

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL
CAMPUS LARANJEIRAS DO SUL
BACHAREL EM ENGENHARIA DE ALIMENTOS**

EDLAINE COSTA

**OTIMIZAÇÃO DA EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS POR MEIO DE
TÉCNICA SUSTENTÁVEL**

**LARANJEIRAS DO SUL
2023**

EDLAINE COSTA

**OTIMIZAÇÃO DA EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS POR MEIO DE
TÉCNICAS SUSTENTÁVEIS**

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao
Curso de Engenharia de Alimentos da Universidade
Federal da Fronteira Sul (UFFS), como requisito
para obtenção do título de Bacharel em Engenharia
de alimentos.

Orientador: Prof. Dr.^a Vania Zanella Pinto

LARANJEIRAS DO SUL

2023

Bibliotecas da Universidade Federal da Fronteira Sul - UFFS

Costa, Edlaine Santos da
OTIMIZAÇÃO DA EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS POR
MEIO DE TÉCNICA SUSTENTÁVEL / Edlaine Santos da Costa.
-- 2023.
36 f.:il.

Orientadora: Professora Doutora Vania Zanella Pinto

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) -
Universidade Federal da Fronteira Sul, Curso de
Bacharelado em Engenharia de Alimentos, Laranjeiras do
Sul, PR, 2023.

1. Solventes verdes. 2. folhas de jabuticaba. 3.
ultrassom. I. Pinto, Vania Zanella, orient. II.
Universidade Federal da Fronteira Sul. III. Título.

EDLAINE COSTA

**OTIMIZAÇÃO DA EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS POR MEIO DE
TÉCNICAS SUSTENTÁVEIS.**

Trabalho de conclusão de curso requisito parcial para obtenção do grau de Bacharel em Engenharia de Alimentos na Universidade Federal da Fronteira Sul – Campus Laranjeiras do Sul.

Este trabalho foi defendido e aprovado pela banca em 03/03/2023

BANCA EXAMINADORA

Documento assinado digitalmente

gov.br **VANIA ZANELLA PINTO**
Data: 22/04/2024 11:13:38-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof.^a Dr.^a Vania Zanella Pinto – UFFS
Orientadora



Documento assinado digitalmente
Mayara Kuasnei
Data: 02/10/2023 13:12:32-0300
CPF: ***.346.799-**
Verifique as assinaturas em <https://v.ufsc.br>

Ms. Mayara Kuasnei – UFSC
Avaliador

Documento assinado digitalmente
gov.br **YASMINE MIGUEL SERAFINI MICHELETTO**
Data: 02/10/2023 14:39:08-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof^a. Dr^a. Yasmione Miguel Serafini Micheletto – UFFS
Avaliador

Dedico este trabalho a mim por não ter
desistido e enfrentado tantos desafios e
dificuldades durante a graduação.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por ter me dado saúde, coragem e força nessa jornada. Agradeço muito aos meus pais Eunice e Edmilson, pois sem a boa criação e força que eles me transmitiram antes de partir eu não conseguiria chegar até esta etapa.

Agradeço aos meus irmãos Eliane e Eder por todo apoio e suporte, por terem investido em todos esses anos na minha graduação, por sempre me ampararem e me incentivarem a não desistir, por mais que nossas perdas e dores fossem as mesmas, sempre me apoiaram e faço dessa conquista a nossa conquista.

Agradeço a professora Vânia por me convidar para ser sua orientada em 2018 e me fazer me encontrar no curso, por me acompanhar durante todos esses anos, parabenizá-la pelo excelente trabalho como professora e orientadora, por ser compreensível e prestativa. Obrigada por transmitir toda energia boa e sempre me levantar quando estava desanimada.

Agradecer aos professores Gustavo e Thiago por cada conselho e cada história de sua graduação, que me serviram de inspiração. Obrigada pelas vezes que me incentivaram continuar, as vezes que me ajudaram nas disciplinas, pelos conselhos e apoio.

Agradecer a banca avaliadora, Mayara pelo apoio no início da pesquisa e a professora Yasmine por ter influência no meu primeiro contato com substâncias eutéticas na matéria de físico-química e despertado interesse para aplicação no projeto de iniciação científica, é uma honra ter vocês como banca avaliadora, admiro muito vocês duas.

Agradeço aos meus colegas de turma, por inúmeras ajudas na graduação, por todo suporte e companheirismo. E aos meus amigos que conheci durante a graduação, com certeza a mudança de estado e ser inserida em outra cultura contribuiu muito para meu crescimento.

O presente trabalho foi escrito em formato de artigo seguindo as normas da revista Journal of Food Science and Technology.

RESUMO

A jabuticabeira é uma planta nativa da América do Sul que produz frutos comestíveis. As plantas nativas têm sido apontadas como promissoras para o desenvolvimento de extratos, devido à presença de compostos bioativos benéficos à saúde, especialmente nos frutos. No entanto, poucas pesquisas têm sido desenvolvidas a respeito das propriedades das folhas. Contudo, as extrações de compostos bioativos são seletivas, pois demanda afinidade do solvente e do método de extração com a matriz da amostra. Dentro da gama de solventes verdes, destacam-se os solventes eutéticos profundos naturais (NADES), caracterizados por serem não tóxicos, biodegradáveis e proporcionam alto rendimento. Além disso, métodos sustentáveis como a extração assistida por ultrassom são tidos como metodologias emergentes, que promovem rápida extração de menor impacto ambiental. Portanto, o objetivo deste trabalho foi estudar a cinética de extração de compostos fenólicos de folhas de jabuticabeira por meio da extração assistida por ultrassom e em seguida, otimizar os parâmetros de extração realizando um planejamento multivariado fatorial 2³. A cinética de extração foi realizada com 0,75g de amostra (M), 60% e amplitude do sonicador (A) e 20% de NADES. A otimização foi estudada com 3 pontos centrais e 2 pontos axiais variando M (0,25-1,75 g), A (30-90%) e NADES (10-30%) para a concentração de compostos fenólicos totais (CFT). Desta forma, após 8 min obteve-se uma extração eficiente e nos tempos posteriores verificou-se uma linearidade. Assim, fixando o tempo de 8 min, foi determinado que os parâmetros de massa da amostra de 0,75g, amplitude de 60% e concentração de 30% de solvente apresentando variação na extração de $32,22 \pm 0,19$ a $233,31 \pm 4,35$ mg AGE/g de folhas de jabuticaba secas. Por fim, por meio das curvas de superfície e das curvas de contorno observou-se uma tendência para otimizar a extração. Portanto, a menor proporção de amplitude, quantidade de massa e concentração de NADES resultou na maior extração, sendo aproximadamente 233,31 mg AGE/g de folhas de jabuticaba.

Palavras-chave: NADES, Solventes verdes, folhas de jabuticaba ultrassom e *Plinia cauliflora*.

ABSTRACT

Jabuticabeira is a native plant from South America, which produces edible fruits. Native plants have been promising for the development of extracts due to their bioactive compounds beneficial to health, especially in fruits. However, research on plants leaf properties are scarce. So, the extraction of bioactive compounds are selective, as it requires proper extraction method and solvent affinity with sample matrix. Within the range of green solvents, the natural euthectic solvents (Nades), characterized by non-toxic, biodegradable and provide high yields, stand out. In addition, sustainable methods such as ultrasound assisted extraction are regarded as emerging methodologies, which promote rapid extraction of less environmental impact. Therefore, the objective was to study the phenolic compound kinetics of jabuticabeira leaves through ultrasound assisted extraction and then optimize extraction parameters by performing a factorial multivariable planning 2^3 . The extraction kinetics was performed with 0.75g of sample (M), 60% of sonator amplitude (A) and 20% of Nades, and the optimization was studied with 3 central points and 2 axial points ranging M (0.25-1.75 g), A (30-90 %) and Nades (10-30%) for the concentration of total phenolic compounds (CFT). Thus, after 8 min an efficient extraction was obtained and in later times a linearity remained. Thus, fixing the time of 8 min it was determined that the mass parameters of the sample, amplitude, and concentration of the solvent results in a variation between 32.22 ± 0.19 to 233.31 ± 4.35 mg AGE/g of dry jabuticaba leaves. However, through the surface curves and the contour curves, a tendency was observed to optimize extraction. Therefore, the lowest proportion of amplitude, amount of mass and Nades concentration resulted in greater extraction, approximately 233.31 mg AGE/g of jabuticaba leaves.

Keywords: Nades, Green solvents, ultrasound extraction, *Plinia cauliflora*.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	10
2. MATERIAIS E MÉTODOS.....	13
2.1 Material vegetal	13
2.2 Prepara do líquido eutéticos profundos (NADES)	13
2.3 Determinação de compostos fenólicos totais (CFT)	13
2.4 Cinética de Extração	14
2.4 Delineamento Experimental	14
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	16
3.1 Estudo da cinética de extração	16
3.2 Delineamento experimental multivariado.....	17
4. CONCLUSÃO.....	23
5. REFERÊNCIAS	24

1. INTRODUÇÃO

A jabuticaba pertencente à família das Myrtaceae, sendo uma árvore frutífera e seus frutos são popularmente consumidos *in natura* ou de forma processada como geleias, sucos e sobremesas geladas. As folhas e os frutos pertencentes a família das Myrtaceae e são promissoras para uso medicinal devido às suas atividades anti-inflamatórias e antioxidantes, sendo ricas em compostos bioativos. Assim, o estudo de folhas de árvores frutíferas tem ganhado destaque na comunidade científica (GAWRON-GZELLA; CHANAJ-KACZMAREK; CIELECKA-PIONTEK, 2021; STEFANELLO; R F PASCOAL; SALVADOR, 2011; UEDA, 2020), porém, as folhas das jabuticabeiras ainda são pouco exploradas.

Sendo assim, devido a concentração de polifenóis presentes em folhas que promovem benefícios à saúde, torna-se importante a extração de compostos bioativos para aplicação na indústria de alimentos, colaborando com o desenvolvimento de alimentos funcionais (IGNAT; VOLF; POPA, 2011). Entretanto, na extração de compostos bioativo deve-se selecionar métodos e solventes compatíveis, que possuem afinidade com os compostos presentes na matéria-prima de interesse (REBOCHO et al., 2022).

Os solventes eutéticos profundos naturais (NADES) pertencem a classe de solventes verdes, por serem caracterizados como não tóxicos, biodegradáveis, com alta estabilidade térmica, baixa volatilidade e não inflamáveis (BENVENUTTI; ZIELINSKI; FERREIRA, 2019). Os NADES são solventes promissores para indústria de alimentos e farmacêutica, pois a sua sintetização e são possíveis substitutos para os solventes convencionais, em especial os que possuem relativa toxicidade. Eles são formados por compostos ácido-base de Lewis, e atingem o ponto eutético por meio de interações de ligações de hidrogênio. Portanto, para formar o solvente eutético é necessário um doador de hidrogênio (HBD) e um receptor de hidrogênio (HBA) (PAIVA et al., 2014; PLETSCH; MAFRA, 2019).

Os principais doadores de hidrogênio são o cloreto de e a betaina devido elevada temperatura de ponto de fusão e baixo custo (CANNAVACCIOLO et al., 2023). Entretanto, os principais receptores de hidrogênio são ácidos orgânicos (ácido lático, ácido cítrico e ácido málico), açúcares (glicerol e xilitol) e aminoácidos, que em misturas com sais como o cloreto de colina permanecem com as propriedades eutéticas em temperatura ambiente (BAKIRTZI; TRIANTAFYLLOU; MAKRIS, 2016; CANNAVACCIOLO et al., 2023). Desta forma, os NADES são alternativas de solventes eficientes e ambientalmente sustentáveis.

Na Tabela 1 estão sumarizados os principais resultados de pesquisas utilizando o NADES com cloreto de colina e ácido lático (ChCl/Ácido lático) em folhas de diferentes plantas. O NADES à base de ácido lático, em extração assistida por ultrassom, apresentaram-se como um solvente excepcionalmente eficiente para a recuperação de polifenóis de plantas medicinais como folhas de dictamo, manjerona, hortelã e sálvia (BAKIRTZI; TRIANTAFYLLOU; MAKRIS, 2016). Além disso, solventes eutéticos sintetizados com ácido

lático apresentaram afinidade com os polifenóis presentes nas folhas de uvaia, também pertencente à família das Myrtaceae (UEDA et al., 2022).

Paralelamente ao uso de solventes verdes, a extração assistida por ultrassom é um processo emergente, sendo uma alternativa denominada como verde, pois promove transferência de massa rápida e em menor tempo de extração, além de empregar baixas temperaturas e menor consumo de reagentes e energia (ROCHA et al., 2018; VERRUCK; PRUDENCIO, 2018). O processo de extração assistida por ultrassom ocorre por meio da colisão de microbolhas formadas na atividade de cavitação gerada pelo ultrassom, contra as células dos tecidos vegetais. Este processo promove a colisão das bolhas com a folha ocasionado o rompimento da célula vegetal e fazendo com que o solvente tenha contato com o interior da matriz da amostra, o que resulta no fenômeno de difusão (CHEMAT et al., 2017; VEILLET et al., 2010).

Associado a isso, há grande demanda das indústrias alimentícias e farmacêuticas por métodos eficientes para extração e recuperação de compostos bioativos de interesse tecnológico de diferentes matrizes vegetais, resíduos agroindustriais, além da aplicação de metodologias verdes (CANNAVACCIUOLO et al., 2023; UEDA et al., 2022).

Desta forma, o estudo da cinética de extração de compostos bioativos presentes nas folhas de jaboticabeira, utilizando solventes eutéticos, visa determinar melhor tempo para extração de compostos fenólicos, para fomentar a aplicação destes compostos nas diferentes indústrias. Associado a isso, o estudo de diferentes parâmetros que influenciam o processo e o rendimento da extração permite a produção de extratos ricos destes compostos bioativos. Ao determinar os parâmetros para extração dos compostos fenólicos, de folhas de jaboticaba em extração assistida por ultrassom, empregando NADES como solvente, se obtém extratos presumidamente seguros e rentáveis.

Aplicação de solventes eutéticos para extração de compostos bioativos tem promovido interesse por diversos pesquisadores como apresentado na tabela 1, realizando extração de compostos fenólicos de folhas de árvores frutíferas em diferentes concentrações de solventes. Contudo, estudos apontam que a interação dos solventes eutéticos sinetados com cloreto de colina juntamente com ácido lático apresenta maior interação com os compostos fenólicos presentes nas folhas, influenciando no maior rendimento de compostos extraídos.

Assim, objetiva-se otimizar os parâmetros de extração assistida por ultrassom e verificar o rendimento de compostos fenólicos totais (CFT) de folhas de jaboticabeira, utilizando NADES, bem como otimizar as condições de extração de compostos bioativos. Além disso, pretende-se ampliar e fortalecer o desenvolvimento científico e tecnológico usando matérias-primas regionais com técnicas ambientalmente corretas.

Tabela 1 –Estudos utilizando solventes eutéticos profundo naturais (NADES) sintetizados com cloreto de colina (ChCl) e ácido láctico

Amostra	Método de extração	Tipo de NADES	Concentração de NADES	Principais resultados	Autor
Folhas de caja	Extração assistida por micro-ondas	ChCl/Ácido láctico	60%	As excelentes propriedades dos NADES, como sustentabilidade, biodegradabilidade, toxicidade farmaceuticamente aceitável e alta capacidade de extração de compostos com diversas polaridades, destacam seu potencial como solventes verdes para a extração de compostos fenólicos	(KALTSA et al., 2020)
Folhas de dictamo, manjerona, hortelã e sálvia	Ultrassom	ChCl/Ácido láctico	20%	NADES à base de ácido láctico demonstrou que este tipo de solventes inovadores pode ter uma perspectiva proeminente na recuperação de substâncias bioativas	(BAKIRTZI; TRIANTAFYL LIDOU; MAKRIS, 2016)
Folhas de oliveira	Extração assistida por micro-ondas	ChCl/Ácido láctico	75%	Solvente eutético sintetizado com cloreto de colina e ácido láctico obteve extração de compostos fenólicos significativamente maiores que o solvente convencional (metanol:água).	(ALAÑÓN et al., 2020)
Folhas de oliveira	Agitação magnética	Glicina/Ácido láctico	22%	Extração utilizando solventes eutéticos obteve extração superior que solventes convencionais como metanol e etanol	KALTSA et al. 2020
Folhas de Uvaia	Agitação magnética	ChCl/Ácido láctico	100%	Solvente eutético à base de ácido láctico foi o solvente mais adequado para recuperação de compostos bioativos para folhas de uvaia	(UEDA et al., 2022)

Fonte: autora

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Material vegetal

As folhas de jabuticaba (*Plinia cauliflora*) foram doadas por moradores da região de Laranjeiras do Sul, PR e colhidas nos meses de dezembro e janeiro. Elas foram secas em estufa com circulação de ar à 50°C por 3 dias. As folhas secas foram, então, foram moídas em moinho de facas e armazenadas no ultra freezer a -80°C até a utilização.

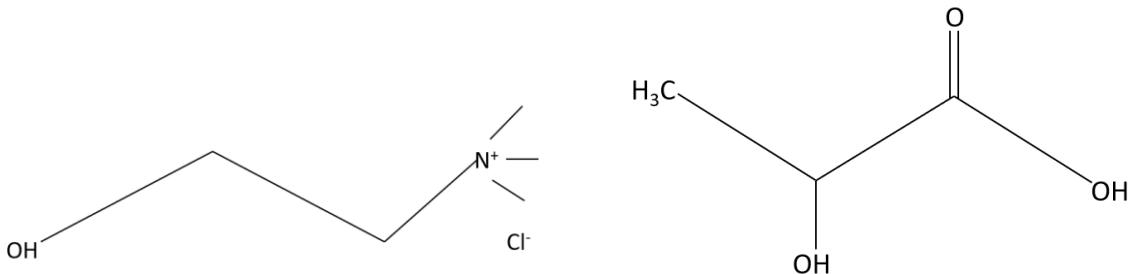
2.2 Regentes

Para o preparo da mistura eutética foi utilizado cloreto de colina (Sigma C1879-1Kg) 98% de pureza, ácido l-lático (Synth) 98% de pureza e água destila.

2.3 Prepara do líquido eutético profundo (NADES)

A síntese do líquido eutético foi baseado na metodologia descrita por Dai et al. (2013a) e Abbott et al. (2004), com algumas adaptações definidas com base em testes preliminares. As proporções para o preparo dos NADES foram baseadas em proporções molares, desta forma, para o preparo do solvente eutético as proporções entre o cloreto de colina (98% de pureza) como receptor de hidrogênio e o ácido lático (98% de pureza) como receptor de hidrogênio foi de 1:1 (m/m) (ABBOTT et al., 2004; DAI et al., 2013).

Figura 1- Estrutura química do ChCl (receptor de hidrogênio) e Ácido lático (doador de hidrogênio)



Fonte: a autora

As massas das substâncias foram medidas em Erlenmeyer seguidas de agitação magnética em chapa de aquecimento a 80°C. Inicialmente, foi colocado o cloreto de colina em constante agitação de 100 rpm e foi adicionado gradativamente o ácido lático, permanecendo em constante agitação até apresentar uma mistura incolor, homogênea e viscosa.

2.3 Determinação de compostos fenólicos totais (CFT)

A determinação de compostos fenólicos totais foi realizada no espectrofotômetro (Uniscience, termo scientific, multiskan go), utilizando o reagente Folin-Ciocalteu com a leitura

da absorbância em 765 nm. Os resultados foram calculados com base numa curva padrão de ácido gálico e expressos em mg de ácido gálico por grama de amostra (mg AGE/g amostra) (SINGLETON; ROSSI, 1965).

2.4 Cinética de Extração

A cinética de extração foi realizada com o ponto ótimo descrito pelo teste de desejabilidade, maximizando a extração simultânea dos compostos. Para o preparo dos extratos, utilizou-se a de 20% do solvente eutético em água no estudo da cinética de extração. Os extratos foram realizados com adição de 0,75 g de folha de jabuticaba moída e 15 mL solvente. Em seguida, as misturas foram submetidas à extração assistida por ultrassom (Vibra-cell VC 505, Sonics and Material Inc., Newtown, CT, USA) equipado com probe CV33 (5 mm de diâmetro), usando ciclos on/off de 10s), operando a 20 kHz e amplitude de 60%, nos tempos de 30 s, 1, 2, 4, 6, 8, 10, 15, 20 e 25 min, a 30°C. Ao término de cada extração, os extratos foram transferidos para tubos de centrífuga e submetidos a centrifugação a 9168 G. Em seguida, alíquotas do sobrenadante foram transferidas para microtubos para a determinação dos compostos fenólicos totais. As extrações da curva cinética foram realizadas em triplicata e a determinação dos compostos fenólicos totais também foi realizada em triplicata. Os resultados foram avaliados quanto a sua significância de 95% pelo intervalo de confiança dos dados.

2.5 Delineamento Experimental

Com objetivo de otimizar as condições de extração, foi realizado um delineamento experimental, empregando um planejamento fatorial multivariado 2^3 , com pontos centrais ($n=3$) e axiais (De Barros Neto et al., (2010). Portanto, os pontos centrais foram os pontos determinados na cinética de extração desse estudo. Os efeitos da quantidade de amostra (g), concentração do NADES (%) e amplitude do ultrassom (%) correspondem aos pontos axiais -1 e 1 das variáveis da matriz codificada do planejamento multivariado, conforme Tabela 2.

A extração foi assistida por ultrassom (Vibra-cell VC 505, Sonics and Material Inc., Newtown, CT, USA) equipado com probe CV33 (5 mm de diâmetro), usando ciclos on/off de 10s), operando a 20 kHz por 10 min, a 30°C. A resposta avaliada foi a concentração de compostos fenólicos totais (CFT), determinada conforme descrito item 2.2.

Tabela 2 – Planejamento experimental fatorial multivariado 2^3 com as variáveis codificadas e decodificadas para a extração de compostos fenólicos totais em folhas de jabuticaba

Ensaios	Massa amostra (g)	Amplitude (%)	Concentração NADES (%)
1	-1 (0,25)	-1 (30)	-1 (10)

2	1 (1,25)	-1 (30)	-1 (10)
3	-1 (0,25)	1 (90)	-1 (10)
4	1 (1,25)	1 (90)	-1 (10)
5	-1 (0,25)	-1 (30)	1 (30)
6	1 (1,25)	-1 (30)	1 (30)
7	-1 (0,25)	1 (90)	1 (30)
8	1 (1,25)	1 (90)	1 (30)
9	0 (0,75)	0 (60)	0 (20)
10	0 (0,75)	0 (60)	0 (20)
11	0 (0,75)	0 (60)	0 (20)

Fonte: a autora

Os resultados foram avaliados quanto a possibilidade de ajustar modelos matemáticos através da Análise de Variância (ANOVA), considerando 95% de confiança. Os modelos serão considerados adequados quando apresentarem ajuste adequado ($p>0,05$), resíduos aleatórios e regressão significativa ($p<0,05$).

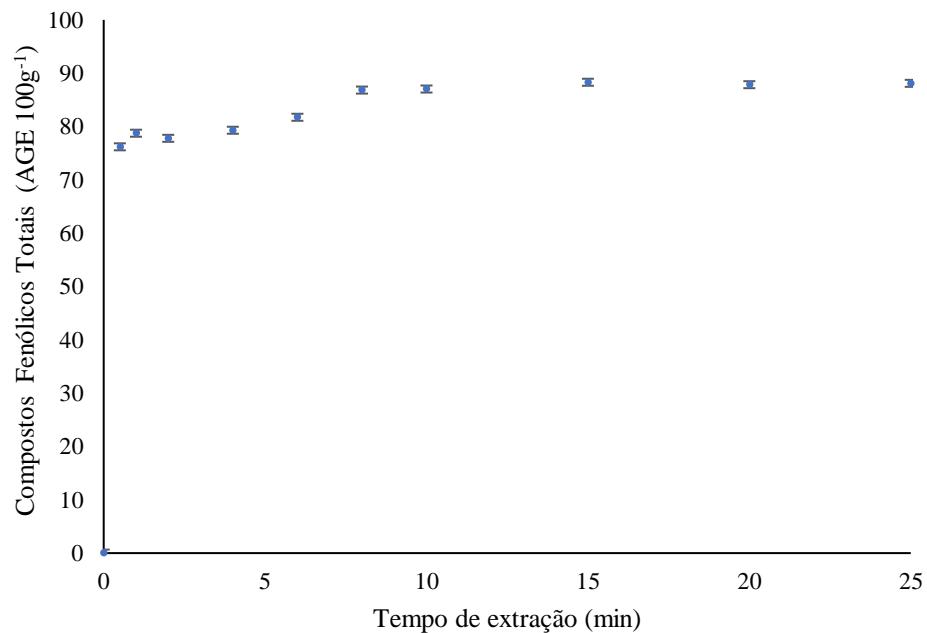
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Estudo da cinética de extração

Os dados obtidos no estudo da cinética de extração estão representados na figura 1. A partir dela, pode-se observar que no primeiro minuto do processo, se obteve uma extração de compostos fenólicos totais elevada (Figura 1). Isso ocorre pelo fato de que no primeiro intervalo de sonicação há troca de massas extra-partícula da amostra para o solvente (GOUVEIA RIBEIRO; DAMASCENO; RICARDO SANTOS DA SILVA, 2018). No entanto, sabe-se que por ser uma etapa veloz, ela não determina a etapa limitante da extração (SÉRGIO BELLO NEVES, 2000). Portanto, conclui-se que a extração assistida por ultrassom promove rápida transferência de massa, em tempo reduzido, promovendo baixo custo energético (PERERA; ALZAHRANI, 2021).

Com a finalidade de determinar o tempo de extração de CFT das folhas de jabuticaba, na Figura 1 é possível visualizar que, em 8 minutos de processamento, obteve-se extração eficiente de compostos fenólicos totais, atingindo equilíbrio nos intervalos de tempo posteriores.

Figura 1 - Cinética de extração assistida por ultrassom dos compostos fenólicos totais de folhas de jabuticabeira, empregando o solvente eutético ChCl/ácido lático (1:1)



Fonte: a autora

Desta forma, na Tabela 2 estão expressas as concentrações de compostos fenólicos totais nos diferentes tempos de extração. No estudo realizado por Ueda et al 2022, eles estudaram a eficiência da extração de compostos fenólicos das folhas de uvaia, assistida por ultrassom, em que observaram uma melhor extração de compostos fenólicos totais, utilizando-

se na metodologia o tempo igual a 120 minutos e o solvente eutético sintetizado com ácido láctico. No presente estudo cinético, com apenas 30 segundos de extração, cerca de 86% dos compostos já foram extraídos, quando comparado à maior concentração deste processo (15 min).

Entretanto, avaliando-se os resultados de Ueda et al. (2022) constata-se que a metodologia utilizada se assemelha metodologia aplicada para o estudo cinético. Portanto, a escolha do tempo de 8 min a fixando a temperatura de 30°C, apresentou uma média de compostos fenólicos totais, a muito próxima aos resultados de Ueda et al. (2022).

Tabela 3 - Concentração de compostos fenólicos totais resultante do estudo da cinética de extração assistida por ultrassom a 30°C.

Cod. Amostra	Tempo (min)	Média (mg AGE/g amostra)*
t1	0,5	76,19±1,82
t2	1	78,74±1,93
t3	2	77,78±2,15
t4	4	79,30±1,71
t5	6	81,73±4,28
t6	8	86,84±1,00
t7	10	87,03±3,98
t8	15	88,30±1,71
t9	20	87,84±4,52
t10	25	88,10±2,99

*Média de 3 replicatas experimentais ± desvio padrão

Portanto, o método de extração assistida por ultrassom é tecnologicamente viável para a recuperação de compostos de interesse de matérias-primas vegetais, pois em um pequeno intervalo de tempo é possível extrair uma concentração elevada de compostos fenólicos, utilizando baixas concentrações de solvente eutético (ROCHA et al., 2018). A eficiência energética da extração assistida por ultrassom melhor quando comparada a outros métodos convencionais como, por exemplo, a maceração (CHEMAT et al., 2017).

3.2 Delineamento experimental multivariado

Os dados obtidos do delineamento experimental foram submetidos a análises estatísticas, gerando a tabela 3. Assim, por meio dos cálculos de média e desvio padrão, encontrou-se maior teor de composto fenólicos totais (CFT) no ensaio 3 com as variáveis

independente de massa igual a 0,25, amplitude de 30% e concentração de solvente eutético em água de 10%, apresentando um valor de 233,31 mg AGE/g.

Tabela 4 – Variáveis codificadas e decodificadas do delineamento experimental fatorial multivariado 2³ para extração de compostos fenólicos totais (CFT) com variação na massa de amostra (M), amplitude do ultrassom (A) e concentração do solvente eutético (NADES).

Ensaios	Massa amostra (g)	Amplitude do ultrassom (%)	Concentração de NADES (%)	CFT (mg AGE/g)*
1	-1 (0,25)	- 1 (30)	-1 (10)	228,85±2,68
2	1 (1,25)	- 1 (30)	-1 (10)	39,08±0,26
3	-1 (0,25)	1 (90)	-1 (10)	233,31±4,35
4	1 (1,25)	1 (90)	-1 (10)	33,71±0,49
5	-1 (0,25)	- 1 (30)	1 (30)	196,03±0,66
6	1 (1,25)	- 1 (30)	2 (30)	32,22±0,19
7	-1 (0,25)	1 (90)	3 (30)	183,82±2,21
8	1 (1,25)	1 (90)	4 (30)	37,90±0,19
9	0 (0,75)	0 (60)	0 (20)	76,83±0,50
10	0 (0,75)	0 (60)	1 (20)	71,84±0,84
11	0 (0,75)	0 (60)	2 (20)	75,80±0,44

Fonte: autora

Apenas a massa da amostra apresentou efeito significativo no modelo matemático, evidenciado pelo diagrama de Pareto (Figura 2). A aplicação da análise de variância resultou que em 5% significância, com $F_{calculado} = 8,0546$, e $F_{tabelado} = 6,1631$. Desta forma, $F_{calculado} > F_{tabelado}$, validando o modelo estatístico expresso na Equação 1.

$$CFT = 109,45 - 87,39*M - 0,93*A - 10,62*NADES + 1,01*M*A + 9,95*M*CSE - 0,7*A*NADES$$

Equação (1)

Sendo:

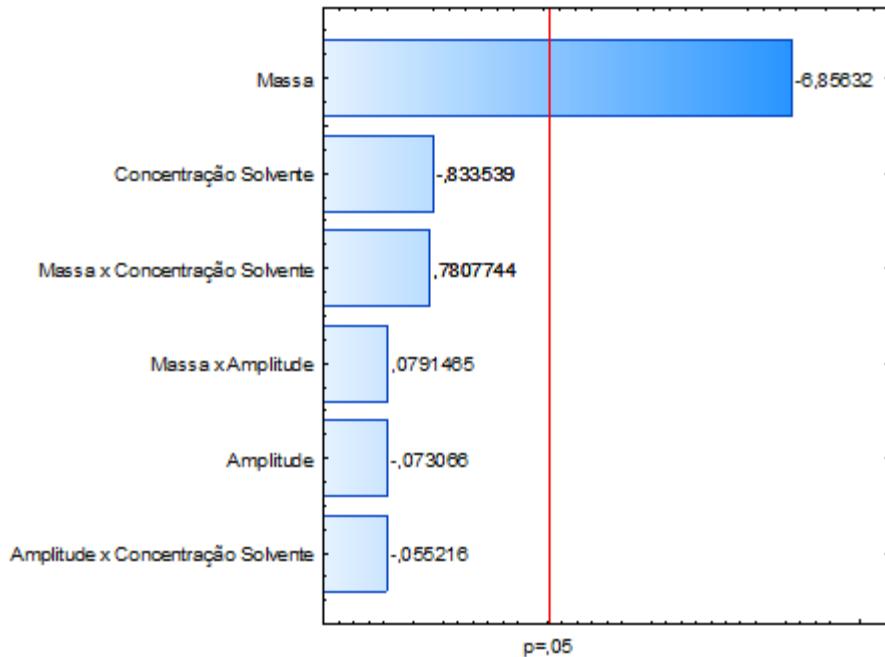
CFT= Compostos fenólicos totais

M= Valor codificado da massa da amostra

A= Valor codificado da amplitude do ultrassom

NADES= Valor codificado da concentração do solvente eutético

Figura 2 - Diagrama de Pareto dos efeitos do planejamento experimental para a concentração de compostos fenólicos totais.



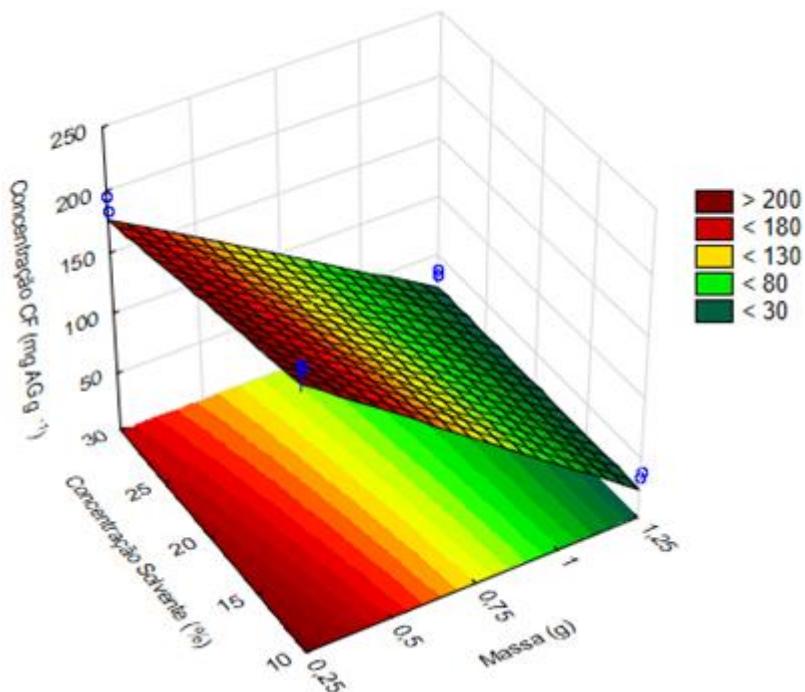
Fonte: a autora

A Figura 2 apresenta o diagrama de Pareto, após análise estatística dos dados, e após realização do delineamento experimental. Portanto, por meio do diagrama de Pareto observa-se que a massa da amostra possui maior influência no processo de extração, seguida da concentração de solvente e, por último, a amplitude da onda. Contudo, na análise de duas variáveis, notamos que a massa e a concentração obtiveram boa interação comparando-se com as outras interações expressas na Figura 2.

A partir da figura 3, pode-se que quanto menor a concentração do solvente eutético, maior interação com a molécula vegetal e, consequentemente, maior extração. A afinidade do solvente eutético sintetizado com o ácido láctico são mais polares comparados NADES, desta forma, promovem maior afinidade com substâncias, justificando-se a elevada concentração extraída (CRAVEIRO et al., 2016).

Portanto, a interação do solvente com a amostra promove melhor extração de compostos fenólicos totais baseando-se nas escolhas da concentrações de solvente. Estudos apontam que concentrações inferiores a 20% de solvente eutético em água são eficientes para a recuperação do extrato, obtendo-se maior recuperação de polifenóis (KALTSA et al., 2020). Isso ocorre, pois com a redução da viscosidade do solvente, aumenta a facilidade de o solvente entrar em contato com a matriz da amostra durante o ultrassom. Sendo assim, nota-se que 10% da concentração de NADES apresentaram eficiência no processo de extração (CHEN et al., 2007; CRAVEIRO et al., 2016).

Figura 3 - Superfície de resposta efeito da concentração do solvente (%) e massa da amostra (g) sobre CFT.



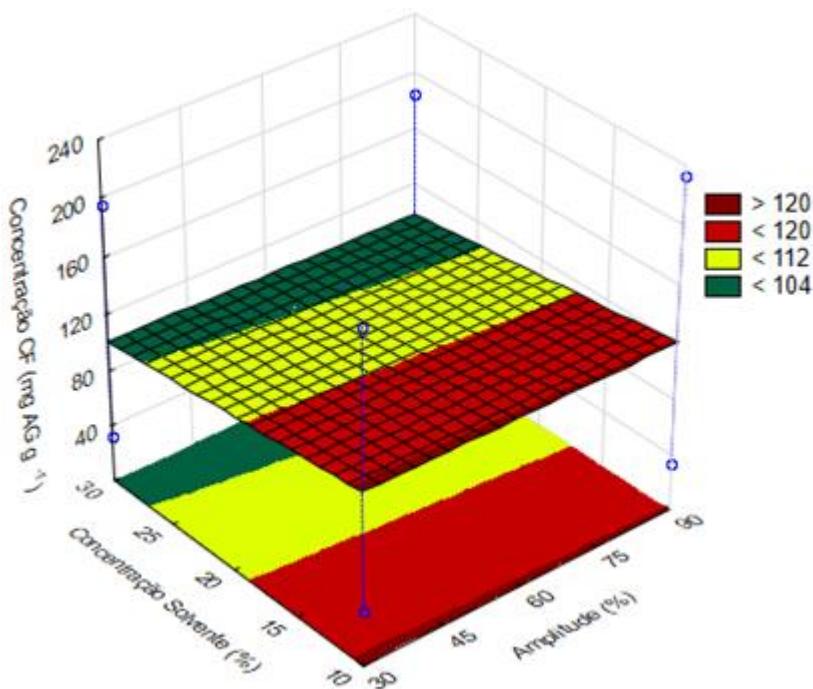
Fonte: a autora

A partir da figura 4, observa-se que a curva de superfície da amplitude por concentração, aplicação de menor proporção da amplitude (30%) obteve maior extração de compostos. Segundo Chemet et al., (2017) solventes eutéticos combinados com técnicas de extração, assistida por ultrassom, reduzem o consumo de energia, ou seja, com uma pequena proporção da amplitude de cavitação, obtém-se maior extração de compostos fenólicos, pois a colisão das bolhas com a matéria vegetal promove boa interação solvente-amostra.

Segundo os estudos de Rashid et.al (2023), o método de extração, utilizando ultrassom, promove melhor a recuperação de compostos fenólicos. Desta forma, a recuperação eficiente de compostos bioativos fixa os estudos de Bajkacz & Adamek (2017) que afirmam que a boa interação de compostos bioativos com ácido láctico submetidos a técnica de extração assistida por ultrassom.

Assim, o líquido eutético sintetizado com ácido láctico é polar, promovendo afinidade do solvente com a matriz da folha (BAJKACZ; ADAMEK, 2017; RASHID et al., 2022). Portanto, por meio da curva de superfície de concentração por amplitude, pode-se visualizar que em amplitudes inferiores a 60%, com menor concentração de solvente, obtém-se melhor eficiência no processo de extração.

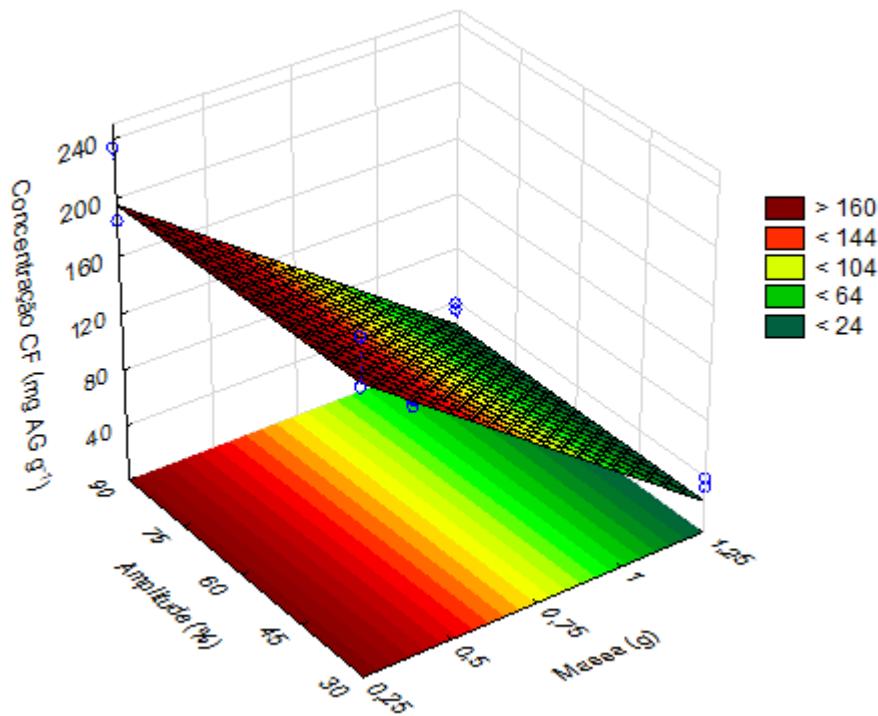
Figura 4 - Superfície de resposta efeito da concentração do solvente (%) e amplitude (%) sobre FCT.



Fonte: a autora

Assim, analisando a massa por amplitude na Figura 5, constata-se que a massa de amostra em maior proporção promove pouca extração. Este fato pode estar associado à saturação do solvente, identificando que neste caso a massa é o fator limitante da extração, pois não há solvente suficiente para formação de bolhas no momento de sonicação para extração. Sendo assim, não ocorre o rompimento da matriz celular da amostra. Entretanto, as folhas da jabuticabeira também absorvem um percentual de solvente, reduzindo a recuperação do solvente conforme está na Tabela 3.

Figura 5 - Superfície de resposta efeito da amplitude (%) e massa (g) sobre FCT.



Fonte: a autora

Portanto, após a realização do delineamento, conclui-se que a massa da amostra proporciona efeito na variação da concentração de solvente eutético e, desta forma, sua combinação no ensaio três promoveu maior extração de compostos fenólicos.

4. CONCLUSÃO

O estudo realizado da cinética de extração de compostos fenólicos totais, assistida por ultrassom, utilizando solventes eutéticos profundos naturais com NADES (ChCl/Ácido lático) demonstrou a ocorrência de uma linearidade e aproximação dos valores após 8 minutos de cavitação (10s on e 10s off), mantendo-se a temperatura de 30°C. Justifica-se pelo fato que, dentro de 8 min, houve troca de massa superficial e intra-partícula, aproximando-se da etapa limitante da extração.

Após o desenvolvimento do delineamento experimental e das análises estatísticas, pode-se concluir que o excesso de massa de amostra promove saturação do solvente, impedindo a quebra das células vegetais durante o processo de sonicação e reduzindo, assim, a concentração de compostos extraídos. Desta forma, conclui-se que quanto menor a quantidade de massa de amostra, maior a recuperação de compostos fenólicos totais.

Em relação ao efeito da amplitude o uso de menores proporções de amplitudes de sonicação foi mais eficaz no processo de extração, pois resulta em menor gasto energético e extração eficiente.

Contudo, quanto menor a concentração de NADES utilizada, maior a recuperação de compostos fenólicos totais, devido a sua maior fluidez durante o processo de cavitação. Portanto, a redução de viscosidade dos NADES sintetizados com solvente eutético promove um melhor contato do solvente com a célula vegetal da amostra.

Em suma, este estudo conclui que a extração de compostos fenólicos totais de folhas de jaboticaba é promissora, pois pode-se observar uma extração eficiente em 8 minutos, com concentração de NADES de 10% e amplitude inferiores a 60%, com menor quantidade de amostra.

5. REFERÊNCIAS

- ABBOTT, A. P.; BOOTHBY, D.; CAPPER, G.; DAVIES, D. L.; RASHEED, R. K. Deep Eutectic Solvents formed between choline chloride and carboxylic acids: Versatile alternatives to ionic liquids. **Journal of the American Chemical Society**, [s. l.], v. 126, n. 29, p. 9142–9147, 2004.
- ALAÑÓN, M. E.; IVANOVIĆ, M.; GÓMEZ-CARAVACA, A. M.; ARRÁEZ-ROMÁN, D.; SEGURA-CARRETERO, A. Choline chloride derivative-based deep eutectic liquids as novel green alternative solvents for extraction of phenolic compounds from olive leaf. **Arabian Journal of Chemistry**, [s. l.], v. 13, n. 1, p. 1685–1701, 2020.
- BAJKACZ, S.; ADAMEK, J. Evaluation of new natural deep eutectic solvents for the extraction of isoflavones from soy products. **Talanta**, [s. l.], v. 168, p. 329–335, 2017.
- BAKIRTZI, C.; TRIANTAFYLLOU, K.; MAKRIS, D. P. Novel lactic acid-based natural deep eutectic solvents: Efficiency in the ultrasound-assisted extraction of antioxidant polyphenols from common native Greek medicinal plants. **Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants**, [s. l.], v. 3, n. 3, p. 120–127, 2016.
- BENVENUTTI, L.; ZIELINSKI, A. A. F.; FERREIRA, S. R. S. **Which is the best food emerging solvent: IL, DES or NADES?**, Elsevier Ltd, 2019.
- CANNAVACCIUOLO, C.; PAGLIARI, S.; FRIGERIO, J.; GIUSTRA, C. M.; LABRA, M.; CAMPONE, L. **Natural Deep Eutectic Solvents (NADESs) Combined with Sustainable Extraction Techniques: A Review of the Green Chemistry Approach in Food Analysis**, MDPI, 2023.
- CHEMAT, F.; ROMBAUT, N.; SICAIRE, A. G.; MEULLEMESTRE, A.; FABIANO-TIXIER, A. S.; ABERT-VIAN, M. **Ultrasound assisted extraction of food and natural products. Mechanisms, techniques, combinations, protocols and applications. A review**, Elsevier B.V., 2017.
- CHEN, F.; SUN, Y.; ZHAO, G.; LIAO, X.; HU, X.; WU, J.; WANG, Z. Optimization of ultrasound-assisted extraction of anthocyanins in red raspberries and identification of anthocyanins in extract using high-performance liquid chromatography-mass spectrometry. **Ultrasonics Sonochemistry**, [s. l.], v. 14, n. 6, p. 767–778, 2007.
- CRAVEIRO, R.; AROSO, I.; FLAMMIA, V.; CARVALHO, T.; VICIOSA, M. T.; DIONÍSIO, M.; BARREIROS, S.; REIS, R. L.; DUARTE, A. R. C.; PAIVA, A. Properties and thermal behavior of natural deep eutectic solvents. **Journal of Molecular Liquids**, [s. l.], v. 215, p. 534–540, 2016.
- DAI, Y.; VAN SPRONSEN, J.; WITKAMP, G. J.; VERPOORTE, R.; CHOI, Y. H. Natural deep eutectic solvents as new potential media for green technology. **Analytica Chimica Acta**, [s. l.], v. 766, p. 61–68, 2013.
- GAWRON-GZELLA, A.; CHANAJ-KACZMAREK, J.; CIELECKA-PIONTEK, J. **Yerba mate—a long but current history**, MDPI, 2021.
- GOUVEIA RIBEIRO, L.; DAMASCENO, F. M.; RICARDO SANTOS DA SILVA, P. EXTRAÇÃO ASSISTIDA POR MICRO-ONDAS DE ÓLEO ESSENCIAL DE FOLHAS DE EUCALIPTO (EUCALYPTUS UROPHYLLA X GLOBULUS). **ESCOLA DE ENGENHARIA DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA**, [s. l.], 2018.

- IGNAT, I.; VOLF, I.; POPA, V. I. **A critical review of methods for characterisation of polyphenolic compounds in fruits and vegetables**, 2011.
- KALTSA, O.; GRIGORAKIS, S.; LAKKA, A.; BOZINOU, E.; LALAS, S.; MAKRIS, D. P. Green Valorization of Olive Leaves to Produce Polyphenol-Enriched Extracts Using an Environmentally Benign Deep Eutectic Solvent. **AgriEngineering**, [s. l.], v. 2, n. 2, p. 226–239, 2020.
- PAIVA, A.; CRAVEIRO, R.; AROSO, I.; MARTINS, M.; REIS, R. L.; DUARTE, A. R. C. **Natural deep eutectic solvents - Solvents for the 21st century**, American Chemical Society, 2014.
- PERERA, C. O.; ALZAHHRANI, M. A. J. Ultrasound as a pre-treatment for extraction of bioactive compounds and food safety: A review. **LWT**, [s. l.], v. 142, 2021.
- PLETSCH, H.; MAFRA, M. C. G. C. D. M. R. **Impactos das Tecnologias na Engenharia Química**. [s.l: s.n.].
- RASHID, R.; MOHD WANI, S.; MANZOOR, S.; MASOODI, F. A.; MASARAT DAR, M. Green extraction of bioactive compounds from apple pomace by ultrasound assisted natural deep eutectic solvent extraction: Optimisation, comparison and bioactivity. **Food Chemistry**, [s. l.], v. 398, 2022.
- REBOCHO, S.; MANO, F.; CASSEL, E.; ANACLETO, B.; BRONZE, M. do R.; PAIVA, A.; DUARTE, A. R. C. Fractionated extraction of polyphenols from mate tea leaves using a combination of hydrophobic/ hydrophilic NADES. **Current Research in Food Science**, [s. l.], v. 5, p. 571–580, 2022.
- ROCHA, J. de C. G.; PROCÓPIO, F. R.; MENDONÇA, A. C.; VIEIRA, L. M.; PERRONE, I. T.; DE BARROS, F. A. R.; STRINGHETA, P. C. Optimization of ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from jussara (*Euterpe edulis* M.) and blueberry (*vaccinium myrtillus*) fruits. **Food Science and Technology (Brazil)**, [s. l.], v. 38, n. 1, p. 45–53, 2018.
- SÉRGIO BELLO NEVES. DESENVOLVIMENTO E APLICAÇÕES DE UM SIMULADOR DINÂMICO PARA PROCESSOS DE ADSORÇÃO EM LEITO MÓVEL SIMULADO. **FACULDADE DE ENGENHARIA QUÍMICA ÁREA DE CONCENTRAÇÃO CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE MATERIAIS**, [s. l.], 2000.
- SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. JR. . Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, [s. l.], v. 16, p. 144–158, 1965.
- STEFANELLO, M. É. A.; R F PASCOAL, A. C.; SALVADOR, M. J. Essential Oils from Neotropical Myrtaceae: Chemical Diversity and Biological Properties. **CHEMISTRY & BIODIVERSITY**, [s. l.], v. 8, 2011.
- UEDA, K. M. EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS PROVENIENTES DE FOLHAS DE UVAIA (*Eugenia pyriformis Cambess.*) EMPREGANDO SOLVENTES EUTÉTICOS PROFUNDOS (DES). **UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ**, [s. l.], 2020.
- UEDA, K. M.; RONKO, L. Z.; TOCI, A. T.; IGARASHI-MAFRA, L.; MAFRA, M. R.; FARIA, F. O. Green Designer Solvents for Boosting the Extraction of Biocompounds from *Eugenia pyriformis Cambess* Leaves. **ACS Food Science and Technology**, [s. l.], v. 2, n. 3, p. 532–540, 2022.

VEILLET, S.; TOMAO, V.; CHEMAT, F. Ultrasound assisted maceration: An original procedure for direct aromatisation of olive oil with basil. **Food Chemistry**, [s. l.], v. 123, n. 3, p. 905–911, 2010.

VERRUCK, S.; PRUDENCIO, E. S. **Ultrassom na indústria de alimentos: aplicações no processamento e conservação**. [s.l.] : Antonella Carvalho de Oliveira, 2018.

Anexo A: Normas da revista: Journal of Food Science and Technology

Aims & Scope

The Journal of Food Science and Technology (JFST) is an international peer reviewed scientific journal published monthly and is the official publication of the Association of Food Scientists and Technologists of India (AFSTI). The journal considers high-quality, original research representing complete studies and scientific advances dealing with the innovative application of fundamental and applied science to enhance the understanding of product attributes, processes, technologies and bioactive constituents of foods, including antioxidants, phytochemicals, antinutrients of food and their impact on health. The Journal's basis is food science and technology with increasing emphasis on findings that enhance product quality and safety of foods., extend shelf life of fresh and processed food products and improve process efficiency.

Out of scope of the journal

Manuscripts (MS) that report studies, which are (i) not of international interest or do not have a substantial impact on either food science or food technology, (ii) submissions which comprise merely data collections and (iii) based on the use of routine analytical methods , shall be rejected without review as out of scope. Further, authors should please note that any manuscripts dealing with bacteriological cultures or strains must include the culture deposition numbers as given by an authentic public culture collection (e.g., ATCC, MTCC, NCIM etc), failing which such MS will not be considered for the review process and rejected as out of scope.

Pre-submission tips to ensure your manuscript is handled promptly

Authors SHOULD NOT contact the Editor-in-Chief (EiC) or Editor(s) for seeking opinion on suitability of your manuscript (MS) for submission. This decision is best left to you (and your co-authors). EiC, Editors or the Editorial Office (EO) cannot pre-screen MS outside the electronic system as JFST uses the Editorial Manager® (EM) electronic submission system. For smooth handling of MS by the Editorial Office (EO), authors may ensure that the:

- MS fits the Aims & Scope of the journal.
- Cover letter is prepared, introducing your article and explaining the novelty of the research, identifying important outcomes of the work.
- List of at least four potential reviewers with contact details (i.e., Full name, designation affiliations and official address, official e-mail and alternate email, if available). None of the reviewers should be from the author's own institution; and, at least 3 out of the 4 reviewers from countries than the one to which the Authors belong.
- The text is written in good English.
- The MS must have, on a separate page, stand-alone highlights of the work (in such a way that one need not have to read the article to understand what authors mean). There has to be a minimum 3 highlights (and a maximum of 5), with each highlights not exceeding 100 characters including spaces.
- MS is in accordance with ARTICLE TYPES and strictly adheres to the limits prescribed for the number of words, references and of figures/tables is within the stipulated limits: Research article (6000 words, 30 references, 6 tables & figures combined) Review article (7000 words, 60 references, 8 tables & figures combined) Short communication (3000 words, 25 references, 3 tables & figures combined) Any additional tables and figures as supplementary material
- Text in the MS is clearly divided into sections as mentioned in the instructions; that the line and page numbers are continuous and the text is is double-spaced.
- Declarations section is included on the Title Page to facilitate double-blind peer review • Any experiments involving humans/animals are accompanied by an ethical statement.
- Conflict-of-interest statement is included in your Declarations section
- Additional electronic material in support of your MS, if any.
- All relevant sources (i.e. peer-reviewed articles, websites, books, theses etc.) are included in the Reference list. Number of references do not exceed the prescribed limit. Any pre-print edition/online repository of the theses referred in the MS must be upfront declared in the cover letter and appropriately referenced in the MS.

Declaration on submission

Submission of an MS to JFST implies that – (i) the work described has not been published before (except in the form of an abstract, a published lecture or academic thesis), (ii) it is not under consideration for publication elsewhere, (iii) its submission to JFST publication has been approved by all authors as well as the responsible authorities – tacitly or explicitly – at the institute where the work has been carried out, (iv) if accepted, it will not be published elsewhere in the same form, in English or in any other language, including electronically without the written consent of the copyright holder, and (v) JFST will not be held legally responsible should there be any claims for compensation or dispute on authorship.

Types of Manuscripts

The journal accepts Research Articles, Reviews and Short communications. In addition, starting July 2020, the journal also intends to introduce Rapid Communications. Limits set for each type of the article are separately detailed below.

Research Articles Research articles are complete reports of original, scientifically sound research that have not been published previously, except in a preliminary form in symposia/conferences etc. The article must contribute new knowledge and original research that is expected to have a definable impact on the advancement of food science and technology. Originality comprises of novel experiments and results, interpretations of data, and absence of prior publications on the same/similar topics. Fragmentation of work into an incremental series (that amounts to data slicing) of manuscripts is not acceptable. The research articles shall adhere to the following, in terms of its text attributes –

Abstract : ≤ 200 words

Word count : ≤ 6000 (incl. abstract & references; excl. tables & figure legends)

Total Figures & Tables : ≤ 06

Number of references : ≤ 30.

General responsibilities of Author(s)

Author(s) who are submitting the manuscript should be aware of their responsibilities which include, but not limited to, the following –

(1) All authors are collectively responsible for the content of the work submitted for consideration of publication. It is also a collective responsibility of all authors to ensure to check the publication for correctness through all stages of publication to ensure that the methods, results and conclusions are reported accurately as intended.

(2) Author(s) should proof read and check all the calculations, formulae, data presentation/interpretations, typesetting and correctness of typescripts during submission/revision(s), reviewing and galley proofing (post-acceptance, if accepted).

(3) Use appropriate methods of data analysis and display is completely the responsibility of all authors; and, if any specialist advice is used, he/she should be appropriately acknowledged (either through an authorship or by acknowledging the person in the acknowledgement section) as deemed appropriate by the author(s).

(4) Images (e.g. micrographs, X-rays, pictures of electrophoresis gels) should not be modified in any misleading way; and, only the original images as produced during the investigation(s) shall only be used for the purpose of research publication.

(5) Author(s) should alert the EO or EiC promptly, if they discover an error in any submitted, accepted or published manuscript.

(6) Author(s) should cite only relevant references which they have read; and, must not quote any reference(s) from other publications if they have not read the cited work.

(7) Author(s) must not use acknowledgements misleadingly to imply a contribution or endorsement by individuals who have not, in fact, been involved with the work or given an endorsement.

(8) It is the responsibility of author(s), especially the Corresponding Author, that the authorships of the submitted manuscript accurately reflect an individual's contribution. Author(s) must refrain from the practices of guest, gift, and/or ghost authorship.

(9) Author(s) should obtain permission from the original copyright holder(s) for reproduction of any figure(s)/table(s)/diagram(s) and appropriately reference/acknowledge in the text of the work intended for publication.

(10) It is author(s) responsibility to ensure due and proper acknowledgement of any funding received both in the text of the MS as well at appropriate place during the online submission.

(11) Author(s) should duly obtain any institutional/organizational permission required before submitting the MS. Journal shall not be responsible in any way for any act of omission or commission in this regard. (Most of the contents in this section are sourced and modified from the - Responsible research publication: International standards for authors 'A position statement developed at the 2nd World Conference on Research Integrity', Singapore, July 22-24, 2010.

Article Structure

Follow this order when typing manuscripts: Title, Authors, Affiliations, Declarations, Abstract, Keywords, Main text (Introduction, Materials and Methods, Results, Discussion), Author contributions, Acknowledgements, References and Figure Captions. Tables, Figures and supplementary material that will be uploaded as separate files during online submission, will be placed after the figure captions by the system, as Tables, figures and supplementary files, in that order.

Title page (Page 1) The title page should include an informative title, name of the author(s), author(s) affiliations, corresponding author & his contact details, acknowledgement(s), and Declarations

Title of the MS: The MS should have a concise, unambiguous and informative title. Titles are often used in information-retrieval systems. Use abbreviations and formulae, only if they are very essential and cannot be done away with.

The name(s) of the author(s): Please clearly indicate the full given name(s) and family name(s) of each author and check that all names are accurately spelled. Please ensure that names are listed in the order first name/FAMILY NAME (e.g. Marie CURIE) - this will ensure they are listed correctly in indexing services

Corresponding author: The name of the corresponding author to whom inquiries about the paper should be addressed at all stages of refereeing and publication, also post publication must be marked with an asterisk. Ensure that the e-mail address is given is active and that contact details are kept up to date by the corresponding author. Ensure that telephone and fax numbers (with country and area code) are provided in addition to the e-mail address and the complete postal address.

Present/permanent address: If an author has moved since the work described in the article was done, or was visiting at the time, a "Present address" (or "Permanent address") may be indicated as a footnote to that author's name. The address at which the author actually did the work must be retained as the main, affiliation address. Use superscript Arabic numerals for such footnotes.

Acknowledgements: Acknowledgements and any information that would reveal author(s) identity should be placed in this page. JFST follows a double-blind review process, at the time of initial submission and revision(s) and hence any such information is not desirable in the MS. MS would be returned by the EO, if Author(s) include acknowledgement (or any other information that reveals their identity) section anywhere else in the text other than this page.

Declarations: All manuscripts must contain the following sections under the heading 'Declarations', to be placed on the Title Page. JFST follows a double-blind review process, at the time of initial submission and revision(s) and hence any such information is not desirable in the MS.

If any of the sections are not relevant to your manuscript, please include the heading and write 'Not applicable' for that section.

Funding (information that explains whether and by whom the research was supported)

Conflicts of interest/Competing interests (include appropriate disclosures)

Ethics approval (include appropriate approvals or waivers)

Consent to participate (include appropriate consent statements)

Consent for publication (appropriate statements regarding publishing an individual's data or image)

Availability of data and material (data transparency)

Code availability (software application or custom code)

Authors' contributions

Research highlights (Page 2)

Place research highlights on a separate page preceding the abstract. The research highlights should consist of short collection of bullet points. Highlights should identify and capture novel outcomes of your work and must be stand-alone (i.e., they should not require someone to read the article to understand what is being conveyed). Provide a minimum of 3 and a maximum of 5 highlights. Each highlight, provided as a bullet point, shall have a maximum of 100 characters including spaces.

Abstract (Page 3)

The abstract should be a clear and concise (not exceeding the word limits as prescribed in section 6.0) one-paragraph factual summary which is informative rather than descriptive. It should include the purpose of the research, major results and conclusions. Do not use statements such as "Results are discussed". An abstract is often presented separately from the article, so it must be able to stand alone and be comprehensible without the rest of the paper. References should be avoided, but if essential, then cite the author(s) and year(s) title, journal name, volume and page numbers. Avoid non-standard or uncommon abbreviations, but if essential they must be defined at their first mention in the abstract itself

Keywords (Page 3)

Keywords allow the article to be found easily by search engines and considerably increase article citations when they are comprehensive. Provide a minimum of 4 and maximum of 6 significant keywords to aid the reader in literature retrieval. Keywords should be in singular, full word form.

Abbreviations (Page 3)

Define abbreviations that are not standard in food science and technology. These will be placed on the first page of the article. Such abbreviations that are unavoidable in the abstract must be defined at their first mention there. Ensure consistency of abbreviations used throughout the article. The following abbreviations may be used without definition in the title, abstract, text, figure legends, and tables –

Main text (Page 4 onward)

The article should be divided into clearly defined sections viz., Introduction, Materials and Methods, Results, Discussion, Author contributions, Acknowledgements, Conflict of Interest (if any), and References. Each section heading should appear on its own in a separate line. Any subsection may be given a brief heading. If the MS uses abbreviations, they should be defined at first mention and used consistently thereafter.

Introduction

Provide a brief review of pertinent work citing key references (do not resort to selfcitation, unless it is very essential) outlining the issue that is being addressed and clearly state the objectives. Discuss relationships of the study to previously published work, but do not reiterate or attempt to provide a complete literature survey. The purpose or rationale for the research being reported, and its significance, originality, or contribution to new knowledge in the field, should be clearly and concisely stated. Do not summarize the current findings.

Material and methods

In this section author(s) should clearly provide details of the materials and methods they have employed in the study in such a way that it can be easily carried out by other researchers if they wish to. Author(s) must emphasize any unexpected, new, and/or significant hazards or risks associated with the experimental work. Specific and new experimental methods should be sufficiently detailed so the work can be repeated by fellow researchers interested in the area. Give references to globally established methods, provide references and brief descriptions of methods that have been published but are not well-known, describe substantially modified methods, including statistical methods, give reasons for using them, and evaluate their limitations. For special equipment, reagents, kits, etc., the source, city, state, and country should be specified in parentheses. Biological materials should be identified by the scientific name (genus, species, and if necessary, family) and cultivar, if appropriate, together with source from which the samples were obtained. Manuscripts dealing with bacteriological cultures or strains, the culture deposition numbers as given by public culture

collection (e.g., ATCC, MTCC, NCIM etc) must be provided, without which such MS will not be considered for the review process. Experiment with live animals or human subjects are used must include a statement that such experiments were performed in compliance with the appropriate laws and institutional guidelines and also name the institutional committee that approved the experiments (for details see section 8.3) If variation within a treatment (coefficient of variation (CV), that is, the standard deviation divided by the mean) is less than 10% and the difference among treatment means is greater than 3 standard deviations, it is not necessary to conduct a statistical analysis. If the data do not meet these criteria, statistical analysis must be conducted. In case of theoretical papers / engineering calculations, the section should provide an extended (not repeating what is already dealt in introduction) foundation for the current and further work. In other words, the calculation section should represent its practicality in the context of the MS from a theoretical basis.

Results and Discussion

Results and discussion may be presented in separate sections or combined into a single section, whichever format conveys the results lucidly. To avoid repetition of results in the discussion, a combined section of results and discussion is often more appropriate. Results should be very concise and clear. Cite tables and figures consecutively in text with Arabic numerals. Do not intersperse tables and figures in text. While discussing findings, compare results with previous work and proposing explanations for the results observed. Extensive citations and discussion of published literature without importance to the experimental results should be avoided. Avoid speculation unsupported by the data obtained. If author(s) choose to separate results and discussion sections, the results section should be very clear, comprehensive and concise. Repetition of results in the discussion section should be avoided. Discussion should clearly focus on the significance of the results of the work and the improvements over the already available knowledge.

Conclusions

The main conclusions of the study may be presented in a short conclusions section, which may stand alone or form a subsection of the Discussion or Results and Discussion section. The conclusions section, as far as possible, should avoid presenting the results repetitively and must focus on the key takeaway from the study with emphasis on future prospects or requirements.

Nomenclature

Numerical data: should be reported with the number of significant digits that corresponds to the magnitude of experimental uncertainty.

Compounds: The rules and recommendations of IUPAC should be used for abbreviation of chemical names, nomenclature of chemical compounds, isotopic compounds, optically active isomers, and spectroscopic data.

Enzymes: The trivial and systematic names of enzymes should be those recommended by the Nomenclature Committee of the IUBMB and not abbreviated except in terms of the substrates for which there are accepted abbreviations — e.g., ATPase and DNase.

Organisms: Genus and species names should be in italics. 10.3 Formula Please use the standard mathematical notation for formulae, symbols, etc.: Italic for single letters that denote mathematical constants, variables, and unknown quantities Roman/upright for numerals, operators, and punctuation, and commonly defined functions or abbreviations, e.g., cos, det, e or exp, lim, log, max, min, sin, tan, d (for derivative) Bold for vectors, tensors, and matrices.

Analytical methods

If analytical method or measurement results thereof are reported they should also be accompanied by the associated measurement uncertainty, precision, reproducibility, repeatability, trueness, selectivity, sensitivity, and where applicable, information on method validation and the traceability to Certified Reference Materials (CRM).

References

Responsibility for the accuracy of references cited lies entirely with the authors. References taken from a review or other secondary source should be checked for accuracy with the primary source. The manuscript should be carefully checked to ensure that the spelling of authors' names and dates are exactly the same in the text as in the reference list. Ensure that

every reference cited in the text is also present in the reference list at the end of the manuscript (and vice versa).

Citation in running text

Cite references in the text by name and year in parentheses. Some examples: 'Negotiation research spans many disciplines (Thompson 1990). This result was later contradicted by Becker and Seligman (1996). This effect has been widely studied (Abbott 1991; Barakat et al. 1995; Kelso and Smith 1998; Medvec et al. 1993)'. All citations in the text should refer to –

- (1) Single author: the author's name (without initials, unless there is ambiguity) and the year of publication. e.g., Thompson 1990
- (2) Two authors: both authors' names and the year of publication. e.g., Becker and Seligman 1996
- (3) Three or more authors: first author's name followed by et al. and the year of publication. e.g., Barakat et al. 1995
- (4) Citations may be made directly or in parenthesis. e.g., "as demonstrated earlier (Thompson 1990). Further Barakat et al (1995) have recently shown..."
- (5) Groups of references cited together should be listed first alphabetically, then chronologically. e.g., "as demonstrated (Becker 1996ab; Becker 1999; Becker and Seligman 1996; Thompson 1990). Note references are separated using semi colon.
- (6) Any references cited in the abstract must be given in full in the abstract itself.
- (7) Unpublished results and personal communications are not recommended in the reference list, but may be mentioned in the text.
- (8) Papers should not depend for their usefulness on unpublished material, and excessive reference to material "in press" is discouraged.
- (9) Reference to the author(s) own unpublished work is permitted if the subject is of secondary importance to the manuscript in question, but any unpublished results of central importance must be described in sufficient detail within the manuscript.
- (10) If pertinent references are "in press" or unpublished for any reason, furnish copies to enable reviewers to evaluate the manuscript. An electronic copy of these materials should be uploaded according to the directions.
- (11) "In press" references should include the Digital Object Identifier (DOI) assigned by the potential publisher
- (12) Web references: As a minimum, the full URL should be given and the date when the reference was last accessed. Any further information, if known (DOI, author names, dates, reference to a source publication, etc.), should also be given. e.g., American Chemical Society, Chemical Health and Safety Division: <http://tungsten.acs.org/health.html> <http://chas.cehs.siu.edu/> Accessed on 9th May, 2020

Reference list

The list of references should only include works that are cited in the text and that have been published or accepted for publication. Personal communications and unpublished work should only be mentioned in the text. Do not use footnotes or endnotes as a substitute for a reference list. The cited references should be arranged first alphabetically according to the last name of the first author and then further sorted chronologically if necessary. More than one reference from the same author(s) in the same year must be identified by the letters 'a', 'b', 'c', etc., placed after the year of publication.

Journal article: Author(s). Year in parenthesis, Article title (in sentence case). Journal title (abbreviated). Volume number: inclusive pages.

Example: Gamelin FX, Baquet G, Berthoin S, Thevenet D, Nourry C, Nottin S, Bosquet L (2009) Effect of high intensity intermittent training on heart rate variability in prepubescent children. Eur J Appl Physiol 105:731-738. doi: 10.1007/s00421-008-0955-8

Article by DOI: Author(s). Year in parenthesis, Article title. Journal title. doi Example Slifka MK, Whitton JL (2000) Clinical implications of dysregulated cytokine production. J Mol Med. doi:10.1007/s001090000086

Reference to a book: Author(s) or editor(s). Year in parenthesis, Title. Edition or volume. Publisher name, Place of publication.

Example: South J, Blass B (2001) The future of modern genomics. Blackwell, London

Reference to a chapter in an edited book: Author(s) of the chapter. Year in parentheses Chapter title. Volume (if relevant). In: Author(s) or editor(s) Title of the book. Edition number (if relevant) Publisher name, Place of publication. Inclusive pages of the chapter.

Example: Brown B, Aaron M (2001) The politics of nature. In: Smith J (ed) The rise of modern genomics, 3rd edn. Wiley, New York, pp 230-257

Online document Author(s) year in parenthesis, Title URL. Accessed date.

Example: Cartwright J (2007) Big stars have weather too. IOP Publishing Physics Web. <http://physicsweb.org/articles/news/11/6/16/1>. Accessed 26 June 2019 Always use the standard abbreviation of a journal's name according to the ISSN List of Title Word Abbreviations, see www.issn.org/2-22661-LTWA-online.php

For authors using EndNote, Springer provides an output style that supports the formatting of in-text citations and reference list. EndNote style (zip, 3kB)

Text Formatting

MS should be submitted in Word.

- Use a normal, plain font (e.g., 12-point Times Roman) for text.
- Use italics for emphasis.
- Use the automatic page numbering function to number the pages.
- Do not use field functions.
- Use tab stops or other commands for indents, not the space bar.
- Use the table function, not spreadsheets, to make tables.
- Use the equation editor or Math Type for equations.
- Save your file in docx format (Word 2007 or higher) or doc format (older version). MS with mathematical content can also be submitted in LaTeX.
- LaTeX macro package (zip, 182 kB)

Tables

Tables should be used when the data cannot be presented clearly in the narrative, when many numbers must be presented, or when more meaningful inter-relationships can be conveyed by the tabular format.

- Tables should supplement, not duplicate, information presented in the text and figures.
- Tables should be simple and concise.
- All tables are to be numbered using Arabic numerals.
- Tables should always be cited in text in consecutive numerical order.
- Each table, should have an overall title explaining the components of the table and each column within the table must have a heading. The title should be understandable without reference to the text. Details should be put in footnotes, not in the title
- The table should contain sufficient experimental detail to be understood without reference to the text. Each table should be stand alone.
- Identify any previously published material by giving the original source in the form of a reference at the end of the table caption.
- Footnotes to tables should be indicated by superscript lower-case letters (or asterisks for significance values and other statistical data) and included beneath the table body.

Figures

Figure should be in a high-resolution original form. It is preferable to place any key to symbols used in the artwork itself, not in the caption. Ensure that any symbols and abbreviations used in the text agree with those in the artwork.

Numbering

- All figures are to be numbered using Arabic numerals.
- Figures should always be cited in text in consecutive numerical order.
- Figure parts should be denoted by lowercase letters (a, b, c, etc. e.g. Figure 1a, 1b).
- If an appendix appears in your article and it contains one or more figures, continue the consecutive numbering of the main text. Do not number the appendix figures (e.g., A1, A2, A3, etc). Figures in online appendices (Electronic Supplementary Material) should, however, be numbered separately.

Figure Captions

- Each figure should have a concise caption describing accurately what the figure depicts. The caption should be understandable without reference to the text • Include the captions in the text file of the manuscript after References as “Figure captions”. Do not include in the figure file.
- Figure captions begin with the term Fig. in bold type, followed by the figure number, also in bold type (Fig.1)
- No punctuation (full stop) is to be included after the number, nor is any punctuation to be placed at the end of the caption (e.g. Fig.1 Functional properties of bioactive peptides and hydrolysates).
- Identify all elements found in the figure in the figure caption; and use boxes, circles, etc., as coordinate points in graphs. It is preferable to place any key to symbols used in the artwork itself, not in the caption. Ensure that all symbols and abbreviations used in the text agree with those in the artwork.
- Identify previously published material by giving the original source in the form of a reference citation at the end of the figure caption.

Figure Placement and Size

- When preparing your figures, size figures to fit in the column width.
- The figures should be 39 mm, 84 mm, 129 mm, or 174 mm wide and not higher than 234 mm.
- If you include figures that have already been published elsewhere, you must obtain permission from the copyright owner(s) for both the print and online format. Indicate the permission granted and cite as suggested by copyright owner. Please be aware that some publishers do not grant electronic rights for free and that Springer will not be able to refund any costs that may have occurred to receive these permissions. In such cases, material from other sources should be used.

Artwork and Illustrations Guidelines

For the best quality final product, it is highly recommended to submit all of your artwork – photographs, line drawings, etc. – in an electronic format. Your art will then be produced to the highest standards with the greatest accuracy to detail. The published work will directly reflect the quality of the artwork provided.

Electronic Figure Submission

- Supply all figures electronically.
- Indicate what graphics program was used to create the artwork.
- For vector graphics, the preferred format is EPS; for halftones, please use TIFF format. MS Office files are also acceptable.
- Vector graphics containing fonts must have the fonts embedded in the files.
- Name your figure files with "Fig" and the figure number, e.g., Fig1.eps

Electronic Supplementary Material

JFST accepts electronic multimedia files (animations, movies, audio, etc.) and other supplementary files to be published online along with an article or a book chapter. This feature adds dimension to the author's article, as certain information either cannot be printed or is more effective in electronic form.

Submission

Supply all supplementary material in standard file formats. Please include in each file the following information: article title, journal name, author names; affiliation and e-mail address of the corresponding author. To accommodate user downloads, please keep in mind that larger-sized files may require very long download times and that some users may experience other problems during downloading.

Audio, Video, and Animations - Always use MPEG-1 (.mpg) format.

Text and Presentations - Submit your material in PDF format .doc or .ppt files are not suitable for long-term viability. A collection of figures may also be combined in a PDF file.

Spreadsheets - Spreadsheets should be converted to PDF if no interaction with the data is intended. If the readers should be encouraged to make their own calculations, spreadsheets should be submitted as .xls files (MS Excel).

Specialized Formats - Specialized format such as .pdb (chemical), .wrl (VRML), .nb (Mathematica notebook), and .tex can also be supplied.

Collecting Multiple Files - It is possible to collect multiple files in a .zip or .gz file.

English language editing support

For editors and peer reviewers to accurately assess the work presented in your MS you need to ensure the English language is of sufficient quality to be understood. MS that are accepted for publication will be checked by our copy editors for spelling and formal style. This may not be sufficient if English is not your native language and substantial editing would be required. If English is not your native language you may want to have your MS edited by a native speaker or use a professional language editing service, where editors will improve the English to ensure that your meaning is clear and identify problems that require your review. Two such services are provided by our affiliates Nature Research Editing Service and American Journal Experts. They provide for scientific articles in medicine, biomedical and life sciences, chemistry, physics, engineering, business/economics, and humanities. Please contact –

- Nature Research Editing Service
- American Journal Experts Nature Research Editing Service and American Journal Experts will charge authors directly for these language polishing services. Please contact the editing service directly to make arrangements for editing and payment. Please note that the use of a language editing service is neither a requirement for publication in this journal nor does it imply or guarantee that the article will be selected for peer review or accepted.