

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE FARMÁCIA
TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO**

Victorya Benes Raabe

**EXTRAÇÃO DE FLAVONOIDES COM ÁGUA NO ESTADO
SUBCRÍTICO: UMA ABORDAGEM SUSTENTÁVEL**

Artigo de revisão

PORTO ALEGRE

2021

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE FARMÁCIA
TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

Victorya Benes Raabe

EXTRAÇÃO DE FLAVONOIDES COM ÁGUA NO ESTADO
SUBCRÍTICO: UMA ABORDAGEM SUSTENTÁVEL

Trabalho de Conclusão de Curso sob forma de artigo apresentada como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Farmácia ao Curso de Farmácia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Valquiria Linck Bassani

Coorientadora: Prof^a. Dr^a. Sara Elis Bianchi

PORTO ALEGRE

2021

*Dedico este trabalho aos meus pais,
Alex e Patricia, os quais me
ensinaram a sempre seguir em
frente, fazendo
eu chegar aonde estou
e a ser quem sou.*

Agradecimentos

Estes parágrafos não irão contemplar todos que fizeram parte da minha construção durante esses 5 anos. A palavra que enche meu coração nesse momento único é gratidão a todos que contribuíram para meu desenvolvimento acadêmico e, mais do que isso, aos valores que pude colher de cada um.

Agradeço a Deus pela oportunidade de ter saúde e capacidade de me desenvolver intelectualmente em um país que não dá oportunidade para todos. Espero que um dia possa retribuir esse privilégio com muito trabalho e dedicação aos que precisarem dos meus esforços.

Aos meus pais, Alex e Patricia, pela vida e por acreditarem em mim mais do que eu mesma. Peço-vos desculpas pelos momentos de ausência e para sempre vos amarei.

Aos meus avós, Marlene, Noemia e Miroslav Josef, pelos ensinamentos e inspiração.

Aos meus irmãos, Gregory e Victor, e à minha irmã (filha de outra mãe – mais conhecida como prima), Karol, pelo companheirismo.

À minha dinda, Alessandra, pela influência por ser a primeira mulher formada na família.

Ao meu namorado, Leonardo, pelo amor e apoio.

À minha sogra, Viviane, pela essência.

À Secretaria do Curso, principalmente à Karen Lopes por sempre ser solícita e cumprir com esmero suas funções e à Clarice Neckel pela cooperação.

Aos meus queridos amigos, colegas e professores que estiveram presentes nesse percurso. Especialmente à minha melhor amiga, Gabriela, pela parceria.

Agradeço à minha orientadora Prof^ª. Dr^ª. Valquiria Linck Bassani, pela sabedoria e confiança depositada em mim para a realização deste trabalho.

Agradeço à minha coorientadora Prof^ª. Dr^ª. Sara Elis Bianchi, pela sabedoria com que me guiou nesta trajetória e pela oportunidade de vivenciar a ciência pela última vez durante a graduação.

Aos que não foram diretamente contemplados em minhas breves palavras, desejo-lhes sucesso e que cada percalço se torne aprendizado.

*“Seja a mudança que
você quer ver no mundo”.*

(Mahatma Gandhi)

APRESENTAÇÃO

O formato deste trabalho apresentar-se-á como artigo científico sob a modalidade de revisão com o intuito de ser enviado para publicação na Revista Fitos (Farmanguinhos/Fiocruz), que é um periódico científico interdisciplinar, de publicação trimestral, cujo objetivo é divulgar resultados científicos originais sobre pesquisa, desenvolvimento e inovação em biodiversidade e saúde.

Este trabalho tem como objetivo oferecer um panorama sobre a utilização da técnica de extração por água no estado subcrítico aplicada à flavonoides, com vistas a subsidiar a pesquisa e desenvolvimento na área de plantas medicinais e produtos fitoterápicos baseadas na preservação do meio ambiente. Extrações de materiais vegetais dependem de muitos fatores que serão abordados na revisão seguindo a realização lógica da metodologia a partir dos procedimentos na matéria-prima vegetal bruta, escolha das condições extrativas e análise dos extratos obtidos. Vantagens e desvantagens da técnica serão destacadas por meio de uma análise crítica dos resultados encontrados na literatura restritos a flavonoides, extração por água no estado subcrítico e vinculação de todos os tópicos de interesse.

Resumo

A extração por água no estado subcrítico é uma técnica considerada sustentável por não necessitar de solventes orgânicos, sendo capaz de extrair flavonoides presentes em diversas matrizes vegetais. Os principais parâmetros que influenciam a eficiência de extração são a temperatura, tempo de extração, taxas de fluxo ou agitação e adição de modificadores/aditivos. A presente revisão também ressalta outros fatores que podem influenciar na quantidade total de flavonoides obtida como condições referentes às amostras vegetais incluindo período de colheita, pré-tratamento e armazenamento, além do processamento dos extratos para análise. Entre esses diferentes parâmetros estudados, a extração depende primordialmente da temperatura em consonância com as estruturas flavonoídicas de interesse. Assim, a partir de dados da literatura científica, buscou-se por fatores que causassem alterações na quantificação de flavonoides extraídos por água no estado subcrítico e formas de aumentar a sua eficiência.

Palavras-chave: extração por água quente pressurizada, extração por água no estado subcrítico, flavonoides.

Abstract

The subcritical water extraction is a sustainable technique that does not require organic solvents, able to extract flavonoids present in various plant matrices. The main parameters influencing the extraction efficiency are temperature, extraction time, flow rates or agitation and addition of modifiers / additives. This review also highlights other factors that may apply to the total amount of flavonoids obtained as plants samples conditions, including harvest period, pre-treatment and storage, in addition the processing of extracts for analysis. Among these different parameters studied, extraction depends primarily on temperature in line with the flavonoid structures of interest. Thus, based on data from the scientific literature, we searched for factors that caused changes in the quantification of flavonoids extracted by subcritical water and ways to increase their efficiency.

Keywords: pressurized hot water extraction, subcritical water extraction, flavonoids.

Sumário

AGRADECIMENTOS	3
APRESENTAÇÃO	5
RESUMO	6
ABSTRACT	7
INTRODUÇÃO	13
METODOLOGIA	14
RESULTADOS E DISCUSSÃO	15
Flavonoides	16
Extração por água no estado subcrítico	18
Análise dos extratos.....	26
CONSIDERAÇÕES FINAIS	34
REFERÊNCIAS	35

Introdução

Flavonoides são polifenóis oriundos do metabolismo secundário de plantas, fornecendo-lhes características distintas como cor, sabor e proteção, desempenhando atividades biológicas essenciais na interação com o meio ambiente (1). A maioria dos representantes da classe dos flavonoides possui 15 átomos de carbono em seu núcleo fundamental, organizados em dois anéis aromáticos ligados por um espaçador de 3 carbonos, sendo a classificação dos derivados subdividida de acordo com a posição da ligação ao benzopirano (2,3). Entre as classes de flavonoides aqui destacamos as flavanonas, flavanóis, flavonas, flavonóis e isoflavonas. Além disso, os flavonoides ocorrem na forma de agliconas ou conjugados com açúcares ou ácidos orgânicos (3,4). Suas atividades biológicas são amplamente descritas na literatura, sendo frequentemente referidas as atividades anti-inflamatória, antiviral, antibacteriana, anticâncer, neuroprotetora, cardioprotetora, antidiabética e antioxidante, entre outras (1,5). A classe apresenta cerca de 9.000 moléculas identificadas nas mais diversas fontes vegetais com uma gama de interações biológicas benéficas à saúde o que representa uma fonte para desenvolvimento e comercialização de produtos pelas indústrias de alimentos (6), cosméticos (7), medicamentos (8) e nutracêuticos (9,10).

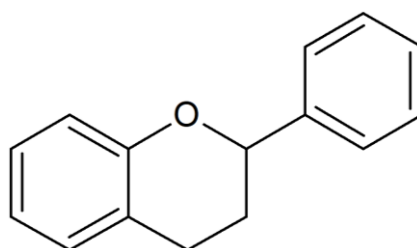


Figura 1. Estrutura fundamental de flavonoides.

A obtenção de flavonoides a partir de espécies vegetais envolve técnicas extrativas que podem ser convencionais (como maceração, percolação, hidrodestilação e extração por Soxhlet), ou mais recentes (como extração assistida por microondas, extração assistida por ultrassom, extração por líquido pressurizado e extração por fluido supercrítico) (10). Entre as técnicas extrativas mais recentes, destaca-se a extração por água no estado subcrítico, também denominada extração por água quente pressurizada. Essa técnica é considerada mais sustentável e vantajosa por ser um processo rápido e denota uma alternativa ao uso de solventes orgânicos. A

extração por água no estado subcrítico utiliza a água como agente extrator entre seu ponto de ebulição (100 °C a 0,1 MPa) e abaixo do seu ponto crítico (374 °C a 22,1 MPa). Essas condições mantêm a água no estado líquido, alterando suas propriedades químicas, físicas e físico-químicas, tais como a diminuição da polaridade, da constante dielétrica, da viscosidade e da tensão superficial, além de melhorar o coeficiente de difusão do solvente com o aumento da temperatura (11). A água numa temperatura de 250 °C e pressão de 5 MPa passa a desempenhar características semelhantes a solventes orgânicos como metanol e etanol a 25°C (12) e, assim, possibilita a extração de moléculas de diferentes polaridades a partir das variações nas condições extrativas impostas (11).

A principal desvantagem desse método extrativo é o emprego de altas temperaturas as quais promovem reações indesejadas dos compostos podendo degradá-los e, assim, reduzir a eficiência de extração de compostos de interesse (6). Desta forma este método de extração mostra-se aplicável na extração de constituintes bioativos termoestáveis e a busca de meios para contornar esta limitação ainda representam um grande desafio. Cabe observar, no entanto, que por tratar-se de extração que pode ocorrer num tempo curto, alguns constituintes podem ser preservados, apesar de sua termolabilidade. Assim, testes preliminares são necessários para definir os parâmetros de extração tais como tempo de extração, temperatura e pressão, bem como a relação planta:solvente, com monitoramento da eficiência de extração e preservação dos constituintes.

Metodologia

A pesquisa bibliográfica foi realizada por meio de uma revisão da literatura sobre flavonoides extraídos por água no estado subcrítico. Os dados para a revisão foram obtidos utilizando o *Web of Science* acessado no portal de periódicos da CAPES por meio da Comunidade Acadêmica Federada (CAFe) (<https://www-periodicos-capes-gov-br.ez45.periodicos.capes.gov.br/index.php?>). Os termos de busca utilizados foram “flavonoid*”, “*pressurized hot water extraction*”, “*subcritical water extraction*” e “*superheated water extraction*”. Como resultado, 269 referências científicas foram obtidas, das quais excluí-se os artigos de revisão, as patentes e os artigos que não relacionassem a extração de flavonoides pela técnica de extração por água no estado subcrítico em plantas, resultando em 198 estudos. Desses estudos,

após leitura, 90 artigos foram excluídos por não abordarem diretamente a extração de flavonoides por água no estado subcrítico ou não apresentarem a quantificação desses flavonoides. Assim, um total de 108 estudos foram analisados e tabelados com as informações consideradas relevantes como parâmetros relativos à matéria-prima, técnica extrativa e quantificação de flavonoides (Figura 1).

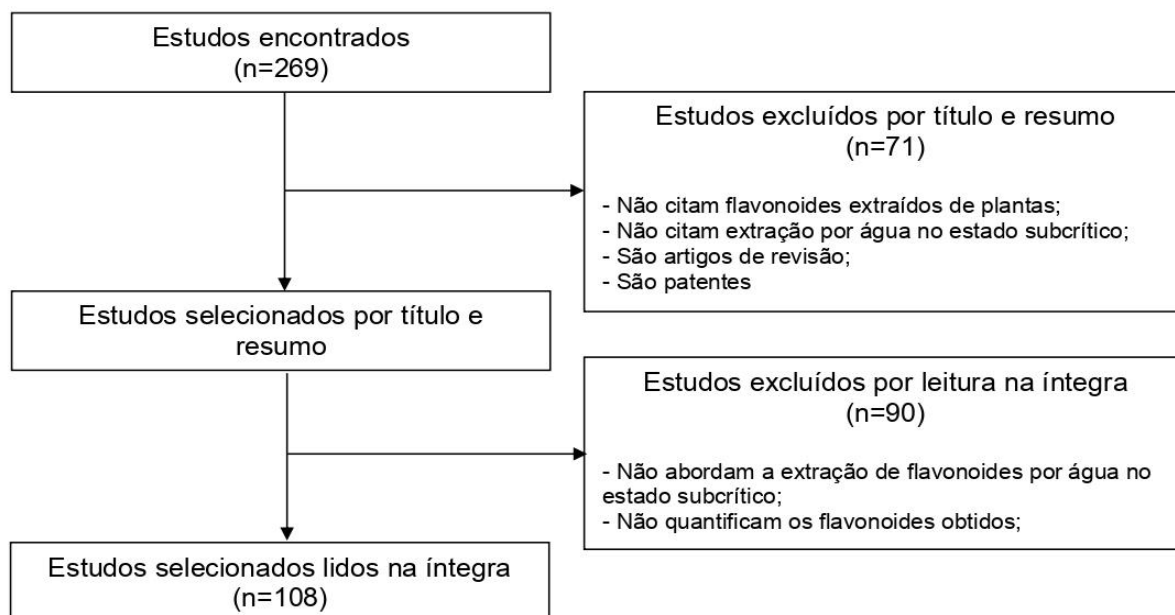


Figura 2. Fluxograma da seleção dos estudos para flavonoides e extração por água no estado subcrítico.

Resultados e discussão

A extração por água no estado subcrítico aplicada a flavonoides vem ganhando visibilidade. Considerando todos os estudos encontrados, o ano de maior número de publicações foi em 2017 (22), seguido por 2020 (20), como mostrado na figura 2. Esse fenômeno pode estar relacionado à crescente tendência fundamentada na busca por alternativas mais sustentáveis, incluindo o aprimoramento das técnicas extrativas (13).

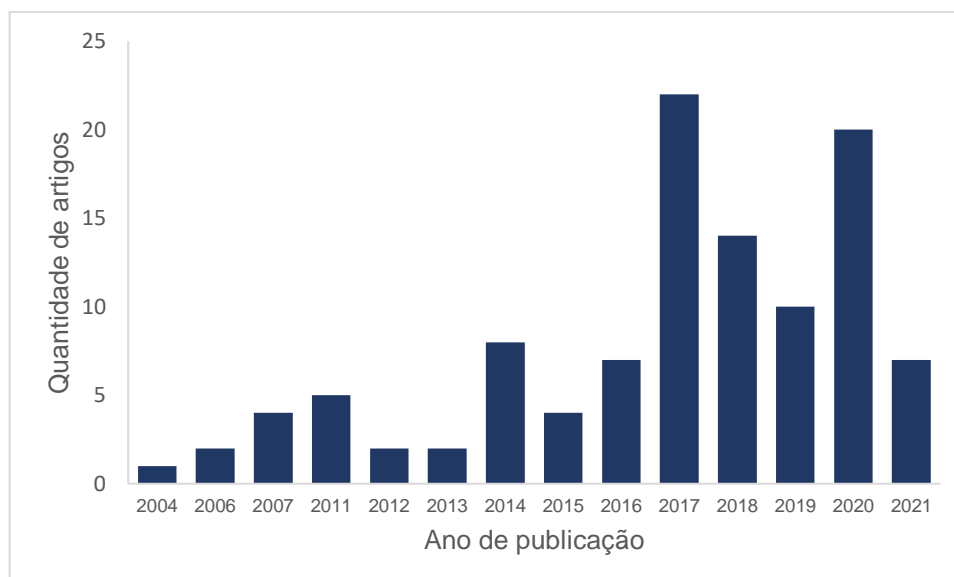


Figura 3. Quantidade de artigos científicos sobre a extração com água no estado subcrítico de flavonoides de acordo com o ano de publicação.

Flavonoides

A quantidade de flavonoides presente nas plantas é diretamente influenciada pela natureza de cada espécime, condições ambientais e ciclo de desenvolvimento, podendo haver diferenças significativas em um mesmo exemplar considerando o estresse ambiental sofrido e sazonalidade da colheita (14). Nos artigos selecionados cerca de 78 espécies vegetais foram utilizadas para a quantificação e identificação de uma grande variabilidade de flavonoides. As partes das plantas escolhidas para extração compreenderam raízes, caules, folhas, flores, frutos, polpa, sementes, brotos e subprodutos. Dentre as investigações da variação de flavonoides nas diferentes partes de uma mesma espécie, destacam-se os estudos das cascas e sementes de *Vitis vinifera* L. (15); cascas, sementes e polpa de diversas frutas (16); caules, folhas e frutos de *Aronia melanocarpa* (17); cascas e polpa de *Allium cepa* L. (18); e cascas e polpa de *Ficus carica* (19). Os resultados mostram que sementes de *Vitis vinifera* L. apresentam maiores quantidades individuais de catequina e derivados, enquanto que as cascas apresentam quercetina e canferol. A jaca, o abacaxi, a lichia, a banana e a manga da variedade amrapali tem maior teor de flavonoides totais nas cascas, enquanto que o mamão e as variedades de manga misribhog, harivangha e langra, nas sementes. A *Aronia melanocarpa* por sua vez, apresenta maiores quantidade de

quercetina e quercetina 3-glicosídeo nas cascas; e *Ficus carica* exibe maior teor de flavonoides totais nas cascas.

Outro ponto a ser destacado é a variação qualitativa e quantitativa dos flavonoides em amostras vegetais coletadas em diferentes épocas do ano. Hohnová, Šalplachta e Karásek (2017) investigaram essa variável em galhos de *Sambucus nigra* L. coletadas durante o período vegetativo, nos meses de setembro a dezembro, em condições extrativas otimizadas (15 MPa, 100 °C, 1 × 5 min, tamanho de partícula de 4 mm), na região de Hustopeče, República Tcheca. Verificou-se que o conteúdo de rutina variou de 12,5 mg/kg da planta seca em setembro para 108 mg/kg da planta seca em dezembro, enquanto a quercetina se manteve quase constante durante todo o período analisado. A maior concentração de flavonoides nas plantas numa determinada temporada parece não abranger um padrão entre diferentes espécies, ou seja, é necessário averiguar a estação ideal de colheita e os constituintes de interesse nas diferentes partes da planta (14). Dentre os papéis da produção de flavonoides está a proteção da planta frente ao estresse oxidativo. Neste caso, a exposição a diferentes tipos de radiação gera acúmulo desses metabólitos nas plantas, o qual depende do ciclo de desenvolvimento da planta (21).

Cabe também destacar que, muitos dos estudos selecionados relatam a utilização de subprodutos industriais como substrato para a extração de flavonoides visando valorizar o seu aproveitamento (15,22,31–35,23–30). Neste caso, mesmo não podendo controlar os parâmetros inerentes à matéria-prima, aumentam a visão da circularidade produtiva instigando a busca por alternativas de reaproveitamento.

Além das considerações referentes ao plantio e colheita, as extrações geralmente envolvem um pré-tratamento da amostra focado em melhorar o desempenho e evitar perdas eventuais de metabólitos. Dos estudos que realizaram a quantificação do teor de umidade e do tamanho de partícula, foram observadas variações entre 4% a 18% e 0,0005 mm a 2 mm, respectivamente. Entre os métodos de secagem abordados nos artigos foram encontrados a secagem em condições ambientais, a liofilização, sob fluxo de ar quente, em estufa, à sombra, com circulação de ar, em coifa, ao sol e em forno (com variações da temperatura entre 25 e 105°C e períodos entre 1 e 30 dias). Luque-Rodríguez, Luque De Castro e Pérez-Juan (2007) realizaram a extração com água no estado subcrítico para a obtenção de flavonoides a partir de cascas de uva oriundas da indústria vinífera. A matéria prima foi previamente tratada nas seguintes condições: secagem a 40 °C por 24 h e moagem;

secagem a 40 °C, sem moagem; apenas moagem; e casca *in natura*. Os melhores resultados obtidos na extração de flavonoides foram obtidos a partir das cascas secas e moídas. Apesar dos resultados obtidos, existem estudos na literatura divergentes sobre o tema, sugerindo que o maior teor de umidade nas amostras brutas fornece melhores rendimentos de extração de polifenóis do que amostras secas (36).

Com relação ao tamanho de partícula, é inquestionável que a cominuição gera aumento da superfície de contato entre a amostra e o agente extrator, influenciando a cinética de extração. Entretanto, a pulverização demasiada pode ocasionar aglomeração das partículas, prejudicando o processo extrativo (36). Por isso, muitos dos estudos analisados relatam a adição de componentes que visam manter o pó homogêneo e não compactado na célula de extração, tais como esferas de vidro (20,22,37), terra de diatomácea (26,38,47,48,39–46), areia (49,50), areia do mar (51–54) e areia de quartzo (23,25) ou, ainda, o emprego de agitação (16,28,62–71,29,72–78,55–61). Song e colaboradores (2018) verificaram a influência da variação no tamanho de partícula em três faixas (<100 µm, 100–200 µm e 1 cm) sobre a eficiência de extração concluíram que o menor tamanho de partícula aumentou significativamente a eficiência extrativa de luteolina e conteúdo fenólico total. Outro estudo verificou ainda a influência da proporção entre cascas de cebola e terra de diatomáceas. As proporções 0,5:3,5 a 2,0:2,0 foram testadas, sendo a melhor condição a 1,5:2,5. Os autores ressaltam, adicionalmente, a importância da homogeneidade entre o material inerte e a amostra (48). Outros procedimentos como extração em Soxhlet (com n-hexano) (74,75,79,80), refluxo (com etanol) (81) e extração por dióxido de carbono supercrítico (82) também foram abordagens relatadas para algumas espécies vegetais estudadas visando à remoção da gordura, desativação enzimática e remoção de componentes de interferência.

Extração por água no estado subcrítico

Um dos aspectos que faz esta técnica de extração uma alternativa mais sustentável do que outras convencionais é o uso de água como agente extrator. A água é amplamente utilizada, sendo considerada atóxica, estável, não reativa, não inflamável, inócua e barata se comparada a outros solventes. Dentre as características que propiciam sua grande aplicabilidade na técnica, destacam-se a

possibilidade do aumento da temperatura e pressão e as conseqüentes alterações em suas propriedades físico-químicas, diminuindo a constante dielétrica, a tensão superficial e a viscosidade (83). Como qualquer técnica, existem vantagens como tempos de extração mais curtos, melhora da molhabilidade da matriz, da difusão do analito, da cinética de transferência de massa e da solubilidade de compostos mais apolares, e desvantagens como redução da seletividade, degradação de compostos termolábeis e propensão a reações químicas indesejadas que podem gerar compostos tóxicos (83). A eficiência de extração depende da solubilidade, da transferência de massa e do efeito de matriz que podem ser modificados pelas variações no tempo de extração, vazão, adição de modificadores e, principalmente, pela temperatura (12).

A figura 3 mostra alguns dos solventes utilizados nos estudos relativos ao método, sendo a água pura a mais empregada (81,5%). A água utilizada na extração deve ser previamente tratada para não gerar interferência pela presença de constituintes dissolvidos ou danificar os equipamentos por corrosão oxidativa. A purificação requerida pode ser realizada por filtração, destilação e por banho ultrassônico por pelo menos 60 minutos ou purga com gás inerte para remoção de gases dissolvidos (12,36). O etanol também foi bastante empregado como solvente e/ou cossolvente variando a concentração de 10 a 80%, além do glicerol e modificadores de pH como ácido clorídrico, ácido acético e ácido tartárico.

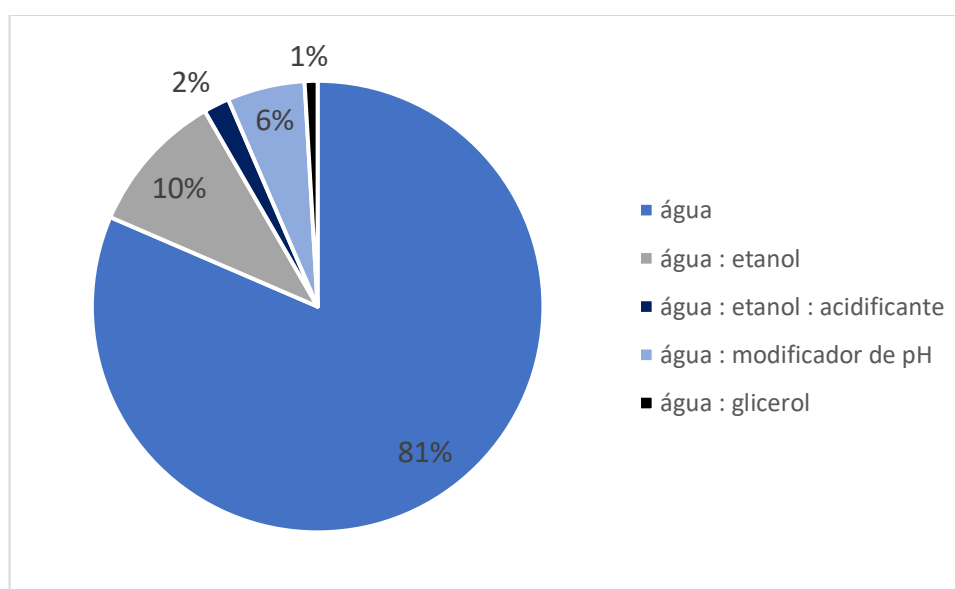


Figura 4. Solventes utilizados nas extrações por água no estado subcrítico.

Adicionalmente, alterações de pH e uso de cossolventes foram propostos com a finalidade de melhorar as condições para obtenção dos flavonoides. Um dos estudos investigou a extração com água no estado subcrítico de cascas de kiwis verdes em sua fase madura em pH 2,0, 3,75 e 5,5 (84). Já outro estudo realizou seus experimentos em raízes de alcaçuz chinês extraídos sob variação de pH 3,0 a 11,0 (72). Os resultados demonstraram que as melhores condições de extração foram em pH 2,0 e 8,0, respectivamente. Apesar de resultados divergentes, ambos demonstram que diferentes valores de pH podem afetar significativamente a eficiência extrativa da molécula alvo. Srinivas e colaboradores (2011) estudaram a ausência e o emprego de diferentes acidificantes (pH de 2,5) sobre a eficiência de extração. Os acidificantes empregados foram os ácidos fórmico, acético, cítrico e tartárico. Apesar de apresentarem variações, não foram estatisticamente significativas. Glicerol foi utilizado como cossolvente para extrair polifenóis a partir de bagaço de uva em diferentes proporções 15%, 32,5% e 50% na extração por água no estado subcrítico comparando sua eficiência com etanol (23). Os resultados demonstraram que o glicerol confere ao solvente de extração uma maior energia de solvatação dos polifenóis do que o etanol. As condições ótimas de extração foram com 32,5% de glicerol para flavonóis e 50% para flavanóis, estilbenos e ácidos fenólicos, ou seja, uma maior quantidade de glicerol é requerida concomitante à redução da polaridade da molécula. No entanto, a limitação do uso deste cossolvente, comparativamente ao etanol é sua baixa volatilidade (ponto de ebulição de 290 °C), o que limita sua eliminação, tanto na concentração como na secagem das soluções extrativas correspondentes.

Após a consideração sobre os principais pontos relacionados com o agente extrator, abordaremos sequencialmente os detalhes sobre a técnica em si, abrangendo os tipos de extração, equipamentos e metodologia. Basicamente a extração por água quente pressurizada é realizada no modo dinâmico ou estático, isto é, com ou sem renovação contínua do solvente durante a extração do material. Quando a extração é realizada no modo dinâmico o principal parâmetro analisado é a taxa de fluxo. Na extração no modo estático, existe a possibilidade de execução simples em um único ciclo extrativo ou múltiplos estágios, caracterizando mais de um ciclo extrativo com renovação do solvente. Os equipamentos utilizados para ambos os modos extrativos podem variar, mas algumas particularidades são universais. A

instrumentalização para a extração por água no estado subcrítico é semelhante à extração acelerada por solvente (ASE). Resumidamente, a célula de extração que contém o material vegetal e a água deve estar dentro de uma câmara de aquecimento onde seja possível controlar a temperatura e pressão. De uma forma mais sistematizada, o solvente é injetado diretamente dentro da célula extrativa por uma bomba (em que há frequentemente um esquema de pré-aquecimento para que a passagem pela amostra seja na temperatura operacional), um regulador de pressão e um frasco para coleta do extrato que pode estar acoplado a um sistema de resfriamento (85). Nesta disposição, são necessários cuidados adicionais com as tubulações (para evitar o entupimento por precipitados) e como a manutenção do aquecimento até o dispositivo de coleta (12,22).

Entre os estudos analisados, o gás comumente utilizado para purga do solvente e manutenção da pressão durante a extração de flavonoides com água no estado subcrítico foi o nitrogênio. Getachew e Chun (2017) estudaram a influência da utilização de diferentes gases com e sem pré-tratamento na extração subcrítica com água em resíduos de café. Os autores estudaram variações de temperatura, pressão (utilizando nitrogênio ou dióxido de carbono) e tipos de reatores contendo a amostra. O maior rendimento de conteúdo total de flavonoides foi obtido utilizando-se dióxido de carbono pré-tratado com micro-ondas a 220°C e 4 MPa. Os resultados também mostraram que as diferentes condições aplicadas a 180°C e 2 MPa ou 240°C e 6 MPa não foram diferentes para os gases estudados.

A figura 4 mostra o perfil dos estudos analisados em relação ao modo extrativo empregado, sendo 90 experimentos realizados no modo estático dos quais 25 operaram com agitação e 8 realizaram mais de um ciclo extrativo. A agitação é um parâmetro que melhora a transferência de massa enquanto a realização de múltiplos ciclos visa o esgotamento do material vegetal (12). A variação na taxa de agitação de uma plataforma vibratória para extração em flores de camomila foi testada entre 2 e 6 Hz, obtendo-se um resultado aumentado para o conteúdo de fenóis totais e flavonoides totais com 2 Hz, sendo a menor eficiência obtida com 6 Hz. Nesse estudo, verificou-se ainda que é possível aumentar individualmente os compostos estudados como a apigenina que foi melhor extraída com uma agitação de 3 Hz (68). Outro estudo visou determinar as quantidades totais de narirutina e hesperidina das cascas de *Citrus unshiu* aplicando 5 ciclos extrativos consecutivos. Os resultados

demonstraram que 99,18% de hesperidina e 99,83% da narirutina foram extraídas no primeiro ciclo extrativo a 160 °C em 10 minutos (47).

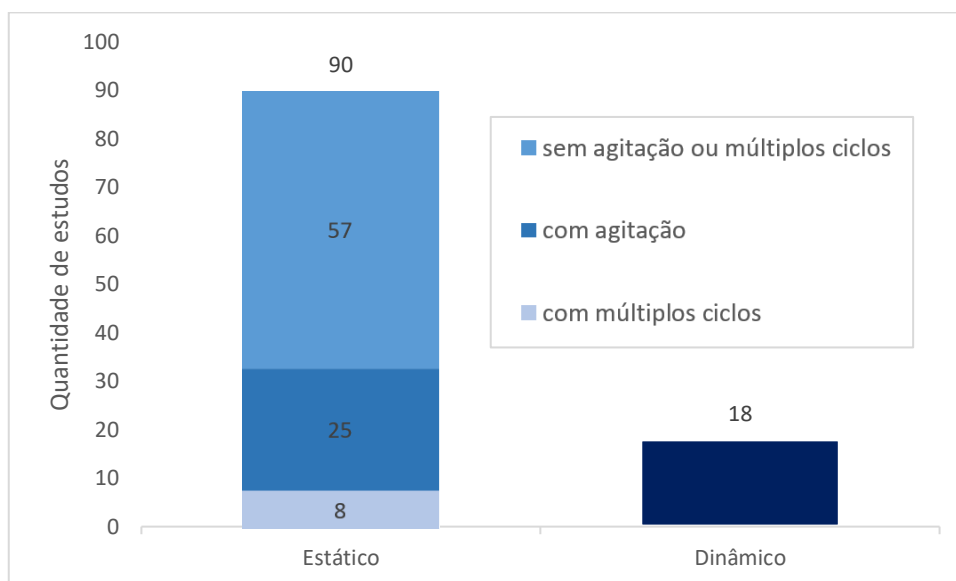


Figura 5. Extração de flavonoides com água quente pressurizada nos modos estático e dinâmico e suas variações.

Como previamente mencionado, na extração por água no estado subcrítico operadas no modo dinâmico, a taxa de fluxo é um parâmetro essencial. Observou-se que a variação desse parâmetro foi de 0,3 a 10 mL/min nos estudos investigados. Um dos estudos explorou o efeito da taxa de fluxo na faixa de 1 a 2 mL/min a 160 °C, observando-se que os resultados foram semelhantes quando a 1 mL/min por 30 minutos e 2 mL/min por 15 minutos, sendo a recuperação de flavonoides ligeiramente aumentada com a taxa de fluxo mais alta. Entretanto, Benito-román e colaboradores (2020) testando as taxas de fluxo de 2,5 e 6 mL/min verificaram que após certo tempo, nos extratos o conteúdo total de flavonoides foi recuperado sem diferença significativa. Assim, é possível modular a vazão e tempo de extração, evitando a diluição do extrato ao final do processo e degradação dos componentes (86). A proporção sólido-líquido dos estudos variou de 1,00:1,95 a 1,00:500,00 para extrações dinâmicas e de 1,0:1,0 a 1,0:200,0 para extrações estáticas. No modo estático, a proporção entre amostra e solvente é um parâmetro relacionado com a saturação do solvente, assim como o fluxo é para o modo dinâmico. Dois estudos analisaram essa variável em cascas de kiwi e em folhas de cenoura com mistura aquosa com 2,0 a 6,0% e 1,5 a 3,5% em peso de sólidos totais, respectivamente. As melhores condições encontradas para

otimizar o conteúdo total de flavonoides para as cascas de kiwi foram de 2,0% e de 1,5% para otimização da obtenção de luteolina das folhas de cenoura. Ambos os resultados corroboram sobre a melhor eficiência extrativa quando quantidades maiores de solvente são utilizadas (60,84).

As etapas sequenciais envolvidas na extração são a molhabilidade da matriz pelo solvente, a dessorção inicial dos componentes da matriz, a difusão dos componentes através da matriz, a partição entre matriz e solvente e a difusão da camada extratora estagnada até a zona de convecção (36). Para melhorar essas condições de extração podemos alterar as variáveis do processo como a temperatura, pressão, tempo de extração, taxa de fluxo e adição de modificadores ou aditivos (12). As principais variáveis que permitem o emprego da água no estado subcrítico como agente extrator são a temperatura e a pressão. A pressão tem pouca influência sobre as propriedades da água, sendo modificada apenas para mantê-la no seu estado líquido, já a temperatura é o principal parâmetro que modifica as características da água. Em geral, altas temperaturas melhoram todos os mecanismos de extração, mas quando muito elevadas podem ocasionar redução da seletividade, degradação de analitos e reações químicas gerando maior número de contaminantes e erros analíticos (36). Segundo os estudos analisados, verificou-se que a variação da pressão ocorreu entre 0,1034 e 22 MPa, sendo que 16 estudos não informaram a pressão utilizada. Em relação a temperatura, as melhores condições para obtenção dos flavonoides foram entre 100 e 250 °C. A figura 5 apresenta o perfil de temperatura em relação à pressão (Figura 5a) e de acordo com a quantidade de estudos publicados (Figura 5b).

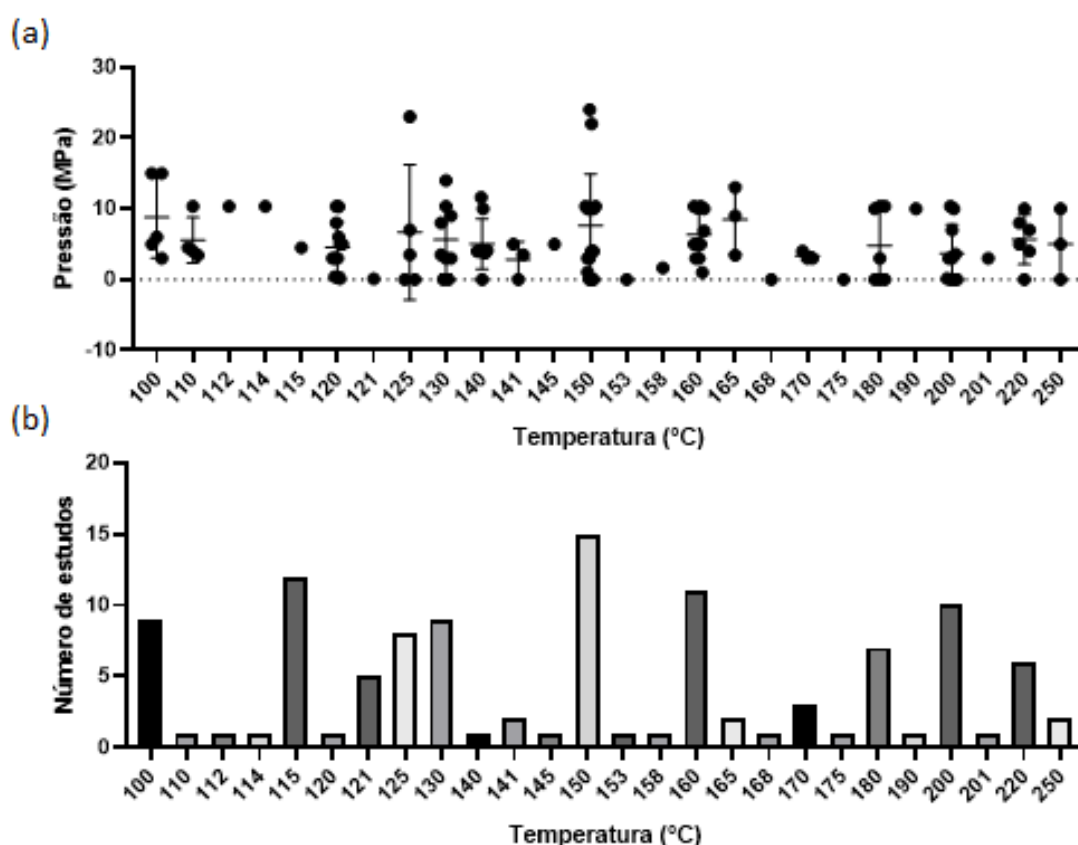


Figura 6. Temperatura e pressão utilizados nos estudos analisados (a) e número de estudos publicados e temperaturas empregadas (b).

Apenas 4 estudos verificaram a influência da variação da pressão na eficiência extrativa em condições subcríticas (41,68,69,87). Cvetanović (2018b e 2017a) realizou dois estudos em condições isotérmicas nas pressões de 1, 3, 4,5, 6 e 9 MPa para a obtenção dos extratos. Os resultados indicaram que a menor recuperação de flavonoides ocorreu a 1 MPa e a maior ocorreu a 4,5 MPa, ou seja, sem a necessidade de pressões muito elevadas para a melhor extração. Nos outros dois estudos a variação da pressão não apresentou diferença significativa, mas demonstrou que o processo de extração é mais lento em pressões menores podendo haver compensação com o aumento do tempo de extração quando as pressões de 15 e 22 MPa foram analisadas (69,88).

A extensa variação na eficiência extrativa de acordo com a temperatura é explicada principalmente pelas estruturas flavonoídicas e as alterações ocorridas no solvente. De modo geral, as substâncias mais polares são extraídas em temperaturas menores, enquanto que as mais apolares em temperaturas maiores. A polaridade das

cadeias laterais, a presença de açúcares e de duplas ligações são pontos-chave para seletividade do processo. Glicosídeos são extraídos em temperaturas mais baixas que as agliconas, assim como flavonoides com a presença de cadeias laterais polares. A dupla ligação tende a promover uma estabilização adicional pelo maior grau de conjugação da molécula, permitindo a extração em temperaturas mais altas. A estabilização é um fator importante para a extração com água no estado subcrítico de flavonoides. Quando a molécula apresenta um ponto de fusão alto ($>270\text{ }^{\circ}\text{C}$) e baixo peso molecular ($<320\text{ g/mol}$) tende a ser extraída de maneira otimizada em temperaturas mais altas (46,89).

Outro parâmetro de suma importância, considerada uma vantagem da extração por água quente pressurizada, é o tempo de extração reduzido em comparação aos métodos convencionais (12,52). A redução do tempo de extração em altas temperaturas pode diminuir a conversão dos compostos em produtos de degradação. Os tempos extrativos empregados, segundo os artigos, variaram entre 1 e 180 minutos como mostrado na figura 6.

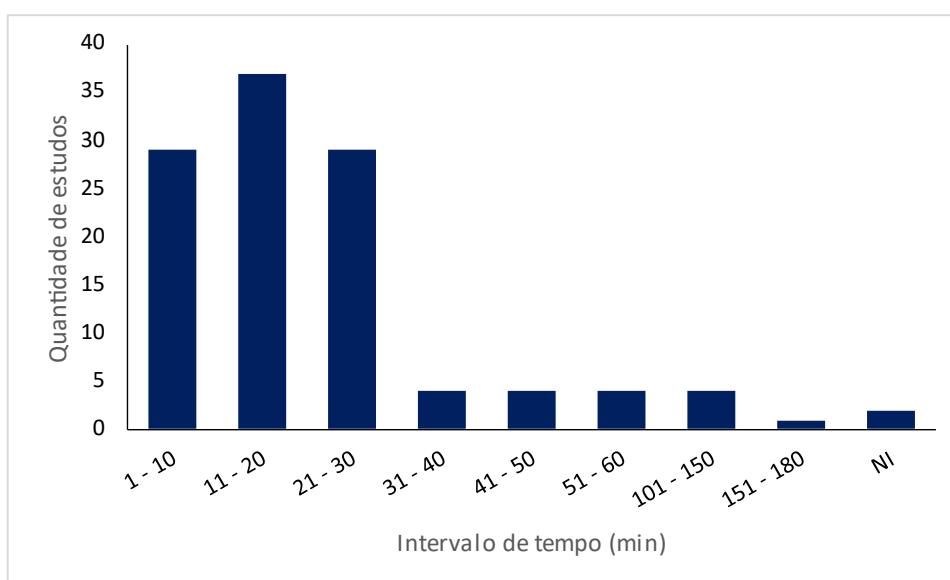


Figura 7. Intervalo de tempo dos diversos estudos analisados que utilizam água no estado subcrítico para a extração de flavonoides.

Seis estudos cinéticos da extração com água no estado subcrítico em flavonoides foram realizados, ou seja, as variações ocorridas nos extratos com o passar do tempo, a partir de intervalos pré-estabelecidos foram analisadas. O período de extração rápida ocorre nos primeiros 20 minutos e, após, há um período

subsequente de menor eficiência (22,53,84,86,88,90). Além disso, a tríade tempo de extração, temperatura e taxa de fluxo ou proporção de sólido-líquido devem estar alinhadas para otimização do processo. Benito-Román et al. (2020) realizou a análise pelo período mais longo de 180 min dividido em nove intervalos a 150°C, 5 MPa e variação da taxa de fluxo 2,5 e 6,0 mL/min. Esse estudo concluiu que a extração de flavonoides a partir de resíduos de cascas de cebola ocorreu principalmente nos primeiros 30 minutos e no máximo até 60 minutos, independente da vazão aplicada.

A associação da extração da água no estado subcrítico com pré-extração para otimização também é uma abordagem que pode ser avaliada. Dentre os estudos, apenas 6 realizaram associações com outras técnicas anteriormente a extração com água no estado subcrítico (29,59,91–94). O campo elétrico pulsado se mostrou um excelente aliado na extração relacionado a formação de poros irreversíveis nas membranas das células vegetais quando em intensidade do campo elétrico acima de 1 kV/cm (91). O ultrassom também resultou na melhor recuperação de flavonoides quando comparado a extração por água no estado subcrítico ou extração assistida por ultrassom individualmente (92). Porém, outro estudo demonstrou menor eficiência quando comparada com a extração assistida por microondas (29). Outro pré-tratamento extrativo interessante abordado para a obtenção de flavonoides é a aplicação de DIC (termo inglês “Instant Controlled Pressure Drop”) (93).

Análise dos extratos

Após a obtenção dos extratos é preciso verificar a estabilidade dos compostos extraídos, bem como a necessidade de pós-tratamento, tais como secagem ou armazenamento. Os artigos demonstraram que os extratos resfriados, após a extração subcrítica com água, formam precipitados contendo compostos bioativos. A redissolução desses cristais com etanol pode ser uma alternativa para recuperação dos ativos ao extrato devido a polaridade semelhante à da água em altas temperaturas (22). Além disso, os principais procedimentos realizados pós-tratamento com água quente pressurizada nos extratos foram: o resfriamento, a secagem (liofilização, rotaevaporação ou estufa), a redissolução em algum solvente (metanol, DMSO, álcool), a centrifugação, a filtração com papel ou membrana (0,2 a 0,7 μm) e o armazenamento no escuro sob refrigeração (4 a – 80°C).

O principal instrumento de análise utilizado pelos estudos para identificação e quantificação individual de flavonoides foi a cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a diferentes detectores e espectrometria de massas, além da quantificação do conteúdo total de flavonoides, flavonóis ou antocianinas por diferentes métodos colorimétricos (95). A tabela 1 dispõe sobre a quantificação dos principais flavonoides e as condições extrativas aplicadas de acordo com os estudos analisados. As condições extrativas que proporcionam o maior teor de flavonoides totais podem não ser as mesmas quando se deseja obter um flavonoide específico. A oscilação nos resultados do conteúdo total de flavonoides e da quantificação individual pode ser percebida no estudo de Zeković e colaboradores (2017) o qual compara os resultados obtidos pela extração com água no estado subcrítico com as extrações assistidas por microondas e por ultrassom. O maior conteúdo total de flavonoides foi obtido por água no estado subcrítico (125 °C, 3,5 MPa, 30 minutos de extração). Entretanto, quando os flavonoides rutina, quercetina, luteolina, naringenina, canferol e apigenina foram analisados individualmente, a extração assistida por microondas, seguida pela extração assistida por ultrassom, obtiveram melhores recuperações do que a extração por água quente pressurizada. A mesma tendência pode ser percebida nos trabalhos de Liao e colaboradores (2017) e Mašković e colaboradores (2018).

A comparação com diferentes técnicas extrativas para verificar a eficiência da extração por água no estado subcrítico de flavonoides foi analisada pelos autores com extrações convencionais (maceração e Soxhlet) com diferentes solventes (etanol, acetona, metanol, água aquecida) ou extrações mais modernas (extração assistida por enzima, ultrassom e micro-ondas). Em geral, os resultados indicam que a extração por água subcrítica apresenta eficiência maior ou semelhante às outras técnicas comparativas em relação a quantificação de flavonoides. Apesar de sua relevância, esses resultados podem ser tendenciosos quando a otimização é realizada somente na extração por água no estado subcrítico e não nas técnicas comparativas. Cvetanović e colaboradores (2015) compararam diferentes técnicas e, apesar de demonstrar rendimentos inferiores, o conteúdo total de flavonoides obtido pela extração por água no estado subcrítico não demonstrou diferença estatisticamente significativa.

Tabela 1: Condições de extração com água no estado subcrítico e teor de flavonoides dos estudos analisados.

Flavonoide	Planta*	Condições de extração por água no estado subcrítico	Teor	Autor
Epicatequina	Flores de <i>Satureja kitaibelii</i> Wierzb	130 °C; NI; 30 min; estático	10,04 mg/g ext.	(55)
	Sementes e cascas de <i>Vitis vinifera</i> L	Etanol 80%; 170 °C; 1 MPa; 5 min; estático	41,72 µg/g ext. 7,23 µg/g ext.	(15)
	Folhas de <i>Cnidioscolus aconitifolius</i> Mill.	140 °C; 10 MPa; 10 min; dinâmico 4 mL/min	0,50 µg/g ext.	(37)
	Casca de <i>Theobroma cacao</i> L.	150 °C; 3 MPa; 15 min; estático	0,11 mg/g ext. WP 0,15 mg/g ext. MD	(97)
	Bagaço de uva <i>Carménère</i>	Glicerol 32,5%; 150 °C; 10 MPa; 5 min; estático	22,17 µg/g ext.	(23)
	Bagaço de uva <i>Carménère</i>	Etanol 32,5%; 150 °C; 1 MPa; 30 min; estático	14,41 µg/g ext.	(25)
	Farelo de <i>Sorghum bicolor</i> L.	144,5 °C; NI; 21 min; estático	112,86 mg/ g ext.	(98)
	Brotos de <i>Vitis vinifera</i> (TN e TR)	150 °C; 4 MPa; 40 min; estático	2,73 mg/g ext. 2,41 mg/g ext.	(61)
	Cacau em pó (amostras A e B)	125 °C; NI; 3 min; estático	0,23 mg/g 0,11 mg/g	(99)
Rutina	Flores de <i>Satureja kitaibelii</i> Wierzb	130 °C; NI; 30 min; estático	1,68 mg/g ext.	(55)
	Flor de <i>Gossypium hirsutum</i> L.	Etanol 65%; 180 °C; NI; 60 min; estático	0,07 mg/g ext.	(100)
	Casca de <i>Citrus unshiu</i> Marc	168 °C; NI; 10 min; estático	3,79 mg/g	(82)
	Exocarpos de <i>Castanea mollissima</i> Blume	120°C; 3 MPa; 20 min; estático	2,50 mg/g ext.	(101)
	Frutos, folhas e caules de <i>Aronia melanocarpa</i>	130 °C; 3,5 MPa; 20 min; estático	5,54 mg/g ext. 0,69 mg/g ext. 1,26 mg/g ext.	(17)
	Farelo de <i>Sorghum bicolor</i> L.	144,5 °C; NI; 21 min; estático	10,29 mg/ g ext.	(98)
	Brotos de <i>Vitis vinifera</i> (TN e TR)	150 °C; 4 MPa; 40 min; estático	3,71 mg/g ext. 3,01 mg/g ext.	(61)
	<i>Lavatera thuringiaca</i> L.	140 °C; 4 MPa; 30 min; estático	0,40 mg/mL ext.	(62)
	Folhas de <i>Urtiga dioica</i> L.	125 °C; 3,5 MPa; 30 min; estático	215,49 µg/g ext.	(63)
	Caules de <i>Aronia melanocarpa</i>	140 °C; 4 MPa; 30 min; estático	7,34 mg/g ext.	(65)
	<i>Erica carnea</i> L.	140 °C; 4 MPa; 30 min; estático	0,40 mg/g ext.	(66)
	Flores de <i>Chamomilla matricaria</i> L.	115 °C; 4,5 MPa; 30 min; estático	5,35 µg/g	(68)
	Galhos de <i>Sambucus nigra</i> L.	100 °C; 15 MPa; 5 min; estático	108,00 µg/g ext.	(20)
	Cascas de cebola	165 °C; 9 – 13 MPa; 15 min; estático	0,58 mg/g	(48)
	Luteolina	Flores de <i>Satureja kitaibelii</i> Wierzb	130 °C; NI; 30 min; estático	0,06 mg/g ext.

	Exocarpos de <i>Castanea mollissima</i> Blume	120°C; 3 MPa; 20 min; estático	1,83 mg/g ext.	(101)	
	Inflorescência de <i>Matricaria recutita</i>	100°C; 3 MPa; 30 min; estático	63,3 µg/g ext.	(96)	
	Frutos, folhas e caules de <i>Aronia melanocarpa</i>	130 °C; 3,5 MPa; 20 min; estático	0,15 mg/g ext. 0,33 mg/g ext. 0,36 mg/g ext.	(17)	
	Folhas de <i>Daucus carota</i>	180 °C; 4 MPa; 20 min; estático	0,55 mg/g ext.	(60)	
	<i>Lavatera thuringiaca</i> L.	140 °C; 4 MPa; 30 min; estático	0,04 mg/mL ext.	(62)	
	Folhas de <i>Urtiga dioica</i> L.	125 °C; 3,5 MPa; 30 min; estático	3,15 µg/g ext.	(63)	
	Caules de <i>Aronia melanocarpa</i>	140 °C; 4 MPa; 30 min; estático	0,37 mg/g ext.	(65)	
	<i>Erica carnea</i> L.	140 °C; 4 MPa; 30 min; estático	0,02 mg/g ext.	(66)	
	<i>Phlomis umbrosa</i> Turcz	200 °C; 10 MPa; 20 min; estático	0,50 mg/g	(40)	
	Flores de <i>Chamomilla matricaria</i> L.	115 °C; 4,5 MPa; 30 min; estático	97,19 µg/g	(68)	
	Cenoura	190 °C; 10 MPa; 15 min; estático	2,51 mg/g ext.	(46)	
Apigenina	Flores de <i>Satureja kitaibelii</i> Wierzb	130 °C; NI; 30 min; estático	1,05 mg/g ext.	(55)	
	Exocarpos de <i>Castanea mollissima</i> Blume	120°C; 3 MPa; 20 min; estático	0,24 mg/g ext.	(101)	
	Folhas de <i>Pseuderanthemum palatiferum</i> (Nees) Radlk.	170 °C; 8 MPa; 15 min; estático	3,46 mg/g	(102)	
	Inflorescência de <i>Matricaria recutita</i>	100°C; 3 MPa; 30 min; estático	0,90 mg/g ext.	(96)	
	Frutos, folhas e caules de <i>Aronia melanocarpa</i>	130 °C; 3,5 MPa; 20 min; estático	0,24 mg/g ext. 0,21 mg/g ext. 0,15 mg/g ext.	(17)	
	Farelo de <i>Sorghum bicolor</i> L.	144,5 °C; NI; 21 min; estático	2,22 mg/ g ext.	(98)	
	<i>Lavatera thuringiaca</i> L.	140 °C; 4 MPa; 30 min; estático	1,21 mg/mL ext.	(62)	
	Folhas de <i>Urtiga dioica</i> L.	125 °C; 3,5 MPa; 30 min; estático	10,02 µg/g ext.	(63)	
	Caules de <i>Aronia melanocarpa</i>	140 °C; 4 MPa; 30 min; estático	0,36 mg/g ext.	(65)	
	<i>Erica carnea</i> L.	140 °C; 4 MPa; 30 min; estático	0,03 mg/g ext.	(66)	
	<i>Phlomis umbrosa</i> Turcz	200 °C; 10 MPa; 20 min; estático	9,00 mg/g	(40)	
	Flores de <i>Chamomilla matricaria</i> L.	115 °C; 4,5 MPa; 30 min; estático	1,50 mg/g	(68)	
	Salsa	190 °C; 10 MPa; 15 min; estático	3,76 mg/g ext.	(46)	
	Canferol	Flor de <i>Gossypium hirsutum</i> L.	Etanol 65%; 180 °C; NI; 60 min; estático	3,12 mg/g ext.	(100)
		Sementes e cascas de <i>Vitis vinifera</i> L.	Etanol 80%; 170 °C; 1 MPa; 5 min; estático	0,00 µg/g ext. 5,12 µg/g ext.	(15)
Resíduo de <i>Allium cepa</i> L.		145°C; 5 MPa; 45 min; dinâmico 2,5 mL/min	0,46 mg/g ext.	(22)	
Folhas de <i>Cnidioscolus aconitifolius</i> Mill.		140 °C; 10 MPa; 10 min; dinâmico 4 mL/min	2,14 mg/g ext.	(37)	
<i>Orostachys japonicus</i> A. Berger		190°C; 10 MPa; 15 min; estático	0,06 mg/g ext.	(103)	
Exocarpos de <i>Castanea mollissima</i> Blume		120°C; 3 MPa; 20 min; estático	0,10 mg/g ext.	(101)	
Folhas de <i>Moringa oleifera</i>		125 °C; NI; 32,5 min; dinâmico 0,3 mL/min	2,68 mg/g ext.	(38)	

	Bagaço de uva <i>Carménère</i>	Glicerol 32,5%; 150 °C; 10 MPa; 5 min; estático	26,36 µg/g ext.	(23)
	Bagaço de uva <i>Carménère</i>	Etanol 15%; 150 °C; 1 MPa; 30 min; estático	20,90 µg/g ext.	(25)
	Folhas de <i>Pseuderanthemum palatiferum</i> (Nees) Radlk.	190 °C; 8 MPa; 15 min; estático	2,43 mg/g	(102)
	Inflorescência de <i>Matricaria recutita</i>	100°C; 3 MPa; 30 min; estático	35,90 µg/g ext.	(96)
	Frutos, folhas e caules de <i>Aronia melanocarpa</i>	130 °C; 3,5 MPa; 20 min; estático	0,27 mg/g ext. 0,07 mg/g ext. 0,05 mg/g ext.	(17)
	Brotos de <i>Vitis vinifera</i> (TN e TR)	150 °C; 4 MPa; 40 min; estático	17,7 mg/g ext. 17,5 mg/g ext.	(61)
	<i>Lavatera thuringiaca</i> L.	140 °C; 4 MPa; 30 min; estático	0,03 mg/mL ext.	(62)
	Folhas de <i>Urtiga dioica</i> L.	125 °C; 3,5 MPa; 30 min; estático	9,95 µg/g ext.	(63)
	<i>Erica carnea</i> L.	140 °C; 4 MPa; 30 min; estático	0,02 mg/g ext.	(66)
	Flores de <i>Chamomilla matricaria</i> L.	115 °C; 4,5 MPa; 30 min; estático	60,37 µg/g	(68)
	Folhas de <i>Moringa oleifera</i>	150 °C; NI; 20 min; dinâmico 1 mL/min	1,73 mg/g	(42)
	Folhas de <i>Hippophae Rhamnoides</i>	150 °C; 10,34 MPa; 15 min; estático	46,43 µg/g ext.	(104)
	Cascas de cebola	165 °C; 9 – 13 MPa; 15 min; estático	0,68 mg/g	(48)
	Flor de <i>Gossypium hirsutum</i> L.	Etanol 65%; 180 °C; NI; 60 min; estático	22,41 mg/g ext.	(100)
	Sementes e cascas de <i>Vitis vinifera</i> L.	Etanol 80%; 170 °C; 1 MPa; 5 min; estático	0,00 µg/g ext. 12,41 µg/g ext.	(15)
	Resíduo de <i>Allium cepa</i> L.	145°C; 5 MPa; 45 min; dinâmico 2,5 mL/min	15,40 mg/g ext.	(22)
	Folhas de <i>Cnidioscolus aconitifolius</i> Mill.	140 °C; 10 MPa; 10 min; dinâmico 4 mL/min	0,78 mg/g ext.	(37)
	<i>Orostachys japonicus</i> A. Berger	170°C; 10 MPa; 15 min; estático	0,85 mg/g ext.	(103)
	Folhas de <i>Kunzea ericoides</i>	170 °C; 4 MPa; 20 min; estático	6,35 mg/g ext.	(58)
	Exocarpos de <i>Castanea mollissima</i> Blume	120°C; 3 MPa; 20 min; estático	0,62 mg/g ext.	(101)
	Folhas de <i>Moringa oleifera</i>	125 °C; NI; 32,5 min; dinâmico 0,3 mL/min	34,00 mg/g ext.	(38)
Quercetina	Bagaço de uva <i>Carménère</i>	Glicerol 32,5% 150 °C; 10 MPa; 5 min; estático	0,26 mg/g ext.	(23)
	Bagaço de uva <i>Carménère</i>	Etanol 15%; 150 °C; 1 MPa; 30 min; estático	43,14 µg/g ext.	(25)
	Frutos, folhas e caules de <i>Aronia melanocarpa</i>	130 °C; 3,5 MPa; 20 min; estático	1,40 mg/g ext. 0,10 mg/g ext. 0,25 mg/g ext.	(17)
	Brotos de <i>Vitis vinifera</i> (TN e TR)	150 °C; 4 MPa; 40 min; estático	21,3 mg/g ext. 15,9 mg/g ext.	(61)
	Casca e polpa de <i>Allium cepa</i> L.	250 °C; 0,02 a 5 MPa; 15 min; estático	2,02 mg/g	(18)
	<i>Lavatera thuringiaca</i> L.	140 °C; 4 MPa; 30 min; estático	0,36 mg/mL ext.	(62)
	Folhas de <i>Urtiga dioica</i> L.	125 °C; 3,5 MPa; 30 min; estático	25,51 µg/g ext.	(63)
	Caules de <i>Aronia melanocarpa</i>	140 °C; 4 MPa; 30 min; estático	0,79 mg/g ext.	(65)
	<i>Erica carnea</i> L.	140 °C; 4 MPa; 30 min; estático	0,28 mg/g ext.	(66)
	Folhas de <i>Fagopyrum esculentum</i>	180 °C; NI; 10 min; estático	1,00 mg/g ext.	(105)

	Galhos de <i>Sambucus nigra</i> L.	100 °C; 15 MPa; 5 min; estático	10,70 µg/g ext.	(20)
	Folhas de <i>Moringa oleifera</i>	150 °C; NI; 20 min; dinâmico 1 mL/min	1,49 mg/g	(42)
	Cascas de <i>Allium cepa</i>	110 °C; 3,45 MPa; 15 min; estático	44,4 mg/g ext.	(45)
	Cascas de cebola	165 °C; 9 – 13 MPa; 15 min; estático	16,29 mg/g	(48)
	<i>Houttuynia cordata</i> Thunb	100 °C; 5 MPa; 30 min; estático	11,12 µg/mL ext.	(106)
Catequina	Sementes e cascas de <i>Vitis vinifera</i> L	Etanol 80%; 170 °C; 1 MPa; 5 min; estático	96,33 µg/g ext. 1,11 µg/g ext.	(15)
	Folhas de <i>Kunzea ericoides</i>	170 °C; 4 MPa; 20 min; estático	7,33 mg/g ext.	(58)
	Casca de <i>Theobroma cacao</i> L.	150 °C; 3 MPa; 15 min; estático	1,47 mg/g ext. WP 1,48 mg/g ext. MD	(97)
	Bagaço de uva <i>Carménère</i>	Glicerol 50% 150 °C; 10 MPa; 5 min; estático	39,26 µg/g ext.	(23)
	Bagaço de uva <i>Carménère</i>	Etanol 32,5%; 150 °C; 1 MPa; 30 min; estático	23,32 µg/g ext.	(25)
	Brotos de <i>Vitis vinifera</i> (TN e TR)	150 °C; 4 MPa; 40 min; estático	5,42 mg/g ext. 5,92 mg/g ext.	(61)
	Cacau em pó (amostras A e B)	125 °C; NI; 3 min; estático	0,89 mg/g 0,63 mg/g	(99)
	Folhas de <i>Fagopyrum esculentum</i>	180 °C; NI; 10 min; estático	0,12 mg/g ext.	(105)
	grãos de café, duas variedades <i>Coffee arábica</i> (Et, Gua e Mex) e <i>Coffee robusta</i> (Bra e Vie)	180 °C; 3 MPa; 10 min; estático	13,55 mg/g ext. 11,51 mg/g ext. 6,23 mg/g ext. 6,31 mg/g ext. 6,70 mg/g ext.	(71)
	Epigallocatequina	Sementes e cascas de <i>Vitis vinifera</i> L	Etanol 80%; 170 °C; 1 MPa; 5 min; estático	18,14 µg/g ext. 2,03 µg/g ext.
Bagaço de uva <i>Carménère</i>		Glicerol 50%; 150 °C; 10 MPa; 5 min; estático	83,85 µg/g ext.	(23)
Bagaço de uva <i>Carménère</i>		Etanol 32,5%; 150 °C; 1 MPa; 30 min; estático	67,66 µg/g ext.	(25)
Hesperidina	Casca de <i>Citrus unshiu</i> Marc	153 °C; NI; 15 min; estático	15,05 mg/g	(82)
	Casca de <i>Citrus unshiu</i>	150 °C; 10 MPa; 15 min; estático	46,96 mg/g ext.	(91)
	Casca de <i>Citrus unshiu</i>	160 °C; 5 MPa; 30 min; dinâmico 2 mL/min	50,03 mg/g ext.	(86)
	Cascas de laranja	150 °C; 10 MPa; 5 min; dinâmico 10 mL/min	22,99 mg/g	(107)
	Cascas de <i>Citrus unshiu</i>	160 °C; 5 MPa; 15 min; dinâmico 2,25 mL/min	44,62 µg/g ext.	(51)
	Cascas de laranja desengorduradas	150 °C; 10 MPa; 12 min; dinâmico 10 mL/min	188,00 mg/g ext.	(85)
	Casca de <i>Citrus unshiu</i>	130 °C; 9 – 14 MPa; 15 min; estático	76,00 mg/g	(41)
	Laranja	170 °C; 10 MPa; 10 min; estático	56,48 mg/g ext.	(46)
	Frutos de <i>Citrus unshiu</i>	160 °C; 10,13 MPa; 10 min; estático; 5 ciclos	72,00 mg/g	(47)
Narirutina	Casca de <i>Citrus unshiu</i> Marc	140 °C; NI; 15 min; estático	5,05 mg/g	(82)
	Casca de <i>Citrus unshiu</i>	190 °C; 10 MPa; 5 min; estático	9,76 mg/g ext.	(91)
	Casca de <i>Citrus unshiu</i>	160 °C; 5 MPa; 30 min; dinâmico 2 mL/min	9,28 mg/g ext.	(86)
	Cascas de laranja	150 °C; 10 MPa; 5 min; dinâmico 10 mL/min	1,95 mg/g	(107)
	Cascas de <i>Citrus unshiu</i>	160 °C; 5 MPa; 15 min; dinâmico 2,25 mL/min	8,76 mg/g ext.	(51)

	Cascas de laranja desengorduradas	150 °C; 10 MPa; 12 min; dinâmico 10 mL/min	21,98 mg/g ext.	(85)
	Casca de <i>Citrus unshiu</i>	130 °C; 9 – 14 MPa; 15 min; estático	34,00 mg/g	(41)
	Toranja	170 °C; 10 MPa; 10 min; estático	8,08 mg/g ext.	(46)
	Frutos de <i>Citrus unshiu</i>	160 °C; 10,13 MPa; 10 min; estático; 5 ciclos	11,7 mg/g	(47)
Isorhamnetina	Resíduo de <i>Allium cepa</i> L.	145°C; 5 MPa; 45 min; dinâmico 2,5 mL/min	0,48 mg/g ext.	(22)
	Folhas de <i>Hippophae Rhamnoides</i>	150 °C; 10,34 MPa; 15 min; estático	112,65 µg/g ext.	(104)
	Cascas de cebola	165 °C; 9 – 13 MPa; 15 min; estático	0,54 mg/g	(48)
Miricetina	Resíduo de <i>Allium cepa</i> L.	145°C; 5 MPa; 45 min; dinâmico 2,5 mL/min	0,49 mg/g ext.	(22)
	Folhas de <i>Cnidioscolus aconitifolius</i> Mill.	140 °C; 10 MPa; 10 min; dinâmico 4 mL/min	1,68 mg/g ext.	(37)
	Brotos de <i>Vitis vinifera</i> (TN e TR)	150 °C; 4 MPa; 40 min; estático	55,7 mg/g ext. 55,6 mg/g ext.	(61)
	Folhas de <i>Moringa oleifera</i>	150 °C; NI; 20 min; dinâmico 1 mL/min	1,50 mg/g	(42)
Nobiletina	Casca de <i>Citrus unshiu</i>	160 °C; 5 MPa; 30 min; dinâmico 2 mL/min	0,10 mg/g ext.	(86)
	Cascas de <i>Citrus unshiu</i>	160 °C; 5 MPa; 15 min; dinâmico 2,25 mL/min	0,09 mg/g ext.	(51)
Tangeretina	Casca de <i>Citrus unshiu</i>	160 °C; 5 MPa; 30 min; dinâmico 2 mL/min	0,05 mg/g ext.	(86)
	Cascas de <i>Citrus unshiu</i>	160 °C; 5 MPa; 15 min; dinâmico 2,25 mL/min	0,05 mg/g ext.	(51)
Naringenina	Cascas de <i>Citrus unshiu</i>	160 °C; 5 MPa; 15 min; dinâmico 2,25 mL/min	0,14 mg/g ext.	(51)
	Inflorescência de <i>Matricaria recutita</i>	100°C; 3 MPa; 30 min; estático	5,87 µg/g ext.	(96)
	Frutos, folhas e caules de <i>Aronia melanocarpa</i>	130 °C; 3,5 MPa; 20 min; estático	0,17 mg/g ext. 0,03 mg/g ext. 0,07 mg/g ext.	(17)
	Brotos de <i>Vitis vinifera</i> (TN e TR)	150 °C; 4 MPa; 40 min; estático	2,10 mg/g ext. 2,04 mg/g ext.	(61)
	<i>Lavatera thuringiaca</i> L.	140 °C; 4 MPa; 30 min; estático	0,02 mg/mL ext.	(62)
	Folhas de <i>Urtiga dioica</i> L.	125 °C; 3,5 MPa; 30 min; estático	4,48 µg/g ext.	(63)
	Caules de <i>Aronia melanocarpa</i>	140 °C; 4 MPa; 30 min; estático	0,17 mg/g ext.	(65)
	<i>Erica carnea</i> L.	140 °C; 4 MPa; 30 min; estático	0,01 mg/g ext.	(66)
	Flores de <i>Chamomilla matricaria</i> L.	115 °C; 4,5 MPa; 30 min; estático	7,87 µg/g	(68)
	Casca de <i>Citrus unshiu</i>	190 °C; 9 – 14 MPa; 15 min; estático	7,00 mg/g	(41)
	Toranja	170 °C; 10 MPa; 15 min; estático	2,32 mg/g ext.	(46)
Madeira de <i>Populus tremula</i>	150 °C; 22 – 24 MPa; 35 min; dinâmico 1 mL/min	9,80 mg/g ext.	(88)	
Genistina	Subproduto de <i>Glycine max</i>	140 °C; 3,75 MPa; 5 min; estático	0,54 mg/g	(24)
	Flocos de soja desengordurados	110 °C; 4,52 MPa; 138 min; estático	1,90 mg/g	(108)
Daidzina	Subproduto de <i>Glycine max</i>	140 °C; 3,75 MPa; 95 min; estático	0,42 mg/g	(24)
	Erva <i>Radiz Puerariae</i>	141 °C; 5 MPa; 58 min; estático; 2 ciclos	9,00 mg/g	(109)
	Flocos de soja desengordurados	110 °C; 4,52 MPa; 138 min; estático	1,80 mg/g	(108)
Naringina	Inflorescência de <i>Matricaria recutita</i>	100°C; 3 MPa; 30 min; estático	3,42 µg/g ext.	(96)

Brotos de <i>Vitis vinifera</i> (TN e TR)	150 °C; 4 MPa; 40 min; estático	11,30 mg/g ext. 14,10 mg/g ext.	(61)
Flores de <i>Chamomilla matricaria</i> L.	115 °C; 4,5 MPa; 30 min; estático	2,32 µg/g	(68)
Casca de <i>Citrus unshiu</i>	170 °C; 9 – 14 MPa; 15 min; estático	8,00 mg/g	(41)
Toranja	170 °C; 10 MPa; 10 min; estático	78,14 mg/g ext.	(46)
Madeira de <i>Populus tremula</i>	150 °C; 22 – 24 MPa; 35 min; dinâmico 1 mL/min	10,61 mg/g ext.	(88)

NI: não informado; ext: extrato; MD: secagem por atomização com maltodextrina; WP secagem por atomização com proteína de soro de leite; TN: Touriga Nacional; TR: Tinta Roriz; *Descrição da planta de acordo com o informado pelo artigo primário

Os produtos de degradação são parâmetros de estabilidade importantes para o monitoramento da extração. Acima de 250°C por mais de 30 minutos ocorre a degradação generalizada das estruturas flavonoídicas (46,89). O monitoramento da degradação pode ser realizado pela análise de produtos resultantes da reação de Maillard, tal como hidroximetilfurfural (HMF) (110), composto tóxico cuja formação deve ser evitada. Assim, não basta extrair elevadas quantidades dos flavonoides de interesse, é necessário reduzir ao máximo a formação destes subprodutos (82). A formação de substâncias poliméricas como subproduto, por sua vez, pode ser medida por meio da absorvância em 420 nm característica de substâncias poliméricas marrons como as melanoidinas (58). Acima de 120 °C as reações de degradação podem ser iniciadas aumentando a criticidade acima de 180 °C (111) e em períodos mais longos de extração (59). Cabe observar que os subprodutos formados pela reação de Maillard podem, eventualmente, contribuir para a atividade antioxidante dos extratos (112),

É importante ressaltar que para a realização de uma análise com êxito é necessário efetuar a validação do método analítico de escolha, bem como executar procedimentos operacionais padrão e padronizar um protocolo para realização do estudo. A otimização dos parâmetros extrativos pode ser desenvolvida por meio de desenhos experimentais e modelos matemáticos que satisfaçam as condições a serem melhoradas após identificação das variáveis que influenciam o processo. Nos estudos que realizaram essas análises houve uma grande taxa de correlação entre os resultados preditos e reais, por isso, ressaltamos a importância da metodologia de superfície de resposta (RSM) como Box-Behnken design (BBD) para o aprimoramento da extração de flavonoides pelo método em questão. O reconhecimento da etapa limitante do processo extrativo também pode ser útil, por exemplo, se a cinética de

extração é limitada pela dessorção e difusão dentro dos poros da matriz da amostra não será possível melhorar a taxa de extração pelo aumento do fluxo (36). Modelos como particionamento termodinâmico, transferência de massa e cinética de dessorção podem ajudar no entendimento das variáveis que atuam sobre o processo (53). Além disso, existe uma dificuldade experimental na medição da solubilidade de compostos ativos em condições subcríticas, por isso, uma ferramenta interessante para predição é o parâmetro de solubilidade de Hansen (36).

Considerações finais

A extração por água no estado subcrítico é uma técnica capaz de extrair de maneira eficiente os flavonoides de diferentes matrizes vegetais, sendo considerada de baixo custo, rápida e sustentável por gerar resíduos de descarte e tratamento mais simples que muitos resultantes de métodos extrativos convencionais. Como apresentado, existem diversos parâmetros que necessitam de otimização para atingir bons rendimentos em flavonoides concomitantemente a baixos níveis de extração de interferentes. As características do material-vegetal, método de extração e processamento dos extratos são alguns desses parâmetros. Vale ressaltar que alguns parâmetros são considerados mais críticos para a técnica de extração com água no estado subcrítico, como o caso da temperatura que se relaciona com a seletividade de extração das estruturas flavonoídicas. Devido à grande variabilidade experimental nos estudos analisados, incluindo matéria-prima e equipamentos utilizados, uma das limitações encontradas pela presente revisão foi a comparação direta entre os resultados dos estudos. De modo geral, não é possível prever a eficiência de extração de flavonoides nas diversas espécies utilizando a extração com água no estado subcrítico, por isso recomenda-se realizar testes preliminares de bancada para definir os parâmetros a serem aplicados no processo extrativo.

Além disso, são necessários estudos para a separação de eventuais subprodutos tóxicos formados, assim como desenvolver estratégias de estabilização dos flavonoides durante o processo extrativo por água no estado subcrítico, com vistas a evitar a sua degradação. Em seu conjunto, as diversas vantagens da técnica de extração de substâncias bioativas de interesse a partir de matérias primas vegetais,

especialmente a de se constituir uma tecnologia limpa e sustentável são motivadoras de estudos para o seu aprimoramento e aplicação à extração de flavonoides.

Agradecimentos

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Rio Grande do Sul, FAPERGS, pelo auxílio financeiro ao projeto 19/2551-0001725-1, edital FAPERGS 05/2019 – Programa pesquisador Gaúcho e ao Conselho Nacional Científico e Tecnológico CNPq pelo auxílio financeiro e bolsa Pq - projeto 307645/2018-5 e Bolsa de iniciação científica PIBIC/UFRGS.

Referências

1. Panche AN, Diwan AD, Chandra SR. Flavonoids: An overview. *J Nutr Sci.* 2016;5.
2. Samanta A, Das G, Das S. Roles of flavonoids in plants. *Carbon N Y.* 2011;100(January 2011):6.
3. ZUANAZZI, MONTANHA. Óleos Voláteis. *Farmacognosia da planta ao medicamento.* 2010. 467–495 p.
4. Durazzo A, Lucarini M, Souto EB, Cicala C, Caiazzo E, Izzo AA, et al. Polyphenols: A concise overview on the chemistry, occurrence, and human health. *Phyther Res.* 2019;33(9):2221–43.
5. Wang T yang, Li Q, Bi K shun. Bioactive flavonoids in medicinal plants: Structure, activity and biological fate. *Asian J Pharm Sci [Internet].* 2018;13(1):12–23. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.ajps.2017.08.004>
6. Mlyuka E, Mbifile M, Zhang S, Zheng Z, Chen J. Strategic applications and the challenges of subcritical water extraction technology in food industries. *Chiang Mai J Sci.* 2018;45(2):1015–29.
7. Arct J, Pytkowska K. Flavonoids as components of biologically active cosmeceuticals. *Clin Dermatol.* 2008;26(4):347–57.
8. Rahaman ST, Mondal S. Flavonoids: A vital resource in healthcare and medicine. *Pharm Pharmacol Int J.* 2020;8(2):91–104.
9. Barreca D, Trombetta D, Smeriglio A, Mandalari G, Romeo O, Felice MR, et al. Food flavonols: Nutraceuticals with complex health benefits and functionalities. *Trends Food Sci Technol [Internet].* 2021;(September 2020). Available at: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.03.030>
10. Kaleem M, Ahmad A. Flavonoids as Nutraceuticals [Internet]. *Therapeutic, Probiotic, and Unconventional Foods.* Elsevier Inc.; 2018. 137–155 p. Available at: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814625-5.00008-X>
11. Cheng Y, Xue F, Yu S, Du S, Yang Y. Subcritical water extraction of natural products. *Molecules.* 2021;26(13):1–38.

12. Teo CC, Tan SN, Yong JWH, Hew CS, Ong ES. Pressurized hot water extraction (PHWE). *J Chromatogr A* [Internet]. 2010;1217(16):2484–94. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.chroma.2009.12.050>
13. Armenta S, Garrigues S, de la Guardia M. The role of green extraction techniques in Green Analytical Chemistry. *TrAC - Trends Anal Chem* [Internet]. 2015;71:2–8. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.trac.2014.12.011>
14. Soni U, Brar S, Gauttam VK. Effect of Seasonal Variation on Secondary Metabolites of Medicinal Plants. *Int J Pharm Sci Res* [Internet]. 2015;6(9):3654. Available at: <http://dx.doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.6>
15. Allcca-Alca EE, León-Calvo NC, Luque-Vilca OM, Martínez-Cifuentes M, Pérez-Correa JR, Mariotti-Celis MS, et al. Hot pressurized liquid extraction of polyphenols from the skin and seeds of *Vitis vinifera* L. Cv. negra criolla pomace a peruvian native pisco industry waste. *Agronomy*. 2021;11(5):0–9.
16. Islam MR, Haque AR, Kabir MR, Hasan MM, Khushe KJ, Hasan SMK. Fruit by-products: the potential natural sources of antioxidants and α -glucosidase inhibitors. *J Food Sci Technol* [Internet]. 2021;58(5):1715–26. Available at: <https://doi.org/10.1007/s13197-020-04681-2>
17. Cvetanović A, Zengin G, Zeković Z, Švarc-Gajić J, Ražić S, Damjanović A, et al. Comparative in vitro studies of the biological potential and chemical composition of stems, leaves and berries *Aronia melanocarpa*'s extracts obtained by subcritical water extraction. *Food Chem Toxicol* [Internet]. 2018;121(July):458–66. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.fct.2018.09.045>
18. Han J-K, Kang M-S, Lee S-C. 양파 아임계수 추출물의 총 페놀 함량 , DPPH 라디칼 소거능 및 alcohol dehydrogenase 활성에 미치는 영향. 2018;52(1):71–81.
19. Maghsoudlou E, Esmaeilzadeh Kenari R, Raftani Amiri Z. Evaluation of Antioxidant Activity of Fig (*Ficus carica*) Pulp and Skin Extract and Its Application in Enhancing Oxidative Stability of Canola Oil. *J Food Process Preserv*. 2017;41(4):1–11.
20. Hohnová B, Šalplachta J, Karásek P. Pressurized hot water extraction followed by high-performance liquid chromatography for determination of polyphenols in *Sambucus nigra* L. branches in dependence on vegetative period of the plant. *J Food Nutr Res*. 2017;56(3):299–303.
21. Warner R, Wu B Sen, MacPherson S, Lefsrud M. A Review of Strawberry Photobiology and Fruit Flavonoids in Controlled Environments. *Front Plant Sci*. 2021;12(February).
22. Benito-román Ó, Blanco B, Sanz MT, Beltrán S. Subcritical water extraction of phenolic compounds from onion skin wastes (*Allium cepa* cv. horcal): Effect of temperature and solvent properties. *Antioxidants*. 2020;9(12):1–20.
23. Huamán-Castilla NL, Mariotti-Celis MS, Martínez-Cifuentes M, Pérez-Correa JR. Glycerol as alternative co-solvent for water extraction of polyphenols from Carménère pomace: Hot pressurized liquid extraction and computational chemistry calculations. *Biomolecules*. 2020;10(3):1–14.
24. Nkurunziza D, Pendleton P, Chun BS. Optimization and kinetics modeling of okara isoflavones extraction using subcritical water. *Food Chem* [Internet]. 2019;295(May):613–21. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.05.129>

25. Huaman-Castilla NL, Martínez-Cifuentes M, Camilo C, Pedreschi F, Mariotti-Celis M, Pérez-Correa JR. The impact of temperature and ethanol concentration on the global recovery of specific polyphenols in an integrated HPLC/RF process on Carménère pomace extracts. *Molecules*. 2019;24(17):1–16.
26. Pagano I, Piccinelli AL, Celano R, Campone L, Gazzero P, Russo M, et al. Pressurized hot water extraction of bioactive compounds from artichoke by-products. *Electrophoresis*. 2018;39(15):1899–907.
27. Gavaric A, Ramic M, Vladic J, Pavlic B, Radosavljevic R, Vidovic S. Recovery of antioxidant compounds from aronia filter tea factory by-product: Novel versus conventional extraction approaches. *Acta Chim Slov*. 2018;65(2):438–47.
28. Pavlić B, Teslić N, Vidaković A, Vidović S, Velićanski A, Versari A, et al. Sage processing from by-product to high quality powder: I. Bioactive potential. *Ind Crops Prod*. 2017;107(May):81–9.
29. Getachew AT, Chun BS. Influence of pretreatment and modifiers on subcritical water liquefaction of spent coffee grounds: A green waste valorization approach. *J Clean Prod* [Internet]. 2017;142:3719–27. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jclepro.2016.10.096>
30. Pavlić B, Vidović S, Vladić J, Radosavljević R, Cindrić M, Zeković Z. Subcritical water extraction of sage (*Salvia officinalis* L.) by-products - Process optimization by response surface methodology. *J Supercrit Fluids*. 2016;116:36–45.
31. Plaza M, Abrahamsson V, Turner C. Extraction and neoformation of antioxidant compounds by pressurized hot water extraction from apple byproducts. *J Agric Food Chem*. 2013;61(23):5500–10.
32. Aliakbarian B, Fathi A, Perego P, Dehghani F. Extraction of antioxidants from winery wastes using subcritical water. *J Supercrit Fluids* [Internet]. 2012;65:18–24. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.supflu.2012.02.022>
33. Srinivas K, King JW, Monrad JK, Howard LR, Zhang D. Pressurized solvent extraction of flavonoids from grape pomace utilizing organic acid additives. *Ital J Food Sci*. 2011;23(1):90–105.
34. Luque-Rodríguez JM, Luque de Castro MD, Pérez-Juan P. Dynamic superheated liquid extraction of anthocyanins and other phenolics from red grape skins of winemaking residues. *Bioresour Technol*. 2007;98(14):2705–13.
35. García-Marino M, Rivas-Gonzalo JC, Ibáñez E, García-Moreno C. Recovery of catechins and proanthocyanidins from winery by-products using subcritical water extraction. *Anal Chim Acta*. 2006;563(1-2 SPEC. ISS.):44–50.
36. Plaza M, Turner C. Pressurized hot water extraction of bioactives. *TrAC - Trends Anal Chem* [Internet]. 2015;71:39–54. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.trac.2015.02.022>
37. Rodrigues LGG, Mazzutti S, Siddique I, da Silva M, Vitali L, Ferreira SRS. Subcritical water extraction and microwave-assisted extraction applied for the recovery of bioactive components from Chaya (*Cnidioscolus aconitifolius* Mill.). *J Supercrit Fluids* [Internet]. 2020;165:104976. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2020.104976>
38. Nuapia Y, Cukrowska E, Tutu H, Chimuka L. South African Journal of Botany Statistical comparison of two modeling methods on pressurized hot water extraction of vitamin C and phenolic compounds from *Moringa oleifera* leaves. *South African J Bot* [Internet]. 2020;129:9–16. Available at:

- <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2018.09.001>
39. Sandra P, Zorić Z, Bursać Kovačević D, Elez Garofulić I, Dragović-Uzelac V. Pressurized hot water extraction of phenolic compounds from leaves of *Stevia rebaudiana*: An UPLC-ESI-MS/MS study. *J Food Process Eng.* 2020;43(2):1–10.
 40. Ko MJ, Lee JH, Nam HH, Chung MS. Subcritical water extraction of phytochemicals from *Phlomis umbrosa* Turcz. *Innov Food Sci Emerg Technol* [Internet]. 2017;42(February):1–7. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ifset.2017.05.009>
 41. Ko MJ, Kwon HL, Chung MS. Pilot-scale subcritical water extraction of flavonoids from satsuma mandarin (*Citrus unshiu* Markovich) peel. *Innov Food Sci Emerg Technol* [Internet]. 2016;38:175–81. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ifset.2016.10.008>
 42. Matshediso PG, Cukrowska E, Chimuka L. Development of pressurised hot water extraction (PHWE) for essential compounds from *Moringa oleifera* leaf extracts. *Food Chem* [Internet]. 2015;172:423–7. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.09.047>
 43. Min KY, Lee KA, Kim HJ, Kim KT, Chung MS, Chang PS, et al. Antioxidative and anti-inflammatory activities of *Citrus unshiu* peel extracts using a combined process of subcritical water extraction and acid hydrolysis. *Food Sci Biotechnol.* 2014;23(5):1441–6.
 44. Ko MJ, Cheigh CI, Chung MS. Optimization of subcritical water extraction of flavanols from green tea leaves. *J Agric Food Chem.* 2014;62(28):6828–33.
 45. Lee KA, Kim KT, Kim HJ, Chung MS, Chang PS, Park H, et al. Antioxidant activities of onion (*Allium cepa* L.) peel extracts produced by ethanol, hot water, and subcritical water extraction. *Food Sci Biotechnol.* 2014;23(2):615–21.
 46. Ko MJ, Cheigh CI, Chung MS. Relationship analysis between flavonoids structure and subcritical water extraction (SWE). *Food Chem* [Internet]. 2014;143:147–55. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.07.104>
 47. Cheigh CI, Chung EY, Chung MS. Enhanced extraction of flavanones hesperidin and narirutin from *Citrus unshiu* peel using subcritical water. *J Food Eng* [Internet]. 2012;110(3):472–7. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2011.12.019>
 48. Ko MJ, Cheigh CI, Cho SW, Chung MS. Subcritical water extraction of flavonol quercetin from onion skin. *J Food Eng* [Internet]. 2011;102(4):327–33. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2010.09.008>
 49. Benjamin M, Stéphane R, Gérard V, Pierre-Yves P. Pressurized water extraction of isoflavones by experimental design from soybean flour and Soybean Protein Isolate. *Food Chem* [Internet]. 2017;214:9–15. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.07.053>
 50. Herrero M, Temirzoda TN, Segura-Carretero A, Quirantes R, Plaza M, Ibañez E. New possibilities for the valorization of olive oil by-products. *J Chromatogr A.* 2011;1218(42):7511–20.
 51. Kim DS, Lim S Bin. Semi-continuous subcritical water extraction of flavonoids from citrus unshiu peel: Their antioxidant and enzyme inhibitory activities. *Antioxidants.* 2020;9(5).
 52. Kim DS, Lim S Bin. Extraction of flavanones from immature *Citrus unshiu*

- pomace: process optimization and antioxidant evaluation. *Sci Rep* [Internet]. 2020;10(1):1–13. Available at: <https://doi.org/10.1038/s41598-020-76965-8>
53. Kim DS, Lim S Bin. Subcritical water extraction of rutin from the aerial parts of common buckwheat. *J Supercrit Fluids* [Internet]. 2019;152:104561. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2019.104561>
 54. Rodríguez-Pérez C, Mendiola JA, Quirantes-Piné R, Ibáñez E, Segura-Carretero A. Green downstream processing using supercritical carbon dioxide, CO₂-expanded ethanol and pressurized hot water extractions for recovering bioactive compounds from *Moringa oleifera* leaves. *J Supercrit Fluids*. 2016;116:90–100.
 55. Aćimović M, Šeregelj V, Šovljanski O, Tumbas Šaponjac V, Švarc Gajić J, Brezo-Borjan T, et al. In vitro antioxidant, antihyperglycemic, anti-inflammatory, and antimicrobial activity of *Satureja kitaibelii* Wierzb. ex Heuff. subcritical water extract. *Ind Crops Prod*. 2021;169(February).
 56. Li B, Akram M, Al-Zuhair S, Elnajjar E, Munir MT. Subcritical water extraction of phenolics, antioxidants and dietary fibres from waste date pits. *J Environ Chem Eng* [Internet]. 2020;8(6):104490. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.jece.2020.104490>
 57. Esmaeelian M, Jahani M, Einafshar S, Feizy J. Optimization of experimental parameters in subcritical water extraction of bioactive constituents from the saffron (*Crocus sativus* L.) corm based on response surface methodology. *J Food Meas Charact* [Internet]. 2020;14(4):1822–32. Available at: <https://doi.org/10.1007/s11694-020-00429-w>
 58. Essien S, Young B, Baroutian S. Subcritical water extraction for selective recovery of phenolic bioactives from *kānuka* leaves. *J Supercrit Fluids* [Internet]. 2020;158:104721. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2019.104721>
 59. Myint AA, Aregay MG, Kang M, Kim BS, Lee YW, Kim J. Comprehensive study on the formation mechanism of highly bioactive compounds from *Allium hookeri* root using subcritical water and their antioxidant and anticancer effects. *J Supercrit Fluids* [Internet]. 2020;157:104709. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2019.104709>
 60. Song R, Ismail M, Baroutian S, Farid M. Effect of Subcritical Water on the Extraction of Bioactive Compounds from Carrot Leaves. *Food Bioprocess Technol*. 2018;11(10):1895–903.
 61. Moreira MM, Barroso MF, Porto JV, Ramalhosa MJ, Švarc-Gajić J, Estevinho L, et al. Potential of Portuguese vine shoot wastes as natural resources of bioactive compounds. *Sci Total Environ*. 2018;634:831–42.
 62. Mašković PZ, Veličković V, Đurović S, Zeković Z, Radojković M, Cvetanović A, et al. Biological activity and chemical profile of *Lavatera thuringiaca* L. extracts obtained by different extraction approaches. *Phytomedicine*. 2018;38(January 2017):118–24.
 63. Zeković Z, Cvetanović A, Švarc-Gajić J, Gorjanović S, Sužnjević D, Mašković P, et al. Chemical and biological screening of stinging nettle leaves extracts obtained by modern extraction techniques. *Ind Crops Prod*. 2017;108(July):423–30.
 64. Tomšik A, Pavlić B, Vladić J, Cindrić M, Jovanov P, Sakač M, et al. Subcritical water extraction of wild garlic (*Allium ursinum* L.) and process optimization by response surface methodology. *J Supercrit Fluids*. 2017;128(May):79–88.

65. Cvetanović A, Švarc-Gajić J, Zeković Z, Mašković P, Đurović S, Zengin G, et al. Chemical and biological insights on aronia stems extracts obtained by different extraction techniques: From wastes to functional products. *J Supercrit Fluids*. 2017;128(February):173–81.
66. Veličković V, Đurović S, Radojković M, Cvetanović A, Švarc-Gajić J, Vujić J, et al. Application of conventional and non-conventional extraction approaches for extraction of *Erica carnea* L.: Chemical profile and biological activity of obtained extracts. *J Supercrit Fluids*. 2017;128(March):331–7.
67. Naffati A, Vladić J, Pavlić B, Radosavljević R, Gavarić A, Vidović S. Recycling of filter tea industry by-products: Application of subcritical water extraction for recovery of bioactive compounds from *A. uva-ursi* herbal dust. *J Supercrit Fluids*. 2017;121:1–9.
68. Cvetanović A, Švarc-Gajić J, Gašić U, Tešić Ž, Zengin G, Zeković Z, et al. Isolation of apigenin from subcritical water extracts: Optimization of the process. *J Supercrit Fluids*. 2017;120:32–42.
69. Liao BC, Ponnusamy VK, Lee MR, Jong TT, Chen JH. Development of pressurized hot water extraction for five flavonoid glycosides from defatted *Camellia oleifera* seeds (byproducts). *Ind Crops Prod* [Internet]. 2017;95:296–304. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.10.034>
70. Đukić D, Mašković P, Vesković Moračanin S, Kurćubić V, Milijašević M, Babić J. Conventional and unconventional extraction methods applied to the plant, *Thymus serpyllum* L. *IOP Conf Ser Earth Environ Sci*. 2017;85(1).
71. Getachew AT, Chun BS. Influence of hydrothermal process on bioactive compounds extraction from green coffee bean. *Innov Food Sci Emerg Technol* [Internet]. 2016;38:24–31. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ifset.2016.09.006>
72. Fan R, Xiang J, Li N, Jiang X, Gao Y. Impact of extraction parameters on chemical composition and antioxidant activity of bioactive compounds from Chinese licorice (*Glycyrrhiza uralensis* Fisch.) by subcritical water. *Sep Sci Technol* [Internet]. 2016;51(4):609–21. Available at: <http://dx.doi.org/10.1080/01496395.2015.1117103>
73. Cheng Y, Qu S, Wang Z, Xue F, Li F. Controlled Extraction of Flavonoids From *Radix Scutellariae* by Subcritical Water. *Clean - Soil, Air, Water*. 2016;44(3):299–303.
74. Xu H, Wang W, Jiang J, Yuan F, Gao Y. Subcritical water extraction and antioxidant activity evaluation with on-line HPLC-ABTS.+ assay of phenolic compounds from marigold (*Tagetes erecta* L.) flower residues. *J Food Sci Technol*. 2015;52(6):3803–11.
75. Gong Y, Zhang X, He L, Yan Q, Yuan F, Gao Y. Optimization of subcritical water extraction parameters of antioxidant polyphenols from sea buckthorn (*Hippophaë rhamnoides* L.) seed residue. *J Food Sci Technol*. 2015;52(3):1534–42.
76. Zeković Z, Vidović S, Vladić J, Radosavljević R, Cvejic A, Elgndi MA, et al. Optimization of subcritical water extraction of antioxidants from *Coriandrum sativum* seeds by response surface methodology. *J Supercrit Fluids*. 2014;95:560–6.
77. Wallace SN, Raible J, Carrier DJ, Vaughn KL, Griffis CL, Clausen EC, et al. Pressurized water versus ethanol as a *Silybum marianum* extraction solvent for

- inhibition of low-density lipoprotein oxidation mediated by copper and J774 macrophage cells. *Can J Physiol Pharmacol*. 2007;85(9):894–902.
78. Chen C, Lee Y, Chang CJ, Lee M, Wei I. Hot-pressurized fluid extraction of flavonoids and phenolic acids from Brazilian propolis and their cytotoxic assay in vitro. 2007;38:191–6.
 79. Bodoira R, Velez A, Andreatta AE, Martínez M, Maestri D. Extraction of bioactive compounds from sesame (*Sesamum indicum* L.) defatted seeds using water and ethanol under sub-critical conditions. *Food Chem* [Internet]. 2017;237:114–20. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.05.102>
 80. Bodoira R, Rossi Y, Montenegro M, Maestri D, Velez A. Extraction of antioxidant polyphenolic compounds from peanut skin using water-ethanol at high pressure and temperature conditions. *J Supercrit Fluids* [Internet]. 2017;128(March):57–65. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.supflu.2017.05.011>
 81. Sun H, Yuan X, Zhang Z, Su X, Shi M. Thermal Processing Effects on the Chemical Constituent and Antioxidant Activity of Okara Extracts Using Subcritical Water Extraction. *J Chem*. 2018;2018.
 82. Šafranko S, Ćorković I, Jerković I, Jakovljević M, Aladić K, Šubarić D, et al. Green extraction techniques for obtaining bioactive compounds from mandarin peel (*Citrus unshiu* var. Kuno): Phytochemical analysis and process optimization. *Foods*. 2021;10(5).
 83. Castro-Puyana M, Marina ML, Plaza M. Water as green extraction solvent: Principles and reasons for its use. *Curr Opin Green Sustain Chem* [Internet]. 2017;5:31–6. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cogsc.2017.03.009>
 84. Guthrie F, Wang Y, Neeve N, Quek SY, Mohammadi K, Baroutian S. Recovery of phenolic antioxidants from green kiwifruit peel using subcritical water extraction. *Food Bioprod Process* [Internet]. 2020;122:136–44. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2020.05.002>
 85. Lachos-Perez D, Baseggio AM, Mayanga-Torres PC, Maróstica MR, Rostagno MA, Martínez J, et al. Subcritical water extraction of flavanones from defatted orange peel. *J Supercrit Fluids* [Internet]. 2018;138(March):7–16. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2018.03.015>
 86. Kim DS, Lim S Bin. Kinetic study of subcritical water extraction of flavonoids from citrus unshiu peel. *Sep Purif Technol* [Internet]. 2020;250(June):117259. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2020.117259>
 87. Cvetanović A, Švarc-Gajić J, Zeković Z, Gašić U, Tešić Ž, Zengin G, et al. Subcritical water extraction as a cutting edge technology for the extraction of bioactive compounds from chamomile: Influence of pressure on chemical composition and bioactivity of extracts. *Food Chem*. 2018;266(June):389–96.
 88. Hartonen K, Parshintsev J, Sandberg K, Bergelin E, Nisula L, Riekkola ML. Isolation of flavonoids from aspen knotwood by pressurized hot water extraction and comparison with other extraction techniques. *Talanta*. 2007;74(1):32–8.
 89. Cheigh CI, Yoo SY, Ko MJ, Chang PS, Chung MS. Extraction characteristics of subcritical water depending on the number of hydroxyl group in flavonols. *Food Chem* [Internet]. 2015;168:21–6. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.07.047>
 90. Vidović S, Nastić N, Gavarić A, Cindrić M, Vladić J. Development of green extraction process to produce antioxidant-rich extracts from purple coneflower.

- Sep Sci Technol [Internet]. 2019;54(7):1174–81. Available at: <https://doi.org/10.1080/01496395.2018.1527854>
91. Hwang HJ, Kim HJ, Ko MJ, Chung MS. Recovery of hesperidin and narirutin from waste Citrus unshiu peel using subcritical water extraction aided by pulsed electric field treatment. *Food Sci Biotechnol* [Internet]. 2021;30(2):217–26. Available at: <https://doi.org/10.1007/s10068-020-00862-z>
 92. Elmi Kashtiban A, Esmaili M. Extraction of phenolic compounds from Siah-Sardasht grape skin using subcritical water and ultrasound pretreatment. *J Food Process Preserv*. 2019;43(9):1–10.
 93. Rahnemoon P, Sarabi Jamab M, Javanmard Dakheli M, Bostan A, Safari O. Comparison of two methods of solvent extraction of phenolic compounds from pomegranate (*Punica granatum* L.) peels. *J Agric Sci Technol*. 2018;20(5):939–52.
 94. Dzah CS, Duan Y, Zhang H, Authur DA, Ma H. Ultrasound-, subcritical water- and ultrasound assisted subcritical water-derived Tartary buckwheat polyphenols show superior antioxidant activity and cytotoxicity in human liver carcinoma cells. *Food Res Int* [Internet]. 2020;137(July):109598. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109598>
 95. Granato D, Santos JS, Maciel LG, Nunes DS. Chemical perspective and criticism on selected analytical methods used to estimate the total content of phenolic compounds in food matrices. *TrAC - Trends Anal Chem* [Internet]. 2016;80:266–79. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.trac.2016.03.010>
 96. Cvetanović A, Švarc-Gajić J, Mašković P, Savić S, Nikolić L. Antioxidant and biological activity of chamomile extracts obtained by different techniques: Perspective of using superheated water for isolation of biologically active compounds. *Ind Crops Prod*. 2015;65:582–91.
 97. Jokić S, Nastić N, Vidović S, Flanjak I, Aladić K, Vladić J. An approach to value cocoa bean by-product based on subcritical water extraction and spray drying using different carriers. *Sustain*. 2020;12(6).
 98. Luo X, Cui J, Zhang H, Duan Y. Subcritical water extraction of polyphenolic compounds from sorghum (*Sorghum bicolor* L.) bran and their biological activities. *Food Chem* [Internet]. 2018;262(301):14–20. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.04.073>
 99. Plaza M, Oliveira D, Nilsson A, Turner C. Green and Efficient Extraction Method to Determine Polyphenols in Cocoa and Cocoa Products. 2017;2677–91.
 100. Xu S, Fang D, Tian X, Xu Y, Zhu X, Wang Y, et al. Subcritical water extraction of bioactive compounds from waste cotton (*Gossypium hirsutum* L.) flowers. *Ind Crops Prod* [Internet]. 2021;164(February):113369. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2021.113369>
 101. Liu X, Wang Y, Zhang J, Yan L, Liu S, Taha AA, et al. Subcritical water extraction of phenolic antioxidants with improved α -amylase and α -glucosidase inhibitory activities from exocarps of *Castanea mollissima* Blume. *J Supercrit Fluids* [Internet]. 2020;158:104747. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2019.104747>
 102. Ho TC, Chun BS. Extraction of Bioactive Compounds from *Pseuderanthemum palatiferum* (Nees) Radlk. Using Subcritical Water and Conventional Solvents: A Comparison Study. *J Food Sci*. 2019;84(5):1201–7.

103. Ko MJ, Nam HH, Chung MS. Subcritical water extraction of bioactive compounds from *Orostachys japonicus* A. Berger (Crassulaceae). *Sci Rep* [Internet]. 2020;10(1):1–10. Available at: <https://doi.org/10.1038/s41598-020-67508-2>
104. Kumar MSY, Dutta R, Prasad D, Misra K. Subcritical water extraction of antioxidant compounds from Seabuckthorn (*Hippophae rhamnoides*) leaves for the comparative evaluation of antioxidant activity. *Food Chem* [Internet]. 2011;127(3):1309–16. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.01.088>
105. Kim DS, Kim MB, Lim S Bin. Enhancement of Phenolic Production and Antioxidant Activity from Buckwheat Leaves by Subcritical Water Extraction. *Prev Nutr Food Sci*. 2017;22(4):345–52.
106. Jo EK, Lee SC. Antioxidant and acetylcholinesterase inhibitory activities of subcritical water extracts from *Houttuynia cordata* Thunb. *J Korean Soc Food Sci Nutr*. 2011;40(10):1391–6.
107. Lachos-Perez D, Baseggio AM, Torres-Mayanga PC, Ávila PF, Tompsett GA, Marostica M, et al. Sequential subcritical water process applied to orange peel for the recovery flavanones and sugars. *J Supercrit Fluids*. 2020;160.
108. Li-Hsun C, Ya-Chuan C, Chieh-Ming C. Extracting and purifying isoflavones from defatted soybean flakes using superheated water at elevated pressures. *Food Chem*. 2004;84(2):279–85.
109. Zhao T, Luo Y, Zhang X, Zhang W, Qu H, Mao G, et al. Subcritical water extraction of bioactive compounds from *Radix Puerariae* and optimization study using response surface methodology. *Chem Eng Commun* [Internet]. 2019;206(9):1218–27. Available at: <https://doi.org/10.1080/00986445.2018.1555529>
110. Vladić J, Jakovljević M, Molnar M, Vidović S, Tomić M, Drinić Z, et al. Valorization of yarrow (*Achillea millefolium* L.) by-product through application of subcritical water extraction. *Molecules*. 2020;25(8).
111. Vladić J, Janković T, Živković J, Tomić M, Zdunić G, Šavikin K, et al. Comparative Study of Subcritical Water and Microwave-Assisted Extraction Techniques Impact on the Phenolic Compounds and 5-Hydroxymethylfurfural Content in Pomegranate Peel. *Plant Foods Hum Nutr*. 2020;75(4):553–60.
112. Švarc-Gajić J, Cvetanović A, Segura-Carretero A, Mašković P, Jakšić A. Functional coffee substitute prepared from ginger by subcritical water. *J Supercrit Fluids*. 2017;128(January):32–8.

Revista Fitos

e-ISSN: 2446-4775 e ISSN: 1808-9569

Endereço: Av. Comandante Guarany, 447, Jacarepaguá, CEP 22775-903, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

Telefone: 21- 3348.5598

E-mail: revistafitos@far.fiocruz.br.

[Visualizar versão vigente online](#)

Última atualização: 31/03/2021

A Revista Fitos (Farmanguinhos/Fiocruz) é um periódico interdisciplinar de publicação trimestral que tem por objetivo publicar artigos científicos originais sobre Pesquisa, Desenvolvimento e Inovação em Biodiversidade e Saúde.

1. A Revista Fitos aceita artigos para as seguintes seções

1.1. Perspectiva: Análises de temas conjunturais, de interesse imediato e sobre a importância do tema, em geral a convite dos Editores, com o máximo de 2.200 palavras e até seis (6) referências.

1.2. Debate: Análise de temas relevantes do campo da Inovação, Biodiversidade e Saúde. A publicação é acompanhada por comentários críticos assinados por pesquisadores conceituados, convidados a critério da editoria, seguida de resposta do autor do artigo principal, com o máximo de 6.000 palavras e 5 ilustrações.

1.3. Artigo de pesquisa: Inclui estudos descritivos, de abordagens qualitativas e/ou quantitativas, incluindo os de pesquisa básica com animais de laboratório, estudos controlados e randomizados, caso-controle e transversais, outros. Texto com, no máximo, 6.000 palavras (excluindo tabelas/ figuras e referências) e, no máximo, trinta (30) referências. Artigos que relatam ensaios clínicos (clinical trials) deverão informar adesão ao CONSORT (<http://www.consort-statement.org/>) e ter cadastro em um dos Registros de Ensaios Clínicos listados pela Organização Mundial da Saúde ou no *National Institute of Health* (NIH) (www.clinicaltrials.gov). Em casos de submissão de estudos observacionais, solicita-se adesão aos guias do STROBE (<https://www.strobe-statement.org/index.php?id=strobe-home>) para a reparação do manuscrito.

1.4. Revisão: Avaliações críticas e ordenadas da literatura sobre temas pertinentes ao escopo da Revista Fitos, incluindo os tipos de revisões–narrativas, integrativas, sistemáticas e meta-análises. Os autores destes últimos, devem incluir no corpo do manuscrito o número do registro do protocolo da revisão no PROSPERO (<http://www.crd.york.ac.uk/PROSPERO/>). Para a elaboração do manuscrito os autores devem seguir as normas propostas pelo PRISMA (<http://www.prisma-statement.org/>). Autores podem também submeter à Equipe Editorial Científica uma proposta de artigo de revisão, com um roteiro. Se aprovado, o autor pode desenvolver o roteiro e submetê-lo para publicação. Artigos de revisão devem limitar-se a 8.000 palavras (excluindo tabelas/ figuras e referências) e, no máximo, quarenta (40) referências atuais.

1.5. Relato de Experiência: Descrição de experiência que contribua de forma relevante para a área de atuação, contextualizado, com objetividade e aporte teórico, incluindo resumo, introdução com marco teórico e objetivo(s), metodologia, descrição da experiência, discussão, agradecimento (quando houver). Texto contendo até 6.000 palavras e, no máximo, vinte (20) referências e, até quatro (4) figuras. As figuras podem ser organizadas sob a forma de prancha. Cada prancha será considerada como uma figura.

1.6. Comunicação Breve: Relato de resultados preliminares de pesquisa, ou ainda, de estudos originais que possam ser apresentados como revisão ou na estrutura de artigo, mas de forma sucinta, com o máximo de 1.700 palavras e até cinco (5) referências.

1.7. Monografia de Planta(s) Medicinal(is): Visam agrupar, padronizar e sistematizar o conhecimento das características e propriedades das plantas medicinais para orientar o registro em órgãos de regulamentação. Texto contendo até 3.500 palavras e, no máximo, vinte (20) referências.

1.8. Resenha: resenha crítica de livro, dissertações, teses e outros, publicado nos últimos dois anos com, no máximo, 1.200 palavras.

1.9. Carta ao Editor: Comentários com conteúdo crítico construtivo acerca de material previamente publicado na Revista Fitos. Deve ser diretamente submetida aos Editores Associados. Texto com até 700 palavras e, no máximo, seis (6) referências bibliográficas. Sempre que possível, uma resposta dos autores será publicada junto a carta. Editoriais e comentários são encomendados a autoridades em áreas específicas. O Conselho Editorial também analisa propostas de comentários submetidas espontaneamente.

2. Processo de Avaliação/Revisão por pares (“peer review”)

2.1. O conteúdo integral publicado na Revista Fitos (Farmanguinhos/Fiocruz) passa pelo processo de revisão por pares (*Peer review*). Inicialmente os manuscritos submetidos são direcionados aos editores científicos, para avaliação inicial quanto ao atendimento das normas requeridas para envio dos originais e o mérito do trabalho, decidindo assim, sobre a aprovação de sua submissão, com ou sem alterações. Na sequência, o artigo é enviado para um processo de avaliação por pares, duplo-cega, selecionados de um cadastro de revisores de instituições nacionais e internacionais. Após receber os pareceres dos avaliadores, os Editores Científicos/Associados decidirão pela aceitação do manuscrito sem modificações, pela devolução aos autores com sugestões de modificações ou pela rejeição. Os Editores Científicos/Associados têm a responsabilidade de reencaminhar o artigo aos autores para esclarecimentos, tantas vezes quanto necessário, e, a qualquer momento, por decisão dos Editores o documento pode ter sua recusa determinada. Cada nova versão é analisada pelos Editores Científicos, que detém o poder da decisão final.

3. Normas para submissão e apresentação do manuscrito

3.1. A Revista Fitos publica artigos científicos inéditos e originais, que não estejam em avaliação simultânea em nenhum outro periódico, cuja identificação fará com que o manuscrito seja desconsiderado para publicação.

3.2. Não há cobrança de taxas para submissão, avaliação e publicação dos artigos.

3.3. São aceitos manuscritos em português, inglês e espanhol.

3.4. Todos os artigos são publicados em formato PDF e HTML.

3.5. O conteúdo integral da Revista Fitos de livre acesso, está disponibilizado no site <http://www.revistafitos.far.fiocruz.br/>, com licença de publicação CC BY 4.0 (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

3.6. Os manuscritos deverão ser acompanhados pelo Termo de Cessão de Direitos Autorais preenchido e assinado individualmente, por todos os autores, e inserido no sistema no momento da sua submissão. [Baixe aqui o Termo](#).

4. Formatação do Manuscrito

4.1. O manuscrito deve ser redigido com fonte Arial tamanho 12, em folha configurada em tamanho A4, com espaço 1,5 e margem de 3 cm de cada um dos lados, incluindo as referências bibliográficas e títulos/legendas de tabelas e ilustrações.

4.2. O arquivo deverá apresentar-se em formato digital, extensão “doc” ou “docx”. Arquivos em Adobe® PDF format (.pdf files) não serão aceitos.

4.3. No cabeçalho, antes do Título deve ser informado a seção: perspectiva, debate, artigo de pesquisa, revisão, relato de experiência, comunicação breve, monografia de planta(s) medicinal(is), resenha, carta ao editor.

4.4. A organização do manuscrito deve seguir a ordem: título, resumo em português, resumo em inglês, texto, agradecimentos, referências bibliográficas, tabelas (cada tabela completa, com título e legendas, inseridas no corpo do texto), figuras (cada figura completa, com título e legendas, inseridas no corpo do texto). Para mais informações, [consultar Seções dos manuscritos](#).

4.5. O Título e os Subtítulos, em negrito, deverá ter a primeira palavra escrita com a primeira letra maiúscula.

4.6. Não serão aceitas notas de rodapé.

4.7. Siglas devem ser escritas por extenso, quando aparecem a primeira vez no texto, incluindo Resumo e Abstract.

5. Fontes de Financiamento

5.1. Os autores devem declarar todas as fontes de financiamento ou suporte, institucional ou privado de auxílio à pesquisa.

6. Conflito de Interesses

6.1. Caso haja conflito de interesse, que envolva o manuscrito, este deverá ser informado no formulário de submissão.

7. Colaboradores e ORCID

7.1. Especificar as contribuições individuais de cada autor na elaboração do artigo. Os critérios de autoria devem basear-se nas deliberações do ICMJE, que estabelece o seguinte: o reconhecimento da autoria deve estar baseado em contribuição substancial relacionada aos seguintes aspectos: 1. Concepção e projeto ou análise e interpretação dos dados; 2. Redação do artigo ou revisão crítica relevante do conteúdo intelectual; 3. Aprovação final da versão a ser publicada; 4. Ser responsável por todos os aspectos do trabalho na garantia da exatidão e integridade de qualquer parte da obra. Essas quatro condições devem ser integralmente atendidas. ([Tutorial](#))

Todos os autores deverão informar o número de registro do ORCID no cadastro de autoria do artigo. Não serão aceitos autores sem registro.

7.2. Os autores mantêm o direito autoral da obra, concedendo à Revista Fitos o direito de primeira publicação.

8. Agradecimentos

8.1. Opcionais.

8.2. Devem ser breves e objetivos. Somente devem ser mencionadas as pessoas ou instituições que contribuíram significativamente para o estudo, mas que não tenham preenchido os critérios de autoria.

9. Referências

9.1. As referências devem ser numeradas e ordenadas na sequência das citações no texto. As citações no texto devem ser identificadas por algarismos arábicos, entre chaves e sobrescritos. Seguir a sequência da numeração das citações, também, nas tabelas, caso haja.

9.2. Devem ser formatadas no estilo Vancouver, também conhecido como o estilo *Uniform Requirements*.

9.3. Artigos aceitos para publicação, mas ainda não publicados podem ser citados desde que seja feita a indicação da revista e que o respectivo artigo está na pré-publicação em "Ahead of Print".

9.4. Os títulos dos periódicos devem ser abreviados conforme recomenda o Index Medicus; uma lista com suas respectivas abreviaturas pode ser obtidas através da publicação da NLM "List of Serials Indexed for Online Users", disponível no endereço www.nlm.nih.gov/tsd/serials/lsiou.html. Para visualizar alguns exemplos do modelo adotado pela Revista Fitos. Para mais informações, [consulte o documento "Exemplos de Referências"](#).

10. Nomenclatura Científica

Para os nomes científicos devem ser seguidas as regras de nomenclatura botânica e zoológica, bem como as abreviaturas e convenções específicas.

10.1. Nomenclatura Botânica

Os nomes científicos de plantas devem ser escritos de acordo com o Código Internacional de Nomenclatura Botânica, sem abreviaturas no resumo/abstract e no corpo do texto, para cada espécie citada pela primeira vez, mas quando várias espécies pertencerem ao mesmo gênero basta citar apenas para a primeira (por exemplo, *Mentha piperita* e *M. acuta*). A autoria da espécie (por exemplo, L., Opiz) é necessária apenas na seção de Metodologia, de acordo com o The International Plant Names Index (www.ipni.org) e com a Flora do Brasil 2020 (<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/>). Cultivares ou variedades devem ser correlacionados ao nome científico (por exemplo, *Ximenia americana* var. *inermis*). Os autores devem informar na Metodologia/Material e Métodos o espécime e número do *voucher* de referência das plantas utilizadas ou outro material examinado.

11. Ética e Integridade em Pesquisa

12.1. Os manuscritos de pesquisas envolvendo animais e/ou seres humanos deverão ser acompanhados do Certificado de Aprovação de um Comitê de Ética em Pesquisa, emitidos pela instituição de origem do(s) autor(es), cujo número do protocolo deverá ser citado no texto.

12.2. As autorizações para acesso ao patrimônio genético e ao conhecimento tradicional associado devem ser apresentadas e citadas no corpo do texto quando pertinente.

Antes de submeter o manuscrito é importante que o(a)s autor(a)s observem/verifiquem:

a) **estilo científico**: deve ser informativo, racional, baseado em dados concretos, onde podem ser aceitos argumentos de ordem subjetiva, desde que explanados sob um ponto de vista científico;

b) **vocabulário técnico**: a comunicação científica deve ser feita com termos comuns, que garantam a objetividade da comunicação. Porém, deve ser observado que cada área científica possui seu vocabulário técnico próprio;

c) **correção gramatical**: a observação da correção do texto deve ser feita com cuidado, evitando-se o uso excessivo de orações subordinadas em único parágrafo, o excesso de parágrafos, lembrando que cada parágrafo encerra uma pequena ideia defendida no texto, logo, encerrada a ideia, muda-se o parágrafo.

d) **testar todos os hiperlinks das referências**; passando o mouse por cima dos hiperlinks verifique se os endereços informados estão corretos ([Tutorial](#));

e) **realizar o checklist** para fazer a verificação final. [Baixe aqui o checklist](#).

Finalizamos, lembrando que a submissão do manuscrito só será aceita se o mesmo atender plenamente à Instrução aos Autores.