pm$ 1,1 ^a	38 $\pm$ 0,3 ^a	13 $\pm$ 0,1 ^a	14 $\pm$ 0,4 ^a	49 $\pm$ 1,0 ^g	48 $\pm$ 0,3 ^e
12 h	35 $\pm$ 1,1 ^b	37 $\pm$ 0,2 ^b	13 $\pm$ 0,6 ^{a,b}	13 $\pm$ 0,3 ^a	52 $\pm$ 0,4 ^f	50 $\pm$ 1,0 ^d
24 h	32 $\pm$ 0,7 ^c	36 $\pm$ 1,2 ^{b,c}	13 $\pm$ 0,5 ^{a,b}	13 $\pm$ 0,7 ^a	55 $\pm$ 0,7 ^e	51 $\pm$ 0,3 ^d
36 h	31 $\pm$ 1,2 ^d	35 $\pm$ 1,0 ^{c,d}	12 $\pm$ 0,3 ^{a,b}	14 $\pm$ 0,7 ^a	57 $\pm$ 0,5 ^d	52 $\pm$ 0,2 ^c
48 h	30 $\pm$ 0,4 ^d	34 $\pm$ 0,3 ^{d,e}	12 $\pm$ 1,0 ^{a,b}	13 $\pm$ 0,8 ^a	58 $\pm$ 0,9 ^d	53 $\pm$ 0,8 ^{b,c}
60 h	28 $\pm$ 0,9 ^f	33 $\pm$ 1,0 ^{d,e,f}	12 $\pm$ 1,1 ^b	14 $\pm$ 0,8 ^a	60 $\pm$ 0,8 ^c	53 $\pm$ 0,3 ^b
72 h	25 $\pm$ 0,9 ^g	33 $\pm$ 0,6 ^{e,f}	12 $\pm$ 0,6 ^{a,b}	13 $\pm$ 0,4 ^a	62 $\pm$ 0,6 ^b	54 $\pm$ 0,7 ^b
84 h	25 $\pm$ 0,8 ^g	33 $\pm$ 0,9 ^{e,f}	12 $\pm$ 0,6 ^{a,b}	14 $\pm$ 0,3 ^a	63 $\pm$ 0,5 ^{a,b}	54 $\pm$ 0,7 ^b
96 h	24 $\pm$ 0,3 ^g	32 $\pm$ 0,7 ^f	12 $\pm$ 0,4 ^{a,b}	13 $\pm$ 0,5 ^a	63 $\pm$ 0,4 ^a	55 $\pm$ 0,5 ^a
k	10,06 x 10 ⁻⁰³	4,41 x 10 ⁻⁰³	5,93 x 10 ⁻⁰³	2,54 x 10 ⁻⁰³	2,39 x 10 ⁻⁰³	1,43 x 10 ⁻⁰³
t _(1/2) (h)	69	157	117	273	290	485

Nota: k: constante de velocidade de degradação das antocianinas; t_(1/2): tempo de meia vida. Valores médios expressos seguidos do desvio padrão. Letras minúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa (LSD p < 0,05).

Os pigmentos vermelhos, representativos da forma cátion flavílio (AH^+), apresentaram declínio contínuo e estatisticamente significativo ao longo do tempo em ambas as condições, com queda mais acentuada na condição exposta à luz. A concentração relativa reduziu de 38% ($t = 0$) para 24% (96 h) sob luz e para 32% (96 h) no escuro. As constantes de degradação confirmam essa diferença: $k = 10,06 \times 10^{-3} \text{ h}^{-1}$ (luz) e $k = 4,41 \times 10^{-3} \text{ h}^{-1}$ (escuro), com tempos de meia-vida de 69 h e 157 h, respectivamente, indicando que a exposição luminosa reduziu a meia-vida do cátion flavílio em aproximadamente 56%.

Esse padrão é consistente com o mecanismo de fotodegradação descrito por Xue *et al.* (2024). A radiação UV pode acelerar a degradação das antocianinas ao produzir um intermediário a partir do grupo hidroxila em C4, que sofre hidrólise na posição C2 com abertura do anel e formação de chalcona. Paralelamente, quando o fóton é absorvido pela molécula de antocianina e quebra a dupla ligação conjugada, ocorre fotodegradação, sendo que o grupo acila em antocianinas aciladas absorve fótons e reduz a sensibilidade à luz dessas formas (Li *et al.*, 2023b).

Uma vez que as antocianinas majoritárias do hibisco (delfinidina-3-sambubiosídeo e cianidina-3-sambubiosídeo) não são aciladas, sua vulnerabilidade à fotodegradação é particularmente elevada (Rakić; Ulrih, 2021; Zhang *et al.*, 2025).

Saidji *et al.* (2024) colabora diretamente os resultados obtidos, onde o extrato de antocianinas de hibisco armazenado no escuro sob condições refrigeradas exibiu o maior teor de antocianinas após 60 dias de armazenamento, seguido daqueles armazenados no escuro e, por fim, dos expostos à luz. O fato de que amostras no escuro apresentaram meia-vida 2,28 vezes maior reforça que a ausência de fotoexcitação preserva significativamente a integridade do cátion flavílio (De Moura *et al.*, 2024).

Os pigmentos amarelos, associados às formas chalcona e hemiacetal (pseudobase carbinol), mantiveram-se relativamente estáveis ao longo do período avaliado, com baixas variações entre os tempos em ambas as condições, de 13% ($t = 0$) para 12% (96 h) sob luz, e de 14% ($t = 0$) para 13% (96 h) no escuro. As constantes de degradação foram $k = 5,93 \times 10^{-3} \text{ h}^{-1}$ (luz) e $k = 2,54 \times 10^{-3} \text{ h}^{-1}$ (escuro), com meias-vidas de 117 h e 273 h, respectivamente.

A relativa estabilidade percentual dos pigmentos amarelos ao longo do tempo pode ser interpretada como resultado do equilíbrio dinâmico entre sua formação, a partir da conversão do cátion flavílio, e sua degradação contínua em produtos de menor massa molecular (Li *et al.*, 2023b). Esse fluxo de formação por degradação do flavílio e consumo para produtos finais incolores pode explicar a aparente estabilidade dos percentuais amarelos, enquanto a velocidade de degradação total (k) permanece superior sob luz (Zhang *et al.*, 2025).

A radiação UV pode acelerar a degradação das antocianinas ao produzir um intermediário a partir do grupo hidroxila em C4, que hidrolisa na posição C2 para abertura do anel e formação de chalcona, a qual rapidamente se degrada em produtos de menor massa molecular como ácido benzóico e 2,4,6-tri-hidroxibenzaldeído (Xue *et al.*, 2024), o que limitaria o acúmulo de chalcona mesmo quando sua produção é estimulada (Rakić; Ulrih, 2021).

Os pigmentos azuis, representativos das formas quinonoidais (bases quinoidal neutra e aniônica), apresentaram comportamento inverso ao dos pigmentos vermelhos: aumento progressivo ao longo das 96 horas, de 49% ($t = 0$) para 63% (96 h) sob luz, e de 48% ($t = 0$) para 55% (96 h) no escuro. As menores constantes de degradação nessa categoria ($k = 2,39 \times 10^{-3} \text{ h}^{-1}$ sob luz; $k = 1,43 \times 10^{-3} \text{ h}^{-1}$ no escuro) e os maiores tempos de meia-vida (290 h e 485 h, respectivamente) refletem que os pigmentos azuis são simultaneamente produzidos (a partir da conversão do cátion flavílio) e degradados, resultando em acúmulo líquido durante o período avaliado.

Esse acúmulo indica que a taxa de conversão do cátion flavílio em bases quinoidais supera a taxa de degradação destas últimas no intervalo de 96 horas. Sadowska-Bartosz e Bartosz (2024) ressaltam que a base quinonoidal ionizada tem os átomos de oxigênio envolvidos em quelação com metais, o que impede reações com o oxigênio e reduz a capacidade antioxidante das antocianinas, sugerindo que o aumento dos pigmentos azuis representa, funcionalmente, uma redução da bioatividade do extrato ao longo do tempo (Fu *et al.*, 2021).

A proteção contra a luz demonstrou impacto relevante também sobre a estabilidade das bases quinonoidais: a meia-vida no escuro (485 h) foi 1,67 vezes superior à observada sob luz (290 h), indicando que mesmo as formas estruturais mais estáveis das antocianinas são aceleradas em sua degradação final pela radiação luminosa (Fu *et al.*, 2021; Ionescu; Samide; Tigae, 2025).

Em conjunto, os dados da Tabela 11 demonstram que o armazenamento protegido da luz é imprescindível para a preservação da atividade bioativa do extrato de *Hibiscus sabdariffa*, com impacto direto na proporção de pigmentos vermelhos (cátion flavílio), que representa a forma estruturalmente mais ativa e estável em condições ácidas. A exposição luminosa acelera de forma significativa a conversão do cátion flavílio em formas quinoidais e chalconas, reduzindo a meia-vida e comprometendo as propriedades corantes e antioxidantes do extrato.

5.7.3 Estabilidade à Temperatura

Os resultados apresentados na Tabela 12 demonstram que o aumento da temperatura promoveu redução progressiva da retenção de cor das antocianinas do extrato otimizado HG de *Hibiscus sabdariffa*, evidenciando maior degradação térmica em condições mais severas. Após 8 h de exposição térmica, observou-se retenção de cor de 82, 74 e 71% para 60, 80 e 100 °C, respectivamente, indicando que temperaturas elevadas aceleram significativamente a degradação dos pigmentos antociânicos.

Tabela 11 – Parâmetros da cinética do efeito de diferentes temperaturas na estabilidade das antocianinas do extrato otimizado HG de *Hibiscus sabdariffa* por um período de 8 h.

Parâmetros da Cinética	Temperatura		
	60 °C	80 °C	100 °C
Retenção de Cor (%)	82	74	71
k	0,024	0,041	0,044
t _(1/2) (h)	29	17	16

Nota: k: constante de velocidade de degradação das antocianinas; t_(1/2): tempo de meia vida.

Esse comportamento é confirmado pelos valores da constante cinética de degradação (k), que aumentaram com a elevação da temperatura, variando de 0,024 h⁻¹ a 60 °C para 0,044 h⁻¹ a 100 °C. Esse aumento demonstra maior velocidade reacional de degradação térmica, comportamento típico de compostos termossensíveis e compatível com modelos cinéticos de primeira ordem frequentemente descritos para antocianinas (De Marchi *et al.*, 2024; Tobolka *et al.*, 2024). Segundo Oancea (2021), a degradação térmica de antocianinas ocorre predominantemente segundo cinética de primeira ordem, devido à dependência exponencial da velocidade de degradação em relação à temperatura.

A redução do tempo de meia-vida (t_{1/2}) reforça esse comportamento, passando de aproximadamente 29 h a 60 °C para 16 h a 100 °C. A diminuição da meia-vida indica menor estabilidade molecular das antocianinas sob temperaturas elevadas, uma vez que maiores níveis de energia térmica favorecem processos de hidrólise, oxidação e abertura do anel flavílico (Xue *et al.*, 2024).

O aquecimento promove degradação estrutural das antocianinas por ruptura das ligações glicosídicas e formação de chalconas e ácidos fenólicos de menor estabilidade, reduzindo tanto a intensidade da coloração quanto a atividade antioxidante (Oancea, 2021; Tobolka *et al.*, 2024).

Do ponto de vista tecnológico, os resultados demonstram que temperaturas moderadas favorecem maior preservação das antocianinas, enquanto tratamentos térmicos severos aceleram sua degradação. Assim, processos industriais devem priorizar condições mais brandas ou tratamentos rápidos, como HTST (High Temperature Short Time), visando minimizar perdas de cor e atividade antioxidante (Polak; Kalisz; Kruszewski, 2024). Além disso, estratégias como uso de embalagens com barreira à luz e sistemas de copigmentação podem contribuir para aumentar a estabilidade desses compostos durante o processamento e armazenamento (Remedio; Quinayá, 2024; Zhu *et al.*, 2023).

6 CONCLUSÃO

A extração assistida por ultrassom dos compostos bioativos de *Hibiscus sabdariffa*, otimizada por delineamento Box-Behnken, mostrou-se eficiente para a recuperação simultânea de compostos fenólicos, flavonoides e antocianinas. O ultrassom aumentou significativamente o rendimento de extração, sendo observada degradação dos compostos em tempos excessivos de sonicação. A concentração de etanol foi a variável de maior influência sobre as respostas avaliadas, seguida da temperatura e do tempo de ultrassom.

A condição otimizada (44,17% de etanol, 60 °C e 13,83 min) permitiu maximizar simultaneamente as três classes de compostos, produzindo um extrato com elevado teor de bioativos. Os extratos obtidos apresentaram alta atividade antioxidante, embora esta tenha dependido não apenas da concentração, mas também da composição química dos compostos extraídos. As antocianinas demonstraram elevada sensibilidade ao pH alcalino, à luz e às altas temperaturas, apresentando maior estabilidade em meio ácido e sob armazenamento no escuro.

Estudos futuros devem avançar na caracterização individual dos compostos presentes nos extratos otimizados por cromatografia líquida de alta eficiência, na avaliação de sua citotoxicidade e bioacessibilidade *in vitro*, bem como na aplicação do extrato HG em matrizes alimentícias reais como bebidas funcionais, iogurtes e filmes de embalagem ativa a fim de validar seu potencial tecnológico e contribuir para o aproveitamento sustentável dos cálices de *Hibiscus sabdariffa* na indústria de alimentos.

REFERÊNCIAS

- AHMED, T.; RANA, M. R.; HOSSAIN, M. A.; ULLAH, S.; SUZAUDDULA, M. Optimization of ultrasound-assisted extraction using response surface methodology for total anthocyanin content, total phenolic content, and antioxidant activities of Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) calyces and comparison with conventional Soxhlet extraction. **Biomass Conversion and Biorefinery**, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s13399-023-03881-y> Acesso em: 07 ago. 2024.
- AJIBOYE, B. O.; FAMUSIWA, C. D.; NIFEMI, D. M.; AYODELE, B. M.; AKINLOLU, O. S.; FATOKI, T. H.; EZZAT, A. O.; AL-LOHEDAN, H. A.; GUPTA, S.; OYINLOYE, B. E. Nephroprotective Effect of *Hibiscus sabdariffa* Leaf Flavonoid Extracts via KIM-1 and TGF- β Signaling Pathways in Streptozotocin-Induced Rats. **ACS Omega**, v. 9, p. 19334-19344. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/acsomega.4c00254> Acesso em: 05 ago. 2024.
- AKTHER, F.; ALIM, M. A.; NASRIN, N. A.; KHAN, M.; GOMES, D. N.; SUHAN, M.; ISLAM, M.; BEGUM, R. Effects of different drying methods on the proximate composition, antioxidant activity, and phytochemical content of *Hibiscus sabdariffa* L. Calyx. **Food Chemistry Advances**, v. 3, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.focha.2023.100553> 03 abr. 2026.
- ALBERTI, A.; ZIELINSKI, A. A. F.; ZARDO, D. M.; DEMIATE, I. M.; NOGUEIRA, A.; MAFRA, L. I. Optimisation of the extraction of phenolic compounds from apples using response surface methodology. **Food Chemistry**, v. 149, p. 151-158, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.10.086> Acesso em: 27 ago. 2024.
- AL-KHAYRI, J. M.; SAHANA, G. R.; NAGELLA, P.; JOSEPH, B. V.; ALESSA, F. M.; AL-MSSALLEM, M. Q. Flavonoids as Potential Anti-Inflammatory Molecules: A Review. **Molecules**, v. 27, n. 9, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/molecules27092901> Acesso em: 08 abr. 2025.
- ANGELI, L.; MOROZOVA, K.; SCAMPICCHIO, M. A kinetic-based stopped-flow DPPH• method. **Scientific Reports**, v. 13, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41598-023-34382-7> Acesso em: 24 mar. 2026.
- ARCE-REYNOSO, A.; MATOES, R.; MENDIVIL, E. J.; ZAMORA-GASGA, V. M.; SÁYAGO-AYERDI, S. G. Bioavailability of bioactive compounds in *Hibiscus sabdariffa* beverage as a potential anti-inflammatory. **Food Research International**, v. 174, n. 1, 2023. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0963996923011298> Acesso em: 16 jul. 2024
- ARORA, M., KIRAN, B., SHWETA, R., RANI, A., KAUR, B., MITTAL, N. Heavy metal accumulation in vegetables irrigated with water from different sources. **Food Chemistry**, v. 11, n. 4, p. 811-815, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.04.049> Acesso em: 27 ago. 2024
- BALARABE, M. A. Nutritional Analysis of *Hibiscus sabdariffa* L. (Roselle) Leaves and Calyces. **Plant**, v. 7, n. 4, p. 62, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.11648/j.plant.20190704.11> Acesso em: 22 mar. 2026.

BAKAR, N. N. A.; LATIP, J.; SAPIAN, S.; KHALID, R. M. Optimization of Roselle (*Hibiscus sabdariffa* Linn.) Anthocyanin Extraction Parameter by Response Surface Modeling and Potential of Roselle Agro-Waste as Alternative Sources of Anthocyanin. **Sains Malaysiana**, v. 52, n. 11, p. 3147-3162, 2023. Disponível em: <http://doi.org/10.17576/jsm-2023-5211-10> Acesso em: 08 ago. 2024.

BEDI, P. S.; BEKELE, M.; GURE, G. Phyto-chemistry and Pharmacological Activities of *Hibiscus sabdariffa* Linn. – A Review. **International Research Journal of Pure and Applied Chemistry**, v. 21, n. 23, p. 41–54, dez. 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.9734/irjpac/2020/v21i2330301>. Acesso em: 22 mar. 2026.

BET C. D.; OLIVEIRA C. S.; COLMAN T. A. D.; MARINHO M. T.; LACERDA L. G.; RAMOS A. P.; SCHNITZLER, E. Organic amaranth starch: A study of its technological properties after heat-moisture treatment. **Food Chemistry**, v. 264, p. 435-442, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.05.021>. Acesso em: 13 mar. 2026.

BENZIE, I. F. F.; STRAIN, J. J. The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of “Antioxidant Power”: The FRAP Assay. **Analytical Biochemistry**, v. 239, n.1, p. 70-76. 1996. Disponível em: <https://doi.org/10.1006/abio.1996.0292>. Acesso em: 29 ago. 2024.

BEVAN, P.; PASTOR, M. V.; ALMAJANO, M. P.; CODINA-TORRELLA, I. Antioxidant and Antiradical Activities of *Hibiscus sabdariffa* L. Extracts Encapsulated in Calcium Alginate Spheres. **Polymers**, v. 15, n. 7, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/polym15071740> Acesso em: 18 mar. 2026.

BEZERRA, M. A.; SANTELI, R. E.; OLIVEIRA, E. P.; VILAR, L. S.; ESCALEIRA, L. A. Response surface methodology (RSM) as a tool for optimization in analytical chemistry. **Talanta**, v. 76, n. 5, p. 965–977, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2008.05.019> Acesso em: 06 abr. 2026.

BORRÁS-LINARES, I.; FERNÁNDEZ-ARROYO, S.; ARRÁEZ-ROMAN, D.; PALMERO-SUÁREZ, P. A.; VAL-DÍAS, R.; ANDRADE-GONZÁLES, I.; FERNANDA-GUTIÉRREZ, GÓMES-LEYVA, J. F.; SEGURA-CARRETERO, A. Characterization of phenolic compounds, anthocyanidin, antioxidant and antimicrobial activity of 25 varieties of Mexican Roselle (*Hibiscus sabdariffa*). **Industrial Crops and Products**, v. 69, p. 385-394, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.02.053> Acesso em: 18 mar. 2026.

BOX, G. E. P.; BEHNKEN, D. W. Some New Three Level Designs for the Study of Quantitative Variables. **Technometrics**, v. 2, n. 4, p. 455–475, 1960. Disponível em: <https://doi.org/10.2307/1266454>. Acesso em: 27 ago. 2024.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT – Food Science and Technology**, v. 28, n. 1, p. 25-30, 1995. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5). Acesso em: 27 ago. 2024.

BRASIL. Instrução Normativa nº 159, de 1º de julho de 2022. Estabelece as listas das partes de espécies vegetais autorizadas para o preparo de chás e para o uso como especiarias. **Diário Oficial da União**: seção 1, Brasília, DF, 4 jul. 2022. Disponível em:

<https://in.gov.br/en/web/dou/-/instrucao-normativa-in-n-159-de-1-de-julho-de-2022-413248720> Acesso em: 25 maio 2025.

CALDEIRÃO, L.; SOUSA, J.; NUNES, L. C. G.; GODOY, H. T.; FERNANDES, J. O.; CUNHA, S. C. Herbs and herbal infusions: Determination of natural contaminants (mycotoxins and trace elements) and evaluation of their exposure. **Food Research International**, v. 144, 110322, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2021.110322> Acesso em: 16 abr. 2026.

CID-ORTEGA, S. e GUERRERO-BELTRÁN, J. A. Roselle calyces (*Hibiscus sabdariffa*), an alternative to the food and beverages industries: a review. **Journal of Food Science and Technology**, v. 52, p. 6859-6869, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s13197-015-1800-9> Acesso em: 12 ago. 2024.

CHATEPA, L. E. C.; MASAMBA, K. G.; SANUDI, T.; NGWIRA, A.; TANGANYIKA, J.; CHAMERA, F. Effects of aqueous and methanolic solvent systems on phytochemical and antioxidant extraction from two varieties of Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) var. sabdariffa plant from Central Malawi. **Food and Humanity**, v.1, p. 1172-1179, 2023. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S2949824423001283> Acesso em: 26 jul. 2024.

CHEAIB, D.; EL DARRA, N.; RAJHA, H. N.; MAROUN, R. G.; LOUKA, N. Systematic and empirical study of the dependence of polyphenol recovery from apricot pomace on temperature and solvent concentration levels. **The Scientific World Journal**, v. 2018, p. 1–12, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1155/2018/8249184> Acesso em: 06 abr. 2026.

CHEMAT, F.; ZILL-E-HUMA; KHAN, M. K. Applications of ultrasound in food technology: Processing, preservation and extraction. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 94, p. 813-835, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2010.11.023> Acesso em: 17 mar. 2026.

CHEN, L.; DENG, H.; CUI, H.; FANG, J.; ZUO, Z.; DENG, J.; LI, Y.; WANG, X.; ZHAO, L. Inflammatory responses and inflammation-associated diseases in organs. **Oncotarget**, v. 9, n. 6, p. 7204-7218, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.18632/oncotarget.23208> Acesso em: 16 abr. 2025.

CHEN, S.; WANG, W.; CHENG, Y. GAO, H. CHEN, X. A Review of Classification, Biosynthesis, Biological Activities and Potential Applications of Flavonoids. **Molecules**, v. 28, n. 13, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/molecules28134982> Acesso em: 05 ago. 2024.

CHEN, X.; ZHANG, A.; ZHAO, K.; GAO, H.; SHI, P.; CHEN, Y.; CHENG, Z.; ZHOU, W.; ZHANG, Y. The role of oxidative stress in intervertebral disc degeneration: Mechanisms and therapeutic implications. **Ageing Research Reviews**, v. 98, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.arr.2024.102323>. Acesso em: 29 abr. 2025.

CHONGWILAIKASEM, N.; SITHISARN, P.; ROJSANGA, P.; SITHISARN, P. Green extraction and partial purification of roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) extracts with high amounts of phytochemicals and in vitro antioxidant and antibacterial effects. **Journal of Food**

Science, v. 89, n. 12, p. 8401–8416, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/1750-3841.17418> Acesso em: 06 maio 2026.

CIRA-CHÁVEZ, L. A. Green extraction of bioactive compounds from *Hibiscus sabdariffa* calyces: enzymatic assisted extraction yields high anthocyanins and antioxidants. **Applied Food Research**, v. 5, n. 2, 2025. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.afres.2025.101149>. Acesso em: 29 ago. 2025.

CLÍMACO, G. N.; VARDANEGA, R.; FASOLIN, L. H. *Hibiscus sabdariffa* L. leaves as an alternative source of bioactive compounds obtained through high pressure technologies. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 200, 2023. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0896844623001328#preview-section-cited-by>. Acesso em: 15 jul. 2024.

DEBNATH, A.; SINHA, K.; MANDAL, S.; MITRA, A.; SINGH, M. K.; SAHA, A.; DAS, A. Assess the antioxidant and antimicrobial activity of herbal popsicles prepared by *Hibiscus sabdariffa* L. and Clitorea ternatea floral waste. **Journal of Experimental Biology and Agricultural Sciences**, v. 12, 2024. Disponível em: [https://doi.org/10.18006/2024.12\(2\).284.296](https://doi.org/10.18006/2024.12(2).284.296) Acesso em: 18 mar. 2026.

DE MARCHI, L.; SALEMI, L.; BELLUMORI, M.; CHIGNOLA, R.; MAINENT, F.; SOTO, D. V. S. S.; FIERRI, I.; CIULU, M.; ZOCCATELLI, G. Thermal degradation of red cabbage (*Brassica oleracea* L. var. *Capitata f. rubra*) anthocyanins in a water model extract under accelerated shelf-life testing. **Food Chemistry**, v. 440, n. 138272, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.138272>. Acesso em: 11 maio 2026.

DE MOURA, C.; DO CARMO, M. A. V.; XU, Y. Q.; AZEVEDO, L.; GRANATO, D. Anthocyanin-rich extract from purple tea: chemical stability, cellular antioxidant activity, and protection of human erythrocytes and plasma. **Current Research in Food Science**, v. 8, p. 100701, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.crfs.2024.100701> Acesso em: 07 maio 2026.

DEVI, L. M.; DAS, A. B.; BADWAIK, L. S. Ultrasound-assisted extraction of anthocyanin from black rice bran and its encapsulation by complex coacervation. **Food Hydrocolloids for Health**, v. 5, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.fhfh.2023.100174> Acesso em: 28 maio 2026.

DILOKTHORNSAKUL, P.; RATTANACHAISIT, N.; THIMKORN, P.; PONGPATTANAWUT, S.; DILOKTHORNSAKUL, W.; DHIPPAYOM, T. Clinical effects of *Hibiscus sabdariffa* Linn. on obesity treatment: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. **Complementary Therapies in Medicine**, v. 84, 2024. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0965229924000517> Acesso em: 16 jul. 2024.

DIWATHE, M. C.; J., A.; MAZUMDAR, B. Optimization of ultrasound-assisted extraction of phenolics from *Cordia dichotoma* leaves using response surface methodology. **Chemical Engineering Research and Design**, v. 208, p. 572-587, 2024. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0263876224004088> Acesso em: 30 jul. 2024.

DUQUE-SOTO, C.; EXPÓSITO-ALMELLÓN, X.; GARCÍA, P.; PANDO, M. E.; BORRÁS-LINARES, I.; LOZANO-SÁNCHEZ, J. Extraction, Characterization, and Bioactivity of Phenolic Compounds—A Case on Hibiscus Genera. **Foods**, v. 12, n. 5, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/foods12050963> Acesso em: 05 ago. 2024.

ELGUDAYEM, F.; ALDIYAB, A.; ALBALAWI, M.A.; OMRAN, A.; KAFKAS, N.E.; SAGHROUCHNI, H.; VAR, I.; RAHMAN, M.A.; EL SABAGH, A.; SAKRAN, M.; BEN AHMED, C. Box-Behnken design based optimization of phenolic extractions from Polygonum equisetiforme roots linked to its antioxidant and antibacterial efficiencies. **Frontiers in Sustainable Food Systems**, v. 7, p. 1141207, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fsufs.2023.1141207> Acesso em: 06 abr. 2026

EL-HACK, M. E. A.; OLIVEIRA, M. C.; ATTIA, Y. A.; KAMAL, M. ALMOHMADI, N. H.; YOUSSEF, I. M.; KHALIFA, N. E.; MOUSTAFA, M.; AL-SHEHRI, M.; TAHA, A. E. The efficacy of polyphenols as an antioxidant agent: An updated review. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 250, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.126525> Acesso em: 19 ago. 2024.

ENSIKAT, H. J.; MALEKHOSSEINI, M.; BLANKE, A.; WEIGEND, M. Calcium oxalate crystals of plant leaves pass through chewing invertebrate larvae virtually unchanged. **Plant Species Biology**, v. 40, n. 5, p. 510-516, 2025. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/1442-1984.70015> Acesso em: 27 maio 2026.

ESCHER, G. B.; WEN, M.; ZHANG, L.; ROSSO, N. D.; GRANATO, D. Phenolic composition by UHPLC-Q-TOF-MS/MS and stability of anthocyanins from *Clitoria ternatea* L. (butterfly pea) blue petals. **Food Chemistry**, v. 331, p. 127341, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127341> Acesso em: 29 ago. 2024.

FANGUEIRO, A. L. S.; PENHA, M. P.; LOURENÇO, M. S. Plantas alimentícias não convencionais: sustentabilidade em um restaurante universitário. **DEMETRA: Alimentação, Nutrição & Saúde**, v. 17, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.12957/demetra.2022.67365>. Acesso em: 08 ago. 2024.

FERREIRA, C. P.; LIMA, M. C.; SILVA, J. G.; ARAUJO, N. M. P. Nutritional composition, phenolic compounds and biological activities of selected unconventional food plants. **Food Research International**, v. 191, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2024.114643> Acesso em: 08 ago. 2024.

FU, X.; WU, Q.; WANG, J.; CHEN, Y.; ZHU, G.; ZHU, Z. Spectral Characteristic, Storage Stability and Antioxidant Properties of Anthocyanin Extracts from Flowers of Butterfly Pea (*Clitoria ternatea* L.). **Molecules**, v. 26, n. 22, p. 7000, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/molecules26227000> Acesso em: 12 maio 2026.

GAO, X.; LIN, X.; HO, C. T.; ZHANG, Y.; LI, B.; CHEN, Z. Chemical composition and anti-inflammatory activity of water extract from black cocoa tea (*Camellia ptilophylla*). **Food Research International**, v. 161, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2022.111831>. Acesso em: 08 abr. 2025.

GEORGE, J.; EDWARDS, D.; PUN, S.; WILLIAMS, D. Evaluation of Antioxidant Capacity (ABTS and CUPRAC) and Total Phenolic Content (Folin-Ciocalteu) Assays of Selected

Fruit, Vegetables, and Spices. **International Journal of Food Science**, n. 2581470, novembro 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1155/2022/2581470>. Acesso em: 24 abr. 2026.

GOMES, A.; FERNANDES, E.; LIMA, J. L. F. C.; MIRA, L.; CORVO, M. L. Molecular Mechanisms of Anti-Inflammatory Activity Mediated by Flavonoids. **Current Medicinal Chemistry**, v. 15, p. 1586-1605, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.2174/092986708784911579>. Acesso em: 14 jan. 2025.

GOMES, J. P.; DE OLIVEIRA, P. H. S. Nutritional and antioxidant property of non-conventional food plants (PANC's) and use in eating habits: review. **Seven Editora**, [S. l.], 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.56238/tfisdwv1-049>. Acesso em: 08 ago. 2024.

GULCIN, I. Antioxidants and antioxidant methods: an updated overview. **Archives of Toxicology**, v. 94, p. 651-715, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00204-020-02689-3> Acesso em: 24 mar. 2026.

GUO, Y.; CHANG, X.; ZHENG, B.; XIE, J.; CHEN, Y.; SHAN, J.; HU, X.; YU, Q. Bound polyphenols from insoluble dietary fiber of navel orange peel alleviates cellular inflammation by inhibiting LPS-induced NF-kB/JAK-STAT pathway in RAW264.7 macrophages. **Food Bioscience**, v. 59, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2024.104044> Acesso em: 08 abr. 2025.

HAO, J.; WANG, Z.; JIA, Y.; SUN, L.; FU, Z.; ZHAO, M.; LI, Y.; YUAN, N.; CONG, B.; ZHAO, L.; GE, G. Optimization of ultrasonic-assisted extraction of flavonoids from *Lactuca indica* L. cv. Mengzao and their antioxidant properties. **Frontiers in Nutrition**, v. 14, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fnut.2023.1065662>. Acesso em: 24 mar. 2026.

HE, H.; LI, D.; LI, X.; FU, L. Research progress on the formation, function, and impact of calcium oxalate crystals in plants. **Crystallography Reviews**, v. 30, n. 1, p. 31-60, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/0889311X.2024.2309486> Acesso em: 27 maio 2026.

HERNÁNDEZ-HERNÁNDEZ, F.A., GÓMEZ-ALDAPA, C.A., CASTRO-ROSAS, J. *ET AL.* *Hibiscus sabdariffa* L. Extract as a Natural Additive in Food Packaging Biodegradable Films to Improve Antioxidant, Antimicrobial, and Physicochemical Properties. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 79, p. 285–291, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11130-024-01189-4>. Acesso em: 12 ago. 2024.

HOANG, T. N. N.; NGUYEN, N. P. M.; DONG, T. A. D.; LE, T. H. A. Anthocyanin isolation from *Hibiscus sabdariffa* L. flowers by extraction, macroporous D101 resin purification, and biological evaluation. **Journal of Agriculture and Food Research**, v.14, 2023. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2666154323003551>. Acesso em: 16 jul. 2024.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. 4. ed. São Paulo: IAL, 2008. 1020 p.

INTHACHAT, W.; TEMVIRIYANUKUL, P.; ON-NOM, N.; KANOONGON, P.; THANGSIRI, S.; CHUPEERACH, C.; SUTTISANSANEE, U. Optimization of Phytochemical-Rich Citrus maxima Albedo Extract Using Response Surface Methodology.

Molecules, v. 28, n. 10, p. 4121, 2023. Disponível em:
<https://doi.org/10.3390/molecules28104121> Acesso em: 06 abr. 2026.

IONESCU, C.; SAMIDE, A.; TIGAE, C. Trend in detection of anthocyanins from fresh fruits and the influence of some factors on their stability impacting human health: kinetic study assisted by UV-Vis spectrophotometry. **Antioxidants**, v. 14, n. 2, p. 227, 2025. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/antiox14020227>. Acesso em: 12 maio 2026.

IQBAL, M. J.; KABEER, K.; ABBAS, Z.; SIDDIQUI, H. A.; CALINA, D.; SHARIFI-RAD, J.; CHO, W. C. Interplay of oxidative stress, cellular communication and signaling pathways in cancer. **Cell Communication and Signaling**, v. 22, n. 7, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s12964-023-01398-5>. Acesso em: 28 abr. 2025.

JABEUR, I.; PEREIRA, E.; BARROS, L.; CALHELHA, R. C.; SOKOVIĆ.; OLIVEIRA, M. B. P. P.; FERREIRA, I. C. F. R. *Hibiscus sabdariffa* L. as a source of nutrients, bioactive compounds and colouring agents. **Food Research International**, v. 100, p. 717-723, 2017. Disponível em: <https://bibliotecadigital.ipb.pt/bitstream/10198/15249/1/52.pdf>. Acesso em: 15 jul. 2024.

KAUFMANN, A. I.; MORAES, D. P.; FARIAS, C. A. A.; SCHLESNER, S. K.; BARCIA, M. T.; BARIN, J. S. Ultrasound-assisted anthocyanin enrichment of cold-brewed hibiscus tea prepared in a hard-cap espresso machine for color 3D food printing. **Ciência Rural**, v. 55, n. 10, 2025. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20240461> Acesso em: 19 mar. 2026.

KHAN, N. H.; ABDULBAQI, I. M.; DARWIS, Y.; AMINU, N.; CHAN, S. Y. A stability-indicating HPLC-UV method for the quantification of anthocyanin in Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) spray-dried extract, oral powder, and lozenges. **Heliyon**, v. 8, n. 3, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e09177> Acesso em: 28/07/2024

KHAN, N.; YUSUFU, M.; AHMADOVA, Z.; MAIHEMUTI, N.; HAILATI, S.; TALIHAT, Z.; NUERAIHEMAITI, N.; DILIMULATI, D.; BAISHAN, A.; DUAN, L.; ZHOU, W. Optimization of Ultrasound Extraction of Total Anthocyanin from *Berberis kaschgarica* Rupr. by Response Surface Methodology and Its Antihypertensive Effect. **Food Science & Nutrition**, v. 12, n. 12, p. 10699-10715, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/fsn3.4591>. Acesso em: 28 maio 2026.

KOKARE, S.A.; KALAMB, V.S.; BAKAL, R.L.; HATWAR, P.R. *Hibiscus sabdariffa*: a comprehensive review of its phytochemistry, traditional uses and therapeutic potentials. **International Journal of Herbal Medicine**, v. 13, n. 4, p. 37–41, 2025. Disponível em: <https://www.doi.org/10.22271/flora.2025.v13.i4a.996>. Acesso em: 10 fev. 2026.

KOURELATOU, A.; CHATZIMITAKOS, T.; ATHANASIADIS, V.; KOTSOU, K.; MAKRYGIANNIS, I.; BOZINOUE.; LALAS, S. I. Seeking Optimal Extraction Method for Augmenting *Hibiscus sabdariffa* Bioactive Compounds and Antioxidant Activity. **Processes**, v. 12, n. 3, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/pr12030581> Acesso em: 12 ago. 2024.

KUMAR, K.; SRIVASTAV, S.; SHARANAGAT, V. S. Ultrasound assisted extraction (UAE) of bioactive compounds from fruit and vegetable processing by-products: A review.

Ultrasonics Sonochemistry, v. 70, 2021. Disponível em:
<https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2020.105325>. Acesso em: 18 mar. 2026.

LARASATI, I. D.; OKTAVIANI, N. M. D.; LIOE, H. N.; ESTIASIH, T.; PALMA, M.; SETYANINGISH, W. Optimization of Ultrasound-Assisted Cold-Brew Method for Developing Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.)-Based Tisane with High Antioxidant Activity. **Beverages**, v. 9, n. 3, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/beverages9030058> Acesso em: 05 ago. 2024.

LI, M.; QIAN, M.; JIANG, Q.; TAN, B.; YIN, Y.; HAN, X. Evidence of Flavonoids on Disease Prevention. **Antioxidants**, v. 12, n. 2, 2023. Disponível em:
<https://doi.org/10.3390/antiox12020527>. Acesso em: 06 ago. 2024. (a)

LI, Q.; ZHANG, F.; WANG, Z.; FENG, Y.; HAN, Y. Advances in the Preparation, Stability, Metabolism, and Physiological Roles of Anthocyanins: A Review. **Foods**, v. 12, n. 21, p. 3969, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/foods12213969> Acesso em: 12 maio 2026. (b)

LI, N.; SIMON, J. E.; WU, Q. Determination of anthocyanins, organic acids, and phenolic acids in hibiscus market products using LC/UV/MS. **Journal of Food Science**, v. 89, n. 2, p. 1098–1113, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/1750-3841.16909> Acesso em: 06 maio 2026.

LIGA, S.; PAUL, C.; PÉTER, F. Flavonoids: Overview of Biosynthesis, Biological Activity, and Current Extraction Techniques. **Plants**, v. 12, n. 14, 2023 Disponível em:
<https://doi.org/10.3390/plants12142732>. Acesso em: 06 ago. 2024.

LINARES, G.; ROJAS, M. L. Ultrasound-Assisted Extraction of Natural Pigments from Food Processing By-Products: A Review. **Frontiers in Nutrition**, v. 9, 2022. Disponível em:
<https://doi.org/10.3389/fnut.2022.891462> Acesso em: 28 maio 2026.

MA, D.; GUO, Y.; ALI, I.; LIN, J.; XU, Y.; YANG, M. Accumulation characteristics of plant flavonoids and effects of cultivation measures on their biosynthesis: A review. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 215, 2024. Disponível em:
<https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2024.108960>. Acesso em: 03 ago. 2024.

MADUEKE, S. P.; NWACHUKWU, D. C.; UBOM, R.; OKAFOR, O.; OCHAYI, O. M.; OJIKAH, O. I.; IKWUKA, D. C.; KATCHY, U. Flavonoids from *Hibiscus sabdariffa* reduce serum aldosterone level of hypertensive male Wistar rats. **International Journal of Medicine and Health Development**, v. 29, n. 1, p. 10-16. 2024. Disponível em:
[10.4103/ijmh.ijmh_31_23](https://doi.org/10.4103/ijmh.ijmh_31_23). Acesso em: 22 ago. 2024.

MARTÍNEZ-ZAMORA, L.; HASHEMI S.; CANO-LAMADRID, M.; BUESO, M.; C.; AGUAYO, E.; KESSLER, M.; ARTÉS-HERNÁNDEZ, F. Ultrasound-assisted extraction of bioactive compounds from broccoli by-products. **Foods**, v. 13, n. 10, 2024. Disponível em:
<https://doi.org/10.3390/foods13101441>. Acesso em: 17 mar. 2026.

MATOS DE COMER. **Qual o verdadeiro chá de hibisco?** 2016. Disponível em:
<http://www.matosdecomer.com.br/2016/05/qual-o-verdadeiro-cha-de-hibisco.html>. Acesso em: 15 ago. 2024.

MENDONÇA, G. R.; PINTO, R. A.; PRAXEDES, E. A.; ABREU, V. K. G.; DUTRA, R. P.; PEREIRA, A. F.; LEMOS, T. O.; REIS, A. S.; PEREIRA, A. L. F. Kombucha based on unconventional parts of the *Hibiscus sabdariffa* L.: Microbiological, physico-chemical, antioxidant activity, cytotoxicity and sensorial characteristics. **International Journal of Gastronomy and Food Science**, v. 34, 2023. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1878450X23001464>. Acesso em: 16 jul. 2024.

MISTURINI, T. F.; LOVATO, F. e TIUMAN, T. Qualidade de amostras de chás de camomila e erva-doce comercializadas no município de Toledo-PR. **Brazilian Journal of Food Research**, v. 11, n. 2, 2020. Disponível em: <https://periodicos.utfpr.edu.br/rebrapa/article/view/13560>. Acesso em: 24 fev. 2026.

MOHAMED, I. M.; ALRASHEID, A. A.; AYOUB, S. M. H. Phytochemical screening, assessment of biological activity and nutritional value of Sudanese *Hibiscus sabdariffa* L. seeds. **Plant Science Today**, v. 11, n.3, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.14719/pst.2934>. Acesso em: 12 ago. 2024.

MORADI-AFRAPOLI, F.; ASGHARI, B.; SAEIDNIA, S.; AJANI, Y.; MIRJANI, M.; MALMIR, M.; BAZAZ, R. D.; HADJIAKHOONDI, A.; SALEHI, P.; HAMBURGUER, M.; YASSA, N. In vitro α -glucosidase inhibitory activity of phenolic constituents from aerial parts of *Polygonum hyrcanicum*. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 20, p. 37, 2012. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1186/2008-2231-20-37>. Acesso em: 29 ago. 2024.

MUSHTAQ M.; AMIN, Q. A.; WANI, T. A.; HUSSAIN, S. Z.; BHAT, T. A.; PARVEEN, S.; CHAUDHARY, A. A.; AMALI, M.; QADRI, T.; AMIN, I. Cavitation-driven extraction: how ultrasound-induced acoustic cavitation maximizes bioactive compound recovery from *S. costus* roots. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 122, 2025. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2025.107643>. Acesso em: 22 mar. 2026.

NASCIMENTO, R.P.; SANTOS, B.L.; AMPARO, J.A.O.; SOARES, J.R.P.; DA SILVA, K.C.; SANTANA, M.R.; ALMEIDA, Á.M.A.N.; DA SILVA, V.D.A.; COSTA, M.D.F.D.; ULRICH, H.; MOURA-NETO, V.; LOPES, G. P. F.; COSTA, S. L. Neuroimmunomodulatory Properties of Flavonoids and Derivates: A Potential Action as Adjuvants for the Treatment of Glioblastoma. **Pharmaceutics**, v. 14, n.1, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14010116>. Acesso em: 05 ago. 2024.

NAVIDAD-MURRIETA, M. S.; LÓPEZ-MUÑOZ, H. A.; TORRES, L. M.; HIGUERA-CIAPARA, I.; VÁZQUEZ-LEPE, M.; GARCIA-RIVAS, J. L.; GARCIA-GAITÁN, B.; SÁYAGO-AYERDI, S. G.; LUNA-BÁRCENAS, G. In Vitro Study on the Effect of the Appropriate Encapsulating Agent for the Release of Phenolic Compounds from *Hibiscus sabdariffa* Linn Extracts. **ACS Food Science and Technology**, v. 3, p. 608–615, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/acsfoodscitech.2c00349>. Acesso em: 05 ago. 2024.

NAZIR, M.; HAQ, M. A.; SHERAZI, S. M. B.; NAZ, S.; MOBIN, L.; TSOUPTAS, A. Effects of Polyphenolic Extracts from Sumac, Pomegranate Peel, Indian Almond Leaves, Falsa, and Banana Bracts on Calcium Oxalate and Brushite Crystallization In Vitro. **Chemistry & Biodiversity**, v. 22, n. 7, 2025. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/cbdv.202500023>. Acesso em: 27 maio 2026.

NHON, H. T. N.; MY, N. T. D.; VI, V. N. T.; LIEN, P. T. K.; MINH, N. T. T.; DUY, L. N. D.; ANH, L. T. H.; DAO, D. T. A. Enhancement of extraction effectiveness and stability of anthocyanin from *Hibiscus sabdariffa* L. **Journal of Agriculture and Food Research**, v. 10, 2022. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2666154322001417>. Acesso em: 31 jul. 2024.

NURCHOLIS, W.; PUTRI, D. N. S.; HUSNAWATI, H.; AISYAH, S. I.; PRIOSOERYANTO, B. P. Total flavonoid content and antioxidant activity of ethanol and ethyl acetate extracts from accessions of *Amomum compactum* fruits. **Annals of Agricultural Sciences**, v. 66, n. 1, p. 58-62, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.aoas.2021.04.001>. Acesso em: 23 mar. 2024.

OANCEA, S. A review of the current knowledge of thermal stability of anthocyanins and approaches to their stabilization to heat. **Antioxidants**, v. 10, n. 9, p. 1337, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/antiox10091337>. Acesso em: 11 maio 2026.

OKE, O.E.; AKOSILE, O.A.; ONI, A. I.; OPOWOYE, I. O.; ISHOLA, C. A.; ADEBIYI, J. O.; ODEYEMI, A. J.; ADJEI-MENSAH, B.; UYANGA, V. A.; ABIOJA, M. O. Oxidative stress in poultry production. **Poultry Science**, v. 103, n. 9, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.psj.2024.104003>. Acesso em: 28 abr. 2025.

PARAÍSO, C. M.; DOS SANTOS, S. S.; CORREA, V. G.; MAGON, T.; PERALTA, R. M.; VISENTAINER, J. V.; MADRONA, G. S. Ultrasound assisted extraction of hibiscus (*Hibiscus sabdariffa* L.) bioactive compounds for application as potential functional ingredient. **Journal of food science and technology**, v. 56, n. 10, p. 4667–4677, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s13197-019-03919-y>. Acesso em: 24 mar. 2026.

PARK, N.Y.; CHO, S. D.; CHANG, M. S.; KIM, G. H. Optimization of the ultrasound-assisted extraction of flavonoids and the antioxidant activity of Ruby S apple peel using the response surface method. **Food Science and Biotechnology**, v. 31, p. 1667-1678, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10068-022-01150-8>. Acesso em: 24 mar. 2026.

PRADA-RAMÍREZ, H. A.; MONTES-TAMARA, J. P.; RICO-JIMÉNEZ, E. A.; FONSECA, J. C. Stability study through water activity measurements for dispensed powdered raw materials. **Journal of AOAC International**, v. 107, n. 3, p. 487–495, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/jaoacint/qsae005>. Acesso em: 16 mar. 2026.

PEREIRA, L V.; SALVADOR, M. R.; SILVA, B. S.; PINHEIRO-SANT'ANA, H. M.; LUCIA, C. M.; TEIXEIRA, R. D. B. L.; CARDOSO, L. M. Nutritional aspects of non-conventional edible plants from Brazil: Caruru (*Amaranthus spinosus* L) and trapoeraba (*Commelina benghalensis*). **Food Research International**, v. 166, 2023. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S096399692300128X>. Acesso em: 26 jul. 2024.

PERLUIGI, M.; DI DOMENICO, F.; BUTTERFIELD, D. A. Oxidative damage in neurodegeneration: roles in the pathogenesis and progression of Alzheimer disease. **Physiological Reviews**, v. 104, c. 1, p. 103-197, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1152/physrev.00030.2022>. Acesso em: 29 abr. 2025.

PEDRO, A. C.; GRANATO, D.; ROSSO, N. D. Extraction of anthocyanins and polyphenols from black rice (*Oryza sativa* L.) by modeling and assessing their reversibility and stability. **Food Chemistry**, v. 191, p. 12–20, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.02.045>. Acesso em: 29 ago. 2024.

PINELA, J.; PRIETO, M. A.; PEREIRA, E.; JABEUR, I.; BARREIRO, M. F.; BARROS, L.; FERREIRA, I. C. F. R. Optimization of heat- and ultrasound-assisted extraction of anthocyanins from *Hibiscus sabdariffa* calyces for natural food colorants. **Food Chemistry**, v. 275, p. 309–321, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.09.118>. Acesso em: 25 maio 2024.

POLAK, N.; KALISZ, S.; KRUSZEWSKI, B. High-Temperature Short-Time and Ultra-High-Temperature Processing of Juices, Nectars and Beverages: Influences on Enzyme, Microbial Inactivation and Retention of Bioactive Compounds. **Applied Sciences**, v. 14, n. 19, p. 8978, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/app14198978>. Acesso: 12 maio 2026.

RAKIĆ, V.; ULRICH, N. P. Influence of pH on color variation and stability of cyanidin and cyanidin 3-O- β -glucopyranoside in aqueous solution. **Journal of Food**, v.19, n.1, p.174–182, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/19476337.2021.1874539>. Acesso em: 12 maio 2026.

RANIERI, G. R.; MADEIRA, N. R.; SLATER, B.; MARCHESI, M. T.; OLIVEIRA, M. A. D.; BADUE, A. F. B.; MAUAD, T. Large-scale production of non-conventional edible plants for biodiverse school meals. **Frontiers in Nutrition**, v. 11, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fnut.2024.1282618>. Acesso em: 08 ago.2024.

RE, R.; PELLEGRINI, N.; PROTEGGENTE, A.; PANNALA, A.; YANG, M.; RICEEVANS, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 26, n. 9–10, p. 1231–1237, maio 1999. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00315-3). Acesso: 27 ago. 2024.

REMEDIÓ, L. N.; QUINAYÁ, C. P. Intelligent Packaging Systems with Anthocyanin: Influence of Different Polymers and Storage Conditions. **Polymers**, v. 16, n. 20, p. 2886, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/polym16202886>. Acesso: 12 maio 2026.

RIZKIYAH, D.N.; PUTRA, N.R.; IDHAM, Z.; AZIZ, A.H.A.; CHE YUNUS, M.A.; VEZA, I.; IRIANTO; CHINEDU MAMAH, S.; QOMARIYAH, L. Recovery of Anthocyanins from *Hibiscus sabdariffa* L. Using a Combination of Supercritical Carbon Dioxide Extraction and Subcritical Water Extraction. **Processes**, v. 11, n. 751, 2023. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2227-9717/11/3/751>. Acesso em: 16 jul. 2024.

RUMPF, J.; BURGER, R.; SCHULZE, M. Statistical evaluation of DPPH, ABTS, FRAP, and Folin-Ciocalteu assays to assess the antioxidant capacity of lignins. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 233, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.123470>. Acesso em: 24 mar. 2026.

SADOWSKA-BARTOSZ, I.; BARTOSZ, G. Antioxidant activity of anthocyanins and anthocyanidins: a critical review. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 25, n. 22,

p. 12001, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/ijms252212001>. Acesso em: 06 maio 2026.

SALAMI, S. O.; AFOLAYAN, A. J. Suitability of Roselle-*Hibiscus sabdariffa* L. as Raw Material for Soft Drink Production. **Journal of Food Quality**, v. 2020, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1155/2020/8864142>. Acesso em: 15 jul. 2024.

SALAMI, S. O.; AFOLAYAN, A. J. Evaluation of nutritional and elemental compositions of green and red cultivars of roselle: *Hibiscus sabdariffa* L. **Scientific Reports**, v. 11, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41598-020-80433-8>. Acesso em: 10 fev. 2026.

SANTOS, E. M. C.; GOMES, D. L.; CARDOSO, R. G.; MONTEIRO, D. B.; NOLASCO, L. F. C.; SANTOS, G. M. C.; MELO, D. B. C.; ALBUQUERQUE, U. P.; SILVA, R. R. V.; MEDEIROS, P. M. Challenges in the Popularization of Wild Food Plants in Brazil: An Examination from the Perspectives of Consumer Science. **International Journal of Gastronomy and Food Science**, In press, Journal Pre-proof, 2024. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1878450X24001227>. Acesso em: 26 jul. 2024.

SANOU, A.; KONATÉ, K.; KABKDÉ, K.; DAKUYO, R.; BAZIÉ, D.; HEMAYORO, S.; DICKO, M. H. Modelling and optimisation of ultrasound-assisted extraction of roselle phenolic compounds using the surface response method. **Scientific Reports**, v. 13, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41598-023-27434-5>. Acesso em: 08 ago. 2024.

ŞENTÜRK, M.; AŞKIN ÇELİK, T.; ASLANTÜRK, Ö. S. Analysis of the composition and contaminants in packaged mixed herbal tea blends from Aydın Province. **ISPEC Journal of Agricultural Sciences**, v. 9, n. 1, p. 222–233, 2025. Disponível em: <https://doi.org/10.5281/zenodo.14649437>. Acesso em: 16 mar. 2026.

SHEN, L.; PANG, S.; ZHONG, M.; SUN, Y.; QAYUM, A.; LIU, Y.; RASHID, A.; XU, B.; LIANG, Q.; MA, H.; REN, X. A comprehensive review of ultrasonic assisted extraction (UAE) for bioactive components: Principles, advantages, equipment, and combined technologies. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 101, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2023.106646>. Acesso em: 07 ago. 2024.

SIDDIQUI, S. A.; REDHA, A. A.; SALAUDDIN, M.; HARAHAP, I. A.; RUPASINGHE, H. P. V. Factors Affecting the Extraction of (Poly)Phenols from Natural Resources Using Deep Eutectic Solvents Combined with Ultrasound-Assisted Extraction. **Critical Reviews in Analytical Chemistry**, p. 1-22, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/10408347.2023.2266846>. Acesso em: 12 ago. 2024.

SILVA, L. C.; KUPSKI, L.; SOUZA, S. B. S.; BARROS, B. C. B. Influence of fermentation conditions by *Rhizopus oryzae* on the release of phenolic compounds, composition, and properties of brewer's spent grain. **Food Bioscience**, v. 61, 2024. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S2212429224010216>. Acesso em: 29 jul. 2024.

SOARES, E. N.; SILVA, I. S.; SANTOS, R. G. B.; NOGUEIRA, E. T. S.; BARROS, A. P. A. Plantas alimentícias não convencionais (PANC's) com potencial bioativo na elaboração de

bebidas: revisão de literatura. **Revista Semiárido De Visu**, v. 12, n. 2, p. 606-637, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.31416/rsdv.v12i2.864>. Acesso em: 09 ago. 2024.

SOUZA, P. G.; AZEREDO, D. R. P.; SILVA, T. T. C.; CARNEIRO, C. S.; TEODORO, A. J.; AYRES, E. M. M. Food neophobia, risk perception and attitudes associations of Brazilian consumers towards non-conventional edible plants and research on sale promotional strategies. **Food Research International**, v. 167, 2023. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0963996923001734>. Acesso em: 26 jul. 2024.

STELLA, T. R.; PARAÍSO, C. M.; PIZZO, J. S.; VISENTAINER, J. V.; SANTOS, S. S.; MADRONA, G. S. Hibiscus (*Hibiscus sabdariffa* L.) extracts freeze-dried and encapsulated by ionic gelation: an approach for yogurt application. **Journal of Food Measurement and Characterization**, v. 17, p. 2630-2638, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11694-023-01818-7>. Acesso em: 12 ago. 2024.

SUN, S.; LIU, Z.; LIN, M.; GAO, N.; WANG, X. Polyphenols in health and food processing: antibacterial, anti-inflammatory, and antioxidant insights. **Frontiers in Nutrition**, v. 11, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fnut.2024.1456730>. Acesso em: 08 abr. 2025.

SUN, Y.; ALSEEKH, S.; FERNIE, A. R. Plant secondary metabolic responses to global climate change: A meta-analysis in medicinal and aromatic plants. **Global Change Biology**, v. 29, n. 2, p. 477-504. 2022. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/gcb.16484>. Acesso em: 02 ago. 2024.

SWAINT, T.; HILLIS, W. E. The phenolic constituents of *Prunus domestica* – The quantitative analysis of phenolic constituents. **Journal Science Food Agriculture**, v.135, p. 135-144, London, 2000. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/jsfa.2740100110>. Acesso em: 27 ago. 2024.

TABELA BRASILEIRA DE COMPOSIÇÃO DE ALIMENTOS. Universidade de São Paulo. **Food Research Center**. Versão 7.2. São Paulo, 2023. Disponível em: <http://www.fcf.usp.br/tbca>. Acesso em: 27 ago. 2024.

TAMASEBI, A.; ASGARI, A.; BAKHSHI, S.; SHAHRIARI, A. G.; LEE, C. W. Ultrasound application for the decontamination of roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) seeds: Influence on fungal inhibition and seed quality. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 95, 2023. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1350417723001165>. Acesso em: 31 jul. 2024.

TAVAKOLIFAR, F.; GIVIANRAD, M. H.; SABER-TEHRANI, M. Extraction of anthocyanins from *Hibiscus sabdariffa* and assessment of its antioxidant properties in extra virgin olive oil. **Fresenius Environmental Bulletin**, v. 25, n. 9, p. 3709-3713, 2016. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/311433430_Extraction_of_anthocyanins_from_Hibiscus_sabdariffa_and_assessment_of_its_antioxidant_properties_in_extra_virgin_olive_oil. Acesso em: 16 jul. 2024.

TEIXEIRA, F.; SILVA, A. M.; SUT, S.; DALL'ACQUA, S.; RAMOS, O. L.; RIBEIRO, A. B.; FERRAZ, R.; DELERUE-MATOS, C.; RODRIGUES, F. Ultrasound-assisted extraction

of bioactive compounds from goji berries: Optimization, bioactivity, and intestinal permeability assessment. **Food Research International**, v. 188, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2024.114502>. Acesso em: 24 mar. 2026.

TOBOLKA, A.; ŠKORPILOVÁ, T.; BEŇO, F.; PODSKALSKÁ, T.; RAJCHL, A. Effect of Various Carbohydrates in Aqueous Solutions on Color Stability and Degradation Kinetics of Selected Anthocyanins During Storage. **Foods**, v. 13, n. 22, p. 3628, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/foods13223628>. Acesso em: 12 maio 2026.

TORRES, T. M. S.; ÁLVAREZ-RIVERA, G.; MAZZUTTI, S.; SÁNCHEZ-MARTÍNEZ, J. D.; CIFUENTES, A.; IBÁÑEZ, E.; FERREIRA, S. R. S. Neuroprotective potential of extracts from leaves of ora-pro-nobis (*Pereskia aculeata*) recovered by clean compressed fluids. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 179, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2021.105390>. Acesso em: 08 ago. 2024.

VICTÓRIO, C. P.; ALVES, G. T.; SIMAS, N. K.; ARRUDA, R. C. O. Epicuticular wax of red mangrove leaves from an urban bay: Chemical composition and micromorphology. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 119, 2025. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.bse.2024.104942>. Acesso em: 17 mar. 2026

VILLALOBOS-VEGA, M. J.; RODRÍGUEZ-RODRÍGUEZ, G.; ARMIJO-MONTES, O.; JIMÉNEZ-BONILLA, P.; ÁLVAREZ-VALVERDE, V. Optimization of the Extraction of Antioxidant Compounds from Roselle Hibiscus Calyxes (*Hibiscus sabdariffa*), as a Source of Nutraceutical Beverages. **Molecules**, v. 28, n. 6, p. 2628, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/molecules28062628>. Acesso em: 05 mar. 2026.

VINCI, R. L.; ARENA, K.; RIGANO, F.; CACCIOLA, F.; DUGO, P.; MONDELLO, L. Prediction of retention data of phenolic compounds by quantitative structure retention relationship models under reverse-phase liquid chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 1730, 2024. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S002196732400520X>. Acesso em: 29 jul. 2024.

VOLK, G. M.; LYNCH-HOLM, V. J.; KOSTMAN, T. A.; GOSS, L. J.; FRANCESCHI, V. R. The Role of Druse and Raphide Calcium Oxalate Crystals in Tissue Calcium Regulation in *Pistia stratiotes* Leaves. **Plant Biology**, v. 4, n. 1, p. 34-45, 2002. Disponível em: <https://doi.org/10.1055/s-2002-20434>. Acesso em: 27 maio 2026.

WANG, J.; ZHAO, Y.; SUN, B.; YANG, Y.; WANG, S.; FENG, Z.; LI, J..The structure of anthocyanins and the copigmentation by common micromolecular copigments: A review. **Food Research International**, v. 176, p. 113837, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2023.113837>. Acesso em: 23 mar. 2026.

WILLIAMS, L. A. D.; VASQUEZ, E. A.; MILAN, P. P.; ZEBITZ, C.; KRAUS, W. In Vitro Anti-Inflammatory and Antimicrobial Activities of Phenylpropanoids from *Piper betle* L. (Piperaceae). **Natural Products in New Millennium: Prospects and Industrial Application**, v. 47, 2002. Disponível em: https://doi.org/10.1007/978-94-015-9876-7_22. Acesso em: 29 ago. 2024.

WU, C.; MA, B.; McCLEMENTS, D. J.; LAÍ, Z.; HOU, J.; WANG, S.; WANG, X.; QIU, Y.; WU, F.; FANG, G.; LIU, X.; WANG, P. Fractionation of phenolic compounds from hickory by-products using solid phase extraction-sonication: Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activity. **Food Chemistry**, v. 460, n. 2, 2024. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0308814624022830>. Acesso em: 28 jul. 2024.

XIANG, Y.; XIANG, M.; MAO, Y.; HUANG, L.; HE, Q.; DONG, Y. Insights into structure-antioxidant activity relationships of polyphenol-phospholipid complexes: The effect of hydrogen bonds formed by phenolic hydroxyl groups. **Food Chemistry**, v. 485, p. 144471, 2025. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2025.144471> Acesso em: 23/03/2026.

XIANG, Z.; LIU, L.; XU, Z.; KONG, Q.; FENG, S.; CHEN, T.; ZHOU, L.; YANG, H.; XIAO, Y.; DING, C. Solvent Effects on the Phenolic Compounds and Antioxidant Activity Associated with Camellia polyodonta Flower Extracts. **ACS Omega**, v. 9, n. 25, p. 27192-27203, jun. 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/acsomega.4c01321>. Acesso em: 06 maio 2026.

XUE, F.; LI, C Effects of ultrasound assisted cell wall disruption on physicochemical properties of camellia bee pollen protein isolates. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 92, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2022.106249>. Acesso em: 18 mar. 2026.

XUE, H. K.; ZHAO, J.; WANG, Y.; SHI, Z.; XIE, K.; LIAO, X.; TAN, J. Factors affecting the stability of anthocyanins and strategies for improving their stability: a review. **Food Chemistry**, v. 24, p. 101883, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.fochx.2024.101883>. Acesso em: 06 maio 2026.

YAGI, S.; UBA, A. I.; SINAN, K. I.; PIATTI, D.; SAGRATINI, G.; CAPIROLI, G.; ELTIGANI, S. M.; LAZAROVA, I.; ZENGİN, G Comparative Study on the Chemical Profile, Antioxidant Activity, and Enzyme Inhibition Capacity of Red and White *Hibiscus sabdariffa* Variety Calyces. **ACS Omega**, v. 8, n. 45, p. 42511–42521, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/acsomega.3c05217>. Acesso em: 18 mar. 2026.

YAN, S.; LI, Y.; SI, D.; ZHANG, X. Guideline for extraction, qualitative, quantitative, and stability analysis of anthocyanins. **eFood**, v. 4, n. 1, p. e59, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/efd2.59>. Acesso em: 06 maio 2026.

YASMIN, R.; GOGOI, S.; BORA, J.; CHAKRABORTY, A.; DEY, S.; GHAZIRI, G.; BHATTACHARJEE, S.; SINGH, L. H. Novel Insight into the Cellular and Molecular Signalling Pathways on Cancer Preventing Effects of *Hibiscus sabdariffa*: A Review. **Journal of Cancer Prevention**, v. 28, n.3, p. 77-92. 2023. Disponível em: 10.15430/JCP.2023.28.3.77. Acesso em: 22 ago. 2024.

ZHANG, L.; WANG, Y.; CAO, Y.; WANG, F.; LI, F. Review: enhancing the bioavailability and stability of anthocyanins for the prevention and treatment of central nervous system-related diseases. **Foods**, v. 14, n. 14, p. 2420, 2025. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/foods14142420>. Acesso em: 06 maio 2026.

ZHANG, M.; LI, Y.; SHUAI, X.X.; QIAO, J.; WEI, C.B.; MA, F.Y.; ZHANG, Y.H.; DU, L.Q. Ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from macadamia (*Macadamia integrifolia*) green peel: Purification, identification and antioxidant activities. **LWT**, v. 189, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2023.115552>. Acesso em: 23 mar. 2026.

ZHISHEN, J., MENGCHENG, T., JIANMING, W. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. **Food Chemistry**, v. 64, n. 4, p. 555-559, 1999. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(98\)00102-2](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(98)00102-2). Acesso em: 28 ago. 2024.

ZHOU, M.; MA, J.; KANG, M.; TANG, W.; XIA, S.; YIN, J.; YIN, Y. Flavonoids, gut microbiota, and host lipid metabolism. **Engineering in Life Sciences**, v. 24, n. 5. 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/elsc.202300065>. Acesso em: 14 jan. 2025.

ZHU, B.; ZHONG, Y.; WANG, D.; DENG, Y. Active and Intelligent Biodegradable Packaging Based on Anthocyanins for Preserving and Monitoring Protein-Rich Foods. **Foods**, v. 12, n. 24, p. 4491, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/foods12244491>. Acesso em: 12 maio 2026.