



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA  
FACULDADE DE CEILÂNDIA  
CURSO DE FARMÁCIA

**ANA LUÍZA GONÇALVES MOTA**

**UTILIZAÇÃO DO PLANEJAMENTO FATORIAL PARA A AVALIAÇÃO DA  
EXTRAÇÃO ASSISTIDA POR MICRO-ONDAS DA ESPÉCIE IPÊ-ROXO  
(*Handroanthus impetiginosus* Mart. ex DC)**

**BRASÍLIA, DF  
2018**

**ANA LUÍZA GONÇALVES MOTA**

**UTILIZAÇÃO DO PLANEJAMENTO FATORIAL PARA A AVALIAÇÃO  
DA EXTRAÇÃO ASSISTIDA POR MICRO-ONDAS DA ESPÉCIE IPÊ-  
ROXO (*Handroanthus impetiginosus* Mart. ex DC)**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como  
requisito parcial para obtenção do grau de  
Farmacêutica, na Universidade de Brasília,  
Faculdade de Ceilândia.



---

**Orientadora: Profa. Dra. Paula Melo Martins  
(FCE/ Universidade de Brasília)**

**BRASÍLIA,DF  
2018**

Ficha catalográfica:

Gu	<p>Gonçalves Mota, Ana Luiza Utilização do planejamento fatorial para a avaliação assistida por micro-ondas da espécie ipê-roxo (<i>Handroanthus impetiginosus</i>) / Ana Luiza Gonçalves Mota; orientador Paula Melo Martins. -- Brasília, 2018. 42 p.</p> <p>Monografia (Graduação - Farmácia) -- Universidade de Brasília, 2018.</p> <p>1. Planejamento fatorial. 2. <i>Handroanthus impetiginosus</i>. 3. Extração assistida por micro-ondas. 4. Ipê-roxo. I. Melo Martins, Paula, orient. II. Título.</p>
----	--



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA  
FACULDADE DE CEILÂNDIA  
CURSO DE FARMÁCIA

**UTILIZAÇÃO DO PLANEJAMENTO FATORIAL PARA A AVALIAÇÃO DA  
EXTRAÇÃO ASSISTIDA POR MICRO-ONDAS DA ESPÉCIE IPÊ-ROXO  
(*Handroanthus impetiginosus* Mart. ex DC)**

**BANCA EXAMINADORA:**

---

**PROFA. DRA. PAULA MELO MARTINS  
(Orientadora UnB/FCE)**

---

**PROFA. DRA. ELIANA FORTES GRIS  
(Professora UnB/FCE)**

---

**PROF. DR. MARCELO HENRIQUE SOUSA  
(Professor UnB/FCE)**

*Agir, eis a inteligência verdadeira. Serei o que quiser, mas tenho de querer o que for. O êxito está em ter êxito, não em condições de êxito. Condições de palácio tem qualquer terra larga, mas onde estará o palácio se não o fizerem ali?*

**(Fernando Pessoa)**

## **AGRADECIMENTOS**

Primeiramente agradeço à Deus pela minha vida e pela força para persistir, que sem ele, não teria como passar por todas as dificuldades que enfrentei durante a minha longa caminhada.

À minha mãe, Margarete Gonçalves Ferreira, que mesmo apesar das diferenças, sempre me amou incondicionalmente e me apoiou em todos os momentos da minha vida, mesmo nas horas mais difíceis. À minha outra metade, a minha irmã, Maria Eduarda Gonçalves, pelas horas de descontração quando eu mais precisei, e mesmo tão pequena, compreendeu todos os meus obstáculos e acreditou em mim quando nem eu mesma acreditava.

Às minhas tias, Morgana Gonçalves, Magda Gonçalves e Adenice Castro, por vibrarem com cada conquista, desde do resultado do vestibular até o atual momento e sei que estarão comigo até o fim.

Aos meus tios, João Edson Gonçalves, Francisco de Assis Crisostomo e André Crisostomo, obrigada pela companhia de sempre, obrigada pelo amor, apoio e incentivo.

Aos meus primos, Sarah Gonçalves, Sofia Gonçalves, Jeniffer Gonçalves e Hudson Gonçalves, que tanto me apoiaram em todos os âmbitos da minha vida. Os agradeço também pela atenção, cuidado e amor em abundância que recebi na minha formação como pessoa.

Agradeço imensamente ao meu avô, João Gonçalves Ferreira, por ser para mim exemplo referencial de moral e ética e pela incomensurável alegria que inunda todos os meus dias desde do meu nascimento, por me apresentar a simplicidade e o gosto pela vida, inculcando valores sem os quais jamais teria me tornado pessoa, buscando de fato todos os dias, ser mais humana e sensível às necessidades dos outros.

À memória de Artalina Dias Ferreira, minha amada avó, pelo apoio incondicional em minhas decisões, pela dedicação, afeto, compreensão, pelo amor, pela educação e princípios passados ao longo da minha vida. Por ter sido minha primeira mestra, ensinando-me a ser uma pessoa do bem, muito obrigada.

À minha irmã de alma, Débora Rosa Fonseca, por nunca ter me negado a sua amizade e ter ouvido todas as minhas inseguranças, por sempre estar tão presente em minha vida, mesmo com a distância que a vida nos impõe.

Às minhas amigas, More Torres, Giovana Cardoso e Sarah Olimpio, amizade que a faculdade uniu e que vou levar para sempre, que viveram os últimos 6 anos de mudanças e crescimento em nossas vidas e com elas aprendi novos valores e consolidei outros.

Aos meus amigos, presentes da farmácia, Amanda Malini, Karen Alves, Ronei Souza, Vinícius Guimarães que me socorreram quando eu mais precisava e ficaram ao meu lado dias e noites incontáveis na esperança de sermos bons profissionais, muito obrigada!

Agradeço às minhas amigas, Júlia Vasconcelos e Carolina Vasconcelos, que sem elas, eu não teria conseguido passar por todas as dificuldades que 2018 trouxe, obrigada pelas madrugadas de conversa, pelas risadas, pelas saídas e que sempre estão presentes nas horas mais difíceis e felizes da minha vida, na hora das minhas “neuras”, estão sempre dispostas a me reerguer.

Aos amigos que a vida me deu, Kamila Reis, Vinícius Araújo, Ana Luíza Lino, Jose Luis Brandão, Camila Campêlo, pelos bons momentos que passamos juntos, pelos conselhos dados, que contribuíram para que eu chegasse até o fim.

Agradecimento especial à minha orientadora, Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Paula Melo Martins, pela disponibilidade, pela paciência e pela dedicação a mim confiada durante esse período, meu muito obrigada!

Ao Prof. Dr. Marcelo Henrique Sousa, aos técnicos de laboratório, principalmente a Renata Pascoal e a Matheus Eça pelo auxílio nos experimentos realizados e nos empréstimos de materiais e equipamentos.

E por fim, a todos que contribuíram de alguma forma para a minha formação durante esses anos.

Muito Obrigada!

## RESUMO

**Introdução:** O Ipê-Roxo, facilmente encontrado no cerrado brasileiro, possui diversas finalidades medicinais, apresentando importantes princípios ativos, como o lapachol, substância responsável por atuar como antimicrobiano, anti-inflamatório e principalmente como antitumoral. Utilizou-se o Planejamento Fatorial para que todos os parâmetros fossem analisados simultaneamente e avaliados sua influência na resposta. **Objetivos:** Estudar o processo extrativo por micro-ondas da entrecasca da espécie *Handroanthus impetiginosus* utilizando o planejamento fatorial. Box-Benken. **Métodos:** Foi realizado um estudo, com 15 diferentes experimentos, extraídos através de micro-ondas, utilizando matriz do planejamento fatorial. Após os extratos obtidos, os mesmos foram caracterizados com a determinação de polifenóis totais, densidade, pH e resíduo seco. **Resultados:** Os extratos da entrecasca do ipê-roxo apresentaram valores onde se foi possível constatar que, para a determinação de polifenóis, dentre os fatores analisados, os extratos com o tempo de 4 e 6 minutos obtiveram melhor rendimento de extração, sendo as frações: F2 com  $74,30 \pm 21,22$  F6 com  $69,06 \pm 21,33$  e F10 com  $81,65 \pm 41,21$ , comparados aos outros tratamentos, apresentando valor do nível de significância de  $p (<0,05)$  igual a 0,026 e o valor do coeficiente de 6,841. Para teor de sólidos totais, não houve valores estatísticos significativos para o presente estudo. Já para determinação de densidade, a temperatura, de forma linear, apresentou o melhor valor de  $p (<0,05)$ , com valor de 0,008 e coeficiente de -0,001, sendo então a melhor condição observada são temperaturas de 80 °C **Conclusão:** Destaca-se que o tempo de 6 minutos, com temperatura de 100 °C é a condição ótima para a extração de polifenóis, não ocorrendo a degradação da substância de interesse em temperaturas acima de 75 °C.

**Palavras Chaves:** planejamento fatorial, *Handroanthus impertiginosus*, extração assistida por micro-ondas e ipê-roxo.

## ABSTRACT

**Introduction:** Ipê-Roxo, easily found in the Brazilian Cerrado, has several medicinal purposes, presenting important active principles, such as lapachol, a substance responsible for acting as antimicrobial, anti-inflammatory and mainly as antitumor. Factorial Planning was used so that all parameters were analyzed simultaneously and their influence on the response was evaluated. **Objectives:** To study the microwave extractive process of the bundle of the *Handroanthus impetiginosus* species using factorial planning. Box-Benken. **Methods:** A study was carried out, with 15 different experiments, extracted through microwave, using matrix of factorial planning. After the obtained extracts, they were characterized with the determination of total polyphenols, density, pH and dry residue. **Results:** The extracts from the peel of the purple pea presented values where it was possible to verify that, for the determination of polyphenols, among the analyzed factors, the extracts with the time of 4 and 6 minutes obtained a better yield of extraction, being the fractions: F2 with  $74.30 \pm 21.22$  F6 with  $69.06 \pm 21.33$  and F10 with  $81.65 \pm 41.21$ , compared to the other treatments, presenting a significance level of p (<0.05) equal to 0.026 and the coefficient value of 6.841. For total solids content, there were no statistically significant values for the present study. As for density determination, the temperature, in a linear way, presented the best value of p (<0.05), with a value of 0.008 and a coefficient of -0.001, being the best condition observed are temperatures of 80 °C. **Conclusion:** It is noteworthy that the time of 6 minutes, with a temperature of 100 °C is the optimal condition for the extraction of polyphenols, not occurring the degradation of the substance of interest at temperatures above 75 °C.

**Keywords:** factorial planning, *Handroanthus impetiginosus*, microwave assisted extraction and ipê-roxo.

## Sumário

LISTA DE FIGURAS .....	10
LISTA DE TABELAS .....	11
1. INTRODUÇÃO .....	13
1.1 Cerrado Brasileiro .....	13
1.2 <i>Handroanthus impetiginosus</i> Mart. ex DC. (Ipê-Roxo).....	14
1.2 Processo Extrativo e Extração Por Micro-ondas (MAE).....	15
1.4 Planejamento Fatorial Por Box-Benken .....	17
2. JUSTIFICATIVA .....	19
3. OBJETIVOS .....	20
3.1 Objetivo Geral.....	20
3.1 Objetivos Específicos.....	20
4. METODOLOGIA.....	21
4.1 Coleta e Obtenção do Material .....	21
4.2 Planejamento Fatorial .....	21
4.3 Preparação dos Extratos .....	22
4.4 Caracterização dos Extratos .....	23
4.4.1 Determinação do teor de polifenóis totais pelo método de Folin-Ciocalteu.....	23
4.4.2 Determinação do teor de Resíduos Secos. ....	23
4.4.3 Determinação de Densidade. ....	23
4.4.4 Determinação do pH.....	24
4.5 Análise Estatística.....	24
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	25
6. CONCLUSÃO.....	35
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	36

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estrutura básica dos polifenóis .....	16
Figura 2. Efeito dos fatores sobre o teor de polifenóis totais (%) .....	28
Figura 3. Superfície de resposta representando a influência dos fatores sobre o teor de polifenóis totais.....	30
Figura 4. Gráfico de Pareto de padronização de efeitos: Resíduo Seco .....	31
Figura 5. Gráfico de Pareto de padronização de efeitos: Densidade .....	32
Figura 6. Efeito dos fatores sobre a densidade de <i>H. impetiginosus</i> .....	33
Figura 7. Gráfico de Pareto de padronização de efeitos: pH.....	34

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Fatores estudados e seus níveis no planejamento Box Benken. ....	21
Tabela 2. Planejamento Box Benken com fatores codificados para extração por micro-ondas da droga vegetal de <i>Handroanthus impetiginosus</i> .....	21
Tabela 3. Planejamento Box Behnken com fatores descodificados para extração por micro-ondas do pó da entrecasca de <i>Handroanthus impetiginosus</i> .....	22
Tabela 4. Resultados dos experimentos de extração por micro-ondas utilizando <i>Handroanthus impetiginosus</i> .....	25
Tabela 5. Variáveis estatísticas dos experimentos utilizando extratos de <i>Handroanthus impetiginosus</i> .....	26

## LISTA DE SIGLAS

<b>cm</b>	Centímetro
<b>COX</b>	Ciclooxigenase
<b>DNA</b>	Ácido Desoxirribonucléico
<b>EMBRAPA</b>	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
<b>F</b>	Fração
<b>g/mL</b>	Gramas por mililitro
<b>IBAMA</b>	Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis
<b>MAE</b>	Extração Assistida por Micro-ondas
<b>mL</b>	Mililitro
<b>nm</b>	Nanômetro

# 1. INTRODUÇÃO

## 1.1 Cerrado Brasileiro

O Bioma Brasileiro apresenta diversas espécies de plantas que compõem toda a sua vegetação, tornando-o único, dispondo de aproximadamente 11.000 espécies (MEDEIROS, 2011).

O termo Cerrado pode ser descrito como um conjunto de helocenoses, que pode apresentar: matas, savanas e outros. Apresenta um clima muito predominante e único, sendo alguns dias muito chuvosos e outros muito secos e quentes, variando entre os meses do ano (KLINK; MACHADO, 2005). Considera-se como a savana da América, apresentando características únicas, como por exemplo, pequenas árvores com galhos considerados tortos e folhagem rica em tricomas. Por isso, o cerrado sofre uma classificação, onde se descreve: Cerrados sazonais, que são considerados locais mais extensos, enquanto o cerrado hipersazonais, são áreas mais restritas (AMORIM; BATALHA, 2007).

Neste bioma temos as formações florestais, formadas por: Mata Ciliar, Cerradão, Mata de Galeria e Mata Seca. Sobre Mata Ciliar há uma grande diversidade de rios de longa extensão, acompanhados por espécies arbóreas que não tendem a formar galerias, sendo assim o acesso tende a ser bastante difícil. Em Cerradão, as estirpes superam grandes períodos de seca e calor, apresentando estruturas médias, em sua maioria. Já em Mata de Galeria, temos a apresentação de pequenos córregos e rios, ocorrendo a formação de galerias entre esses espaços, têm como característica, manter a folhagem de suas espécies durante todo o ano, mesmo durante a seca. Por fim, em Mata Seca, diferente da Mata de Galeria, nesta formação florestal, as linhagens arbóreas tendem a perder suas folhas durante o período de estiagem, pela falta de canais de água próximos à região (RIBEIRO; WALTER, 2008).

O Cerrado hoje se encontra em um processo de degradação, por principalmente ocorrer uma vasta exploração do seu solo e também das espécies que compõem a fauna e a flora deste local, tornando cada vez mais difícil, o estudo destes componentes (A'BSABER, 2003).

Logo, é necessário um estudo profundo sobre a diversidade deste bioma, para que ocorra uma discussão sobre o melhor método para sua preservação, e qual (is) o (s) melhor (es) método (s) de estudo da variedade de espécies que lá se encontram (LUÇARDO; OLIVEIRA; FRIZZAS, 2014).

## **1.2 *Handroanthus impetiginosus* Mart. ex DC. (Ipê-Roxo)**

O Ipê-Roxo (*Handroanthus impetiginosus* Mart. ex DC.), conhecido também popularmente como pau-d'arco ou lapachol, pode ser encontrado facilmente no Nordeste, Sudeste e Centro-Oeste do Brasil, prontamente se trata de uma planta extremamente apreciada pelos nativos da região. Apresenta uma floração abundante, de coloração forte, com poucas folhas. Logo, é bastante utilizada em locais onde se predomina o paisagismo, devido a sua beleza e tem sido bastante reflorestada em locais que apresentam formações de mata ciliar, presente no cerrado brasileiro (MARTINS; LAGO; CÍCERO, 2012).

A espécie é uma planta de médio porte, com cerca de 20 metros de altura e 60 cm de diâmetro, considerada uma linhagem arbórea, pertencente à família botânica Bignoniaceae (VIANA, 2017).

A família de *H. Impetiginosus* (Mart. ex DC.) exibe uma vasta quantidade de espécies, cerca de 110 gêneros, incluindo *Handroanthus* e *Jacarandá*, e aproximadamente 800 espécies são incluídas neste grupo. (SILVA, et al. 2009)

O uso da espécie apresenta diversas finalidades, como por exemplo: medicinal, a sua madeira é bastante utilizada para a fabricação de móveis artesanais, e compõe áreas que foram degradadas no decorrer dos anos (FILHO, et al.2009).

*Handroanthus impertiginosus* é amplamente aplicada como planta medicinal, sendo utilizada como anti-inflamatório, em diversos tipos de lesões, inibindo os mediadores do processo inflamatório, como a COX-1 e COX-2, bem como também apresenta ação analgésica. Apresenta-se como anticancerígeno não se sabendo bem exatamente é o seu mecanismo de ação, porém, já se conhece que a sustância que se encontra na casca do ipê-roxo, o lapachol, expõe uma ação onde se altera a competência da célula cancerígena de reparação do seu DNA, levando à sua morte (CABRAL, 2014).

Apresenta-se também na espécie as naftoquinonas, substância grandemente produzida por plantas da família de *H. impertiginosus*, a *Bignoniaceae*, porém pode ser fabricado também por fungos. A sua utilização é realizada para fins antiparasitários e anticancerígenos em diversos países, como China, Japão e Brasil e são classificadas sem: furanonaftoquinonas, piranonaftoquinonas, difuronaftoquinonas e prenilnaftoquinonas. (SILVA, et al. 2012).

Segundo Mamedes (2013), o ipê roxo ainda apresenta uma diversidade de substâncias, como antraquinonas, sendo utilizadas normalmente como laxativos por irritar o intestino grosso. Há também a presença de ácido hidroxibenzóico, resinas, saponinas, que na sua totalidade, reduz a tensão superficial da água e mostra-se um ótimo emulsificante. Por fim, destacam-se os taninos, minerais e cumarinas, que pode apresentar ação anticoagulante, com o dicumarol.

## **1.2 Processo Extrativo e Extração Por Micro-ondas (MAE)**

O processo extrativo inicia-se com a produção dos extratos da planta de escolha, que consiste, no geral, no retiro de substâncias consideradas importantes para o estudo em desenvolvimento, utilizando solventes apropriado para o experimento (DRAGOVIC-UZELAC, et al. 2012).

Para uma extração de qualidade é necessário avaliar as condições que terão maior influência sob os extratos, como a temperatura, que influencia as etapas da extração assistida por micro-ondas, como: a interação soluto-matriz, a ativação da energia necessária para o experimento, entre outros (ALUPULUI; CĂLINESCU; LAVRIC, 2012).

Para que se obtenham as substâncias presentes nas plantas medicinais para fins terapêuticos, é preciso a adoção de algumas técnicas onde se é possível a sua extração, como por exemplo, a técnica de extração assistida por micro-ondas (MAE), encurtando-se o tempo de todo o processo (COSTA, 2014).

Apresenta-se como vantagens, uma manipulação mais simples, pois não é necessária uma variedade de técnicas para a realização da extração, há pouco uso de energia, menor quantidade de solvente utilizada, entre outros (SILVA, 2016).

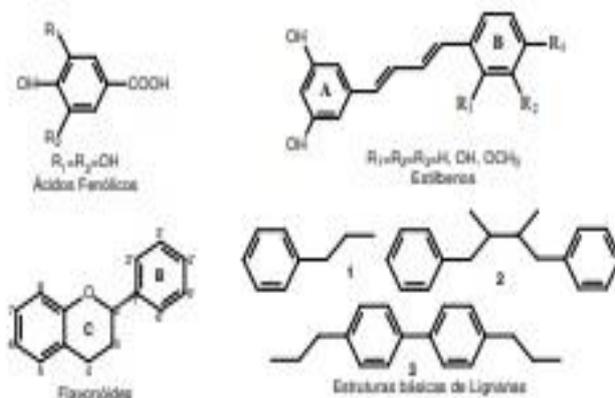
Mesmo com a apresentação de uma gama de vantagens, a técnica apresenta algumas desvantagens, por exemplo, potências altas podem causar danos as substâncias que se deseja extrair. Também pode-se destacar como desvantagem o

alto custo do equipamento, sendo ainda pouco acessível (ROSINI; NASCENTES; NÓBREGA, 2004).

Com o uso dessa técnica é possível a extração de diversas substâncias, como: flavonóis, óleos essenciais e principalmente polifenóis (ROCKENBACH, et al. 2008). Há uma diversidade de métodos pelo quais é possível obter esses compostos, como por exemplo: uso de água quente e solventes orgânicos, como maceração dinâmica e infusão, assim como, processos não convencionais, como extração por fluido supercrítico, extração enzimática assistida, extração assistida por micro-ondas (MAE) (TIWARI, 2011).

A extração assistida por micro-ondas torna-se importante principalmente para a extração de polifenóis, que são moléculas bastante encontradas em plantas e desempenham diversas funções, como: defesa contra microrganismos, responsável por parâmetros organolépticos, como a coloração. A sua molécula química é composta por duas hidroxilas e um anel benzênico e se apresentam como substâncias ácidas na sua totalidade (LIMA, 2015).

Figura 1. Estrutura básica dos polifenóis



Fonte: LIMA, 2015

A escolha de alguns fatores pode contribuir para o sucesso da técnica de extração escolhida, como: a potência, o tempo, solvente entre outros. O tempo é um dos fatores mais importantes, pois nota-se que tempos muito curtos podem não influenciar a extração como deveria, e obter extratos incompletos (RIBEIRO, 2018).

Dentre os vários métodos utilizados para a extração de compostos de droga vegetal, o método de extração por micro-ondas tem se destacado. O uso dessa técnica começou no final dos anos 80 e, através dos avanços tecnológicos, tornou-

se um dos mais interessantes em relação aos métodos de extração disponíveis atualmente. O aquecimento dos solventes e tecidos das plantas no processo de extração por micro-ondas aumenta a cinética de extração. Este método é vantajoso, pois, o tempo de extração é curto, utiliza-se menos solvente e obtém-se uma maior taxa de captação dos sólidos solúveis (DELAZAR et al, 2012).

Comparado, por exemplo, ao método convencional, como a maceração, que utiliza maior quantidade de solvente, um tempo excessivo de extração e pode causar a deterioração de amostras termolábeis, levando a sua degradação, tornando o processo ineficaz, a extração por micro-ondas se apresenta bastante promissora (EMBRAPA, 2009).

Na irradiação por micro-ondas, as ondas eletromagnéticas são efetivamente absorvidas seletivamente pelos meios que possuem uma constante dielétrica elevada, resultando em aquecimento mais eficaz. Quando as células absorvem as micro-ondas, a energia cinética das moléculas aumenta, ocorre a lise da membrana celular e a taxa de difusão aumenta, resultando na rápida transferência de massa. MAE é um método de extração que utiliza solventes menos agressivos e mais polares, por exemplo, água, metanol e etanol, uma vez que absorverem melhor as micro-ondas (ALUPULUI; CĂLINESCU; LAVRIC, 2012).

#### **1.4 Planejamento Fatorial Por Box-Benken**

Para organizar e obter melhores resultados sobre a extração realizada pela técnica por micro-ondas utilizou-se o planejamento fatorial Box-Benken, sendo este uma ferramenta importante, pois apresenta como principal vantagem a análise de um grande número de variáveis, utilizando poucos ensaios, levando a otimização, com diminuição de tempo e recursos financeiros (CUNICO, et al. 2008).

A obtenção dos variados extratos pelos processos de micro-ondas foi possível através do delineamento fatorial utilizando o planejamento Box-Benken, que diferem dos planejamentos de composição central por terem apenas três níveis para cada um dos três fatores empregados, permitindo a determinação linear, quadrática e interativa dos efeitos (MARTINS, et al.2013)

O planejamento Box-Benken tem sido utilizado para a otimização de processos analíticos por reduzir o número de experimentos que precisam ser

executados, obtendo como vantagem menor consumo de reagente e menor trabalho laboratorial, otimização do processo e minimizar erros experimentais (ASLAN ECEBECI, 2007).

De acordo com Kisen et al. (2014), são descritas como vantagens na aplicação do planejamento fatorial, principalmente, a criação de condições mais favoráveis para o desenvolvimento de um determinado estudo, podendo ser multivariada. A quantidade de experimentos realizados será reduzida, por depender diretamente da quantidade, também reduzida, de níveis utilizados.

## **2. JUSTIFICATIVA**

Diante das vantagens observadas em estudos ao utilizar o micro-ondas como técnica de extração, obtendo-se redução de tempo e uma maior eficiência de extração, utilizou-se o planejamento fatorial como ferramenta capaz de avaliar 3 fatores ao mesmo tempo e ainda encontrar a otimização. Visto que ainda hoje não existem que avaliem a utilização da MAE para o ipê-roxo, o presente estudo, foi proposto para avaliar a influência dos fatores tempo, temperatura e agitação por micro-ondas sobre alguns componentes ativos e as características físico-químicas dos extratos obtidos.

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1 Objetivo Geral**

O objetivo geral deste estudo foi estudar o processo extrativo por micro-ondas da entrecasca da espécie *Handroanthus impetiginosus* utilizando o planejamento fatorial Box Benken.

#### **3.1 Objetivos Específicos**

- Investigar a influência do tempo, agitação e temperatura durante a extração da entrecasca de *Handroanthus impetiginosus* por microondas;
- Quantificar o teor de polifenóis pelo método de *Folin-Ciocalteu*;
- Determinar o teor de resíduos secos dos extratos;
- Determinar a densidade e pH dos extratos;
- Otimizar o processo extrativo nas condições estudadas.

## 4. METODOLOGIA

### 4.1 Coleta e Obtenção do Material

A etapa de coleta e obtenção da amostra foi realizada em época anterior ao estudo, entre os meses de maio a junho do ano de 2017, na região do Park Way (RA XXIV), na cidade de Brasília, por Aoayma (2017). O projeto tem cadastro no Sisgen: A7B10E5.

### 4.2 Planejamento Fatorial

Foi utilizado o software estatístico para o auxílio na confecção da matriz, Minitab® 18 (Minitab Inc., Pensilvânia, EUA). Os resultados foram analisados também pelo software STATISTISCA®. Os fatores estudados e as matrizes de planejamento são apresentadas a seguir.

Tabela 1. Fatores estudados e seus níveis no planejamento Box Benken.

Fatores	-1	0	+1
Temperatura (C°)	80	100	120
Tempo (min)	02	04	06
Agitação (rpm)	00	300	600

Tabela 2. Planejamento Box Benken com fatores codificados para extração por microondas da droga vegetal de *Handroanthus impetiginosus*.

Experimentos	Temperatura (C°)	Tempo (min)	Agitação(rpm)
F1	0	-1	-1
F2	0	1	-1
F3	0	-1	1
F4	0	1	1
F5	-1	-1	0
F6	-1	1	0
F7	1	-1	0
F8	1	1	0
F9	-1	0	-1
F10	-1	0	1

F11	1	0	-1
F12	1	0	1
F13	0	0	0
F14	0	0	0
F15	0	0	0

Tabela 3. Planejamento Box Benken com fatores descodificados para extração por microondas do pó da entrecasca de *Handroanthus impetiginosus*.

Experimentos	Temperatura (C°)	Tempo (min)	Agitação(rpm)
F1	100	2	0
F2	100	6	0
F3	100	2	600
F4	100	6	600
F5	80	2	300
F6	80	6	300
F7	120	2	300
F8	120	6	300
F9	80	4	0
F10	80	4	600
F11	120	4	0
F12	120	4	600
F13	100	4	300
F14	100	4	300
F15	100	4	300

### 4.3 Preparação dos Extratos

A extração foi realizada utilizando um Digestor de Micro-ondas. Multiwave PRO™, DMA 4500 M, Anton Paar®, no laboratório de Nanotecnologia da Universidade de Brasília, Faculdade de Ceilândia. O experimento foi cumprido em diferentes níveis de agitação entre 0 a 600 rpm e variação de tempo de extração entre 2 e 6 minutos com intervalo de temperatura de 80 °C a 120 °C. A proporção droga/solvente nos extratos foi mantida em 1:25 (p/v), utilizando 20 mL de solvente extrator, álcool etílico 70%. Após a extração, as amostras foram filtradas e acondicionadas em vidro âmbar à -20 C°, para os ensaios posteriores.

## **4.4 Caracterização dos Extratos**

### **4.4.1 Determinação do teor de polifenóis totais pelo método de Folin-Ciocalteu.**

O teor de polifenóis totais calculado com o ácido gálico foi determinado através de método espectrofotométrico a 765 nm. Reagente de Folin-Ciocalteu diluído (1:9), amostra diluída (1:10) e  $\text{Ca}_2\text{CO}_3$  a 75%, foram utilizados para as análises. A curva padrão do ácido gálico foi construída utilizando as concentrações 0,00; 0,10; 0,20; 0,30; 0,40; 0,50; 0,60; 0,80; 1,0 mL em balão volumétrico de 10 mL, onde foram feitas soluções padrão com concentrações 50; 100; 150; 200; 250; 300; 400; e 500 mg/L realizando a leitura e a confecção de uma curva padrão, expressando o teor de polifenóis, em mg de ácido gálico por litro de solução, segundo metodologia de Singleton & Rossi (1965).

### **4.4.2 Determinação do teor de Resíduos Secos.**

Um volume de 2 mL de extrato de *H. impetiginosus* foi evaporada em placa de Petri, previamente tarada. O material foi evaporado em banho-maria (modelo Q334M, Quimis Ltda., São Paulo, Brasil) e depois a placa foi colocada na estufa (modelo Q316M, Quimis Ltda, São Paulo, Brasil) a 103-105 C° por 3 horas. Foi colocado em dessecador até obter peso constante (BRASIL, 2010). Os ensaios foram feitos em triplicata.

### **4.4.3 Determinação de Densidade.**

A densidade foi determinada utilizando densímetro, do fabricante Density Meter, modelo: DMA 4500 M, Anton Paar®, segundo a Farmacopéia Brasileira 5ª Ed. (BRASIL, 2010). Os ensaios foram feitos em triplicata.

#### **4.4.4 Determinação do pH.**

As determinações foram realizadas utilizando pHmetro, PG 1800, do fabricante Gehaka® (BRASIL, 2010).

#### **4.5 Análise Estatística**

A análise estatística dos experimentos relatados foi realizada utilizando o software Minitab® 18 e STATISTICA® com confiança de 95%.

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após a realização dos experimentos foi possível determinar o teor de polifenóis totais dos diferentes extratos de *H. Impertiginosus* obtidos.

Posteriormente, determinou-se a concentração de polifenóis totais, resíduo seco, densidade e pH dos extratos de *Handroanthus impetiginosus*, conforme Tabela 4.

Tabela 4. Resultados dos experimentos de extração por micro-ondas utilizando *Handroanthus impetiginosus*.

Experimentos	Polifenóis Totais	Resíduo Seco	Densidade	pH
F1	56,19 ± 29,37	2,680 ± 0,265	0,8745 ± 0,001	5,85
F2	74,30 ± 21,22	2,381 ± 0,065	0,8749 ± 0,001	6,14
F3	64,17 ± 9,62	2,415 ± 0,295	0,8762 ± 0,001	6,59
F4	77,39 ± 23,95	1,894 ± 0,032	0,8771 ± 0,001	6,89
F5	57,74 ± 48,95	2,318 ± 0,012	0,8753 ± 0,000	6,25
F6	69,06 ± 21,33	2,127 ± 0,037	0,8773 ± 0,001	5,37
F7	68,73 ± 13,51	2,045 ± 0,021	0,8759 ± 0,001	6,27
F8	80,81 ± 60,51	1,885 ± 0,037	0,8797 ± 0,000	6,03
F9	64,74 ± 15,70	2,386 ± 0,057	0,8758 ± 0,000	5,52
F10	81,65 ± 41,21	2,316 ± 0,032	0,8782 ± 0,001	6,16
F11	69,79 ± 17,58	1,866 ± 0,071	0,8799 ± 0,000	5,52
F12	63,65 ± 26,25	2,363 ± 0,039	0,8779 ± 0,001	5,95
F13	79,50 ± 39,63	2,233 ± 0,046	0,8756 ± 0,000	6,40
F14	65,91 ± 28,42	2,123 ± 0,033	0,8748 ± 0,000	5,80
F15	76,02 ± 49,26	1,873 ± 0,064	0,8753 ± 0,000	5,07

Conforme a análise estatística, que foi verificada através da análise de variância (ANOVA), observada na Tabela 5, o fator tempo foi o único que exerceu influência sobre o teor de polifenóis totais. O resíduo seco não sofreu influência de nenhum dos fatores estudados. A densidade teve uma influência inversamente proporcional da temperatura, não havendo influência dos outros fatores. No caso do pH, a influência foi dada pela agitação, de forma proporcional.

Tabela 5. Variáveis estatísticas dos experimentos utilizando extratos de *Handroanthus impetiginosus*.

Fatores	Polifenóis Totais		Resíduo Seco		Densidade		pH	
	<i>p</i>	Coef.	<i>p</i>	Coef.	<i>p</i>	Coef.	<i>P</i>	Coef.
<b>Tempo (min)</b>								
Linear	<b>0,026</b>	<b>6,841</b>	0,341	-0,146	0,056	0,000	0,565	-0,066
Quadrático	0,394	1,667	0,641	0,051	0,706	0,000	0,186	0,117
<b>Temperatura (C°)</b>								
Linear	0,639	1,223	0,418	-0,123	0,065	0,000	0,609	0,058
Quadrático	0,717	0,695	0,347	0,106	<b>0,008</b>	<b>-0,001</b>	0,066	0,172
<b>Agitação (rpm)</b>								
Linear	0,309	2,730	0,785	-0,048	0,214	0,000	<b>0,019</b>	<b>0,320</b>
Quadrático	0,525	1,231	0,870	-0,017	0,286	0,000	0,800	-0,021

### 5.1. Polifenóis totais

Conforme exposto acima, o teor de polifenóis foi mais influenciado pelo fator tempo, de forma diretamente proporcional. Dentro das mesmas condições de temperatura e agitação, tiveram maior quantidade de polifenóis totais: F8 (80,81 mg/g), F4 (77,39 mg/g) e F2 (74,30 mg/g) relacionadas com os maiores tempos (6 minutos). Essas informações podem ser comparadas com o Gráfico de Pareto (Figura 2), onde é possível perceber a influência do fator tempo de forma linear e a Figura 3 que apresenta a influência dos fatores estudados sobre a concentração dos polifenóis com 95% de confiança. De acordo com Lima (2015), extrações realizadas com tempos constantes de aproximadamente 5 minutos, obtiveram ótimos rendimentos para a extração de compostos fenólicos. Foram utilizados galhos de Rosa híbrida cultivar 'Jardin Granville' para a produção dos extratos mostraram valores de rendimento na faixa de aproximadamente 13%, diante de outros parâmetros iguais, como temperatura, amostra e o tipo de solvente utilizado durante a extração. O valor encontrado foi considerado bom, se fosse comparado a outros métodos tradicionais de extração. Para Alupului, Călinescu e Lavric (2012), foram avaliados os extratos utilizando folhas secas de *Cynara scolymus*, popularmente conhecido como alcachofra, sendo também observado que quanto maior a temperatura utilizada, melhor o rendimento para compostos fenólicos, porém após a

alcanças a sua temperatura ótima, esses compostos podem ser degradados ao ser expostos a temperaturas mais elevadas. Observou-se também um melhor rendimento para a extração de até 5 minutos, com a extração de polifenóis de até 70,56%.

Na comparação com os outros fatores estudados, observou-se no estudo de Vieira et al. (2016), utilizou o própolis, produto de origem animal, que temperaturas consideradas ótimas para extração de polifenóis totais, são cerca de 25 °C, muito abaixo das utilizadas para este estudo, sendo possível notar o motivo pelo qual as temperaturas utilizadas não demonstraram efeito positivo, já que o autor relata que temperaturas acima de 75 °C podem degradar esses compostos. Porém sendo comparados aos resultados do presente estudo, os valores encontrados para polifenóis totais se encontraram melhores em extratos que utilizaram temperaturas de 100 °C, como F2 74,30% e F13 79,50%, logo pode sugerir que em outros tipos de condições, os polifenóis podem ser manter intactos quando expostos a altas temperaturas.

Figura 2. Efeito dos fatores sobre o teor de polifenóis totais (%)

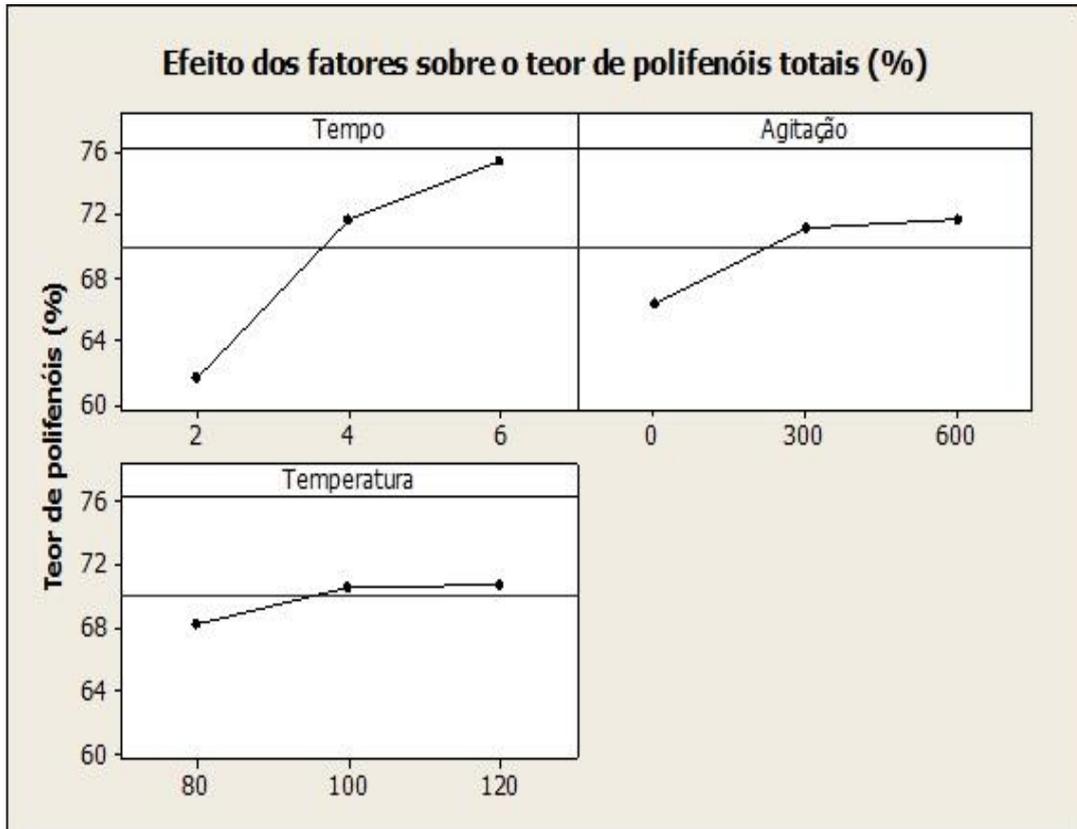
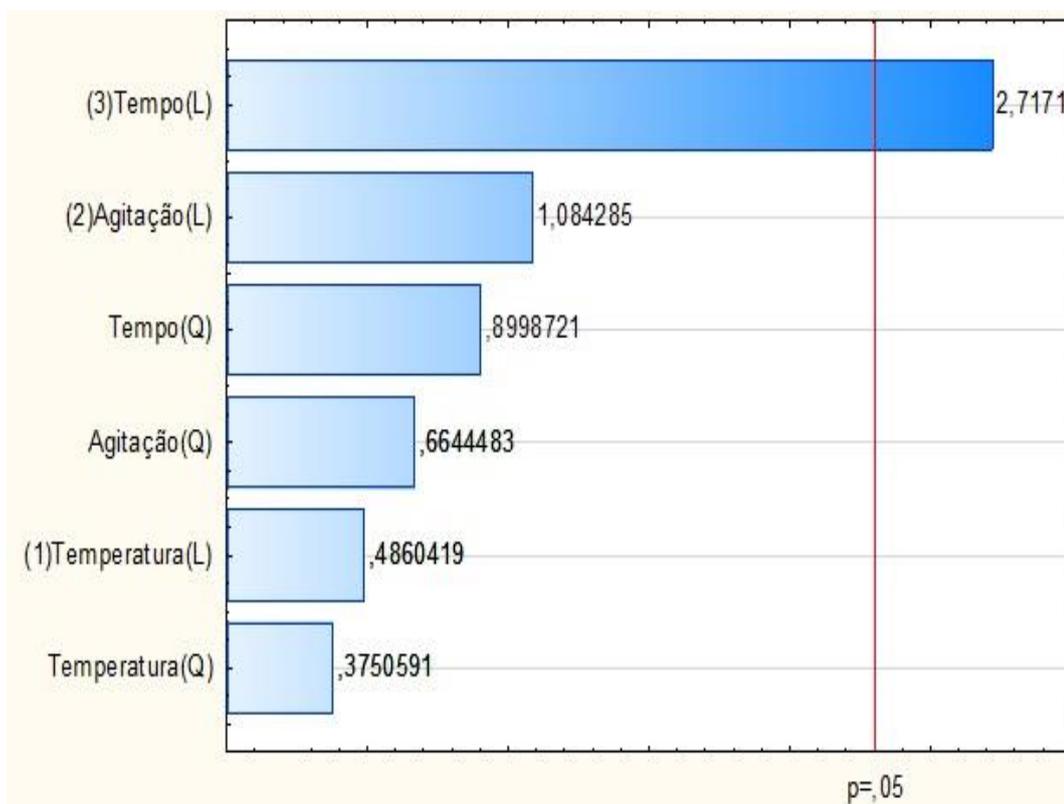
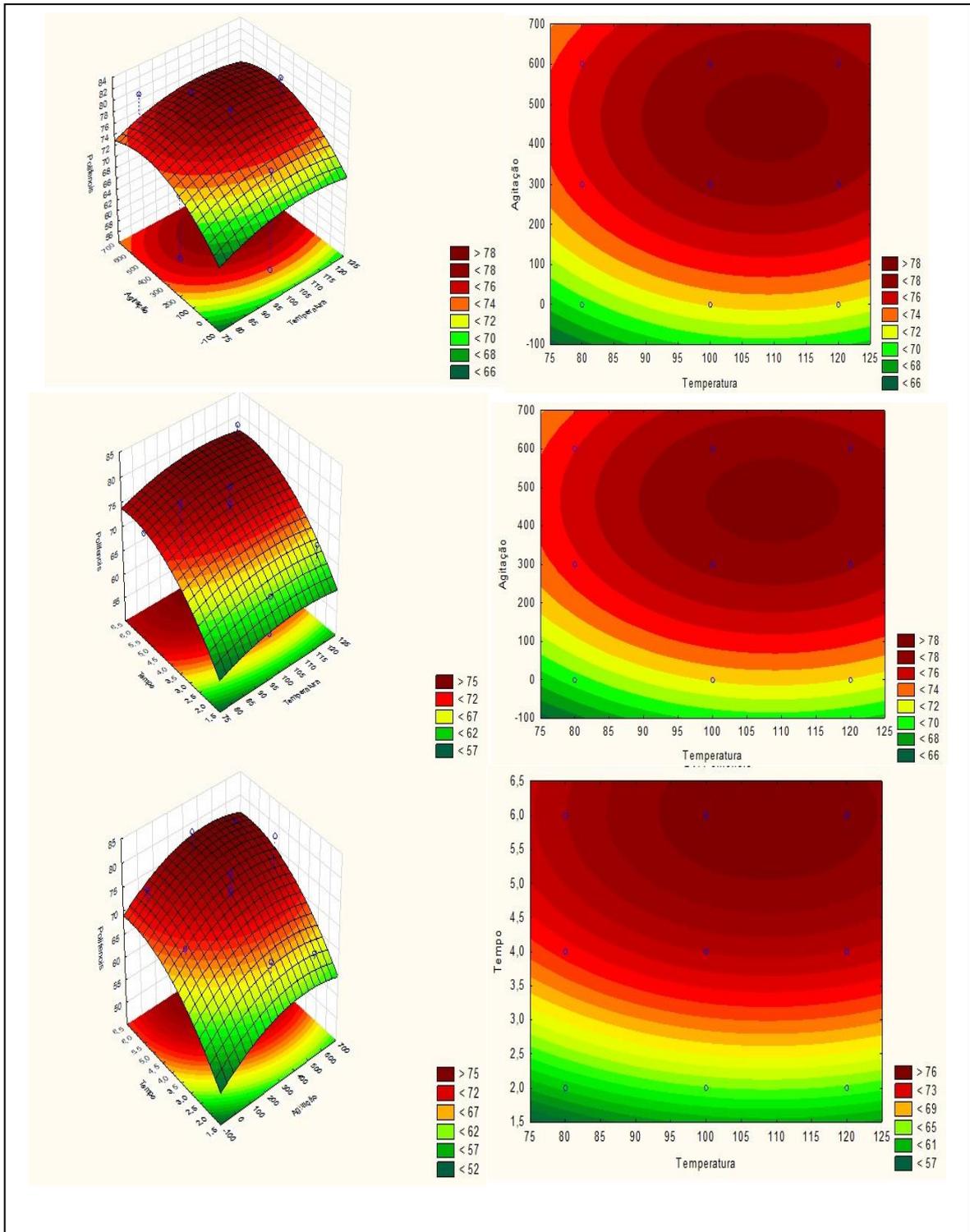


Figura 3. Gráfico de Pareto de padronização de efeitos: Polifenóis Totais



Foi possível demonstrar a influência do fator tempo para a determinação de polifenóis totais, através de superfície de resposta pois pode-se tomar como referência os valores demonstrados na Figura 4, mostrando que quanto mais próximo da coloração avermelhada, maior a influência do fator estudado. Segundo Comparini et al. (2012), a metodologia de superfície de resposta se torna bastante útil para a melhora e também para a otimização de alguns processos, logo é possível analisar estatisticamente o melhor desempenho para a extração de compostos fenólicos. Foi possível observar na superfície de resposta que tempos de irradiação de 6 minutos, 100 °C de temperatura e agitação de 300 rpm pode-se obter um ótimo rendimento com valores altos em teor de polifenóis totais, demonstrando uma boa eficiência e otimização do método utilizado.

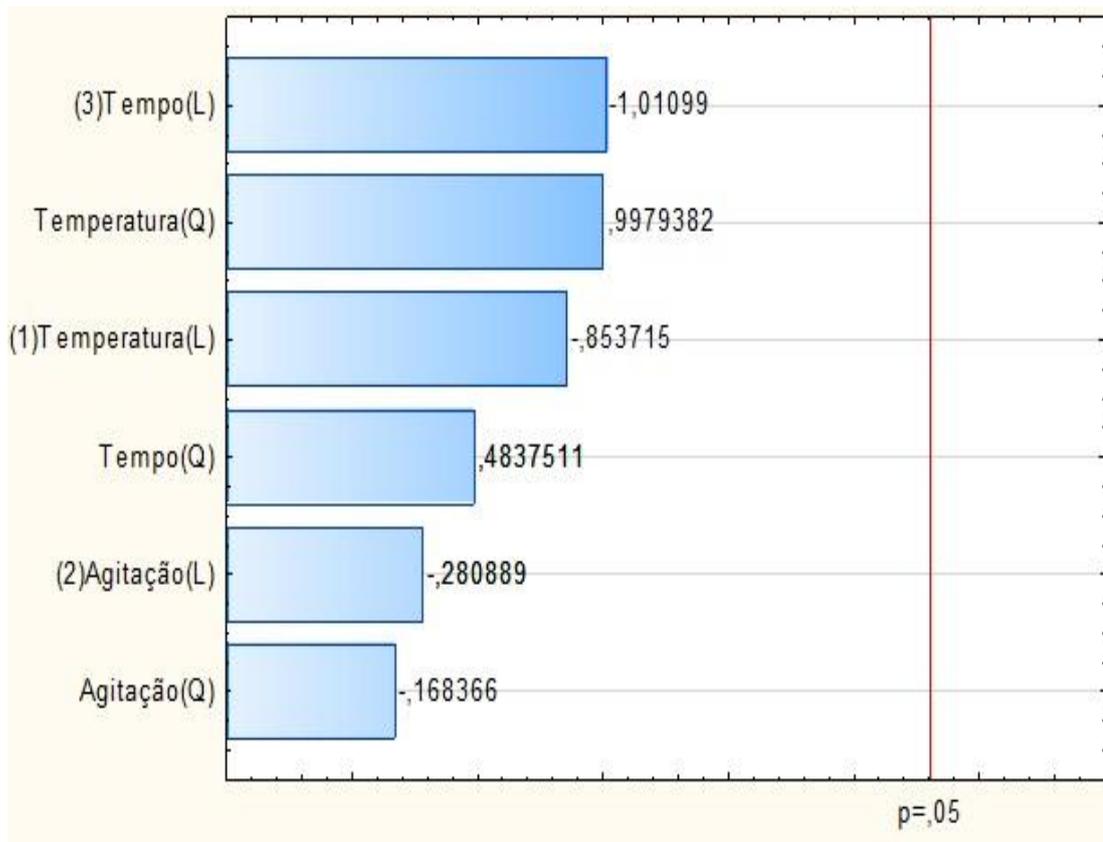
Figura 3. Superfície de resposta representando a influência dos fatores sobre o teor de polifenóis totais



## 5.2 Resíduo Seco

Os fatores não tiveram muita influência significativa sobre esse parâmetro. Podemos comparar os valores estatísticos relatados na Tabela 5 e com o Gráfico de Pareto na Figura 5. Segundo Lacerda, Freitas e Silva (2009), foi verificado que a percentagem da matéria seca, de diferentes espécies de forrageiras, utilizado forno micro-ondas só foi relevante utilizando tempo de extração de cerca de 22 minutos e em uma potência de 1250 W, abaixo da potência fixa do forno micro-ondas utilizado de 1500 W. O tempo observado no estudo de Lacerda, Freitas e Silva (2009) foi superior aos utilizados nesse estudo, logo é possível levar em consideração o porquê dos fatores estudados não apresentar significância sobre a matéria seca.

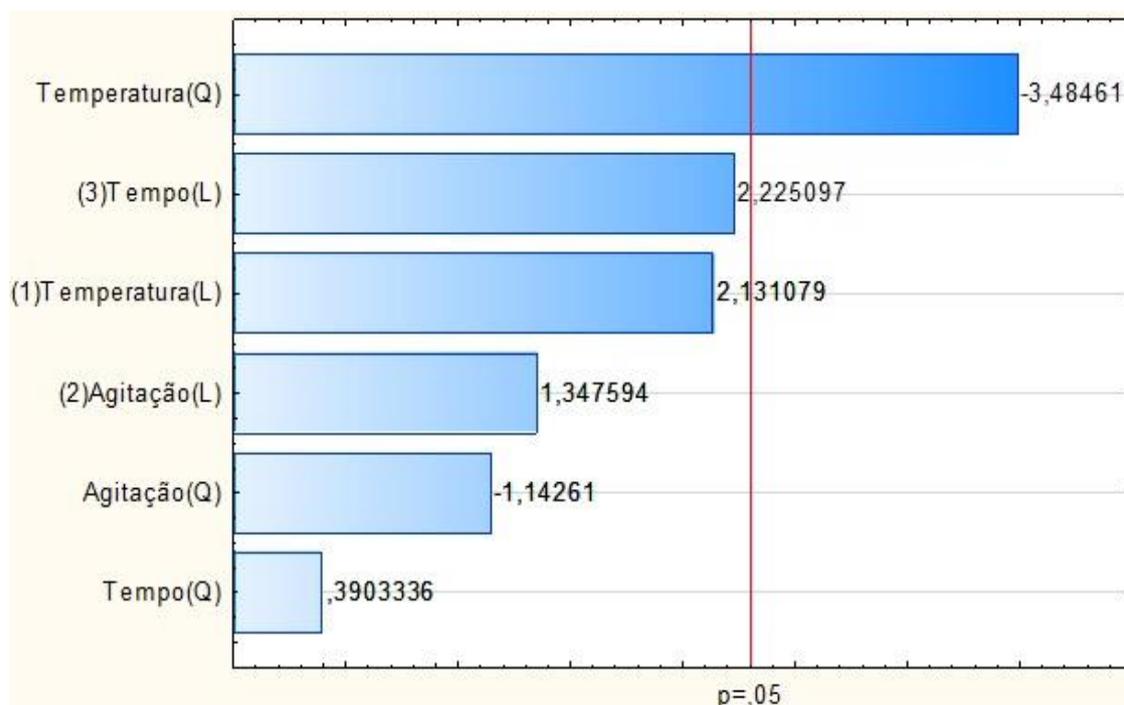
Figura 4. Gráfico de Pareto de padronização de efeitos: Resíduo Seco



### 5.3. Densidade

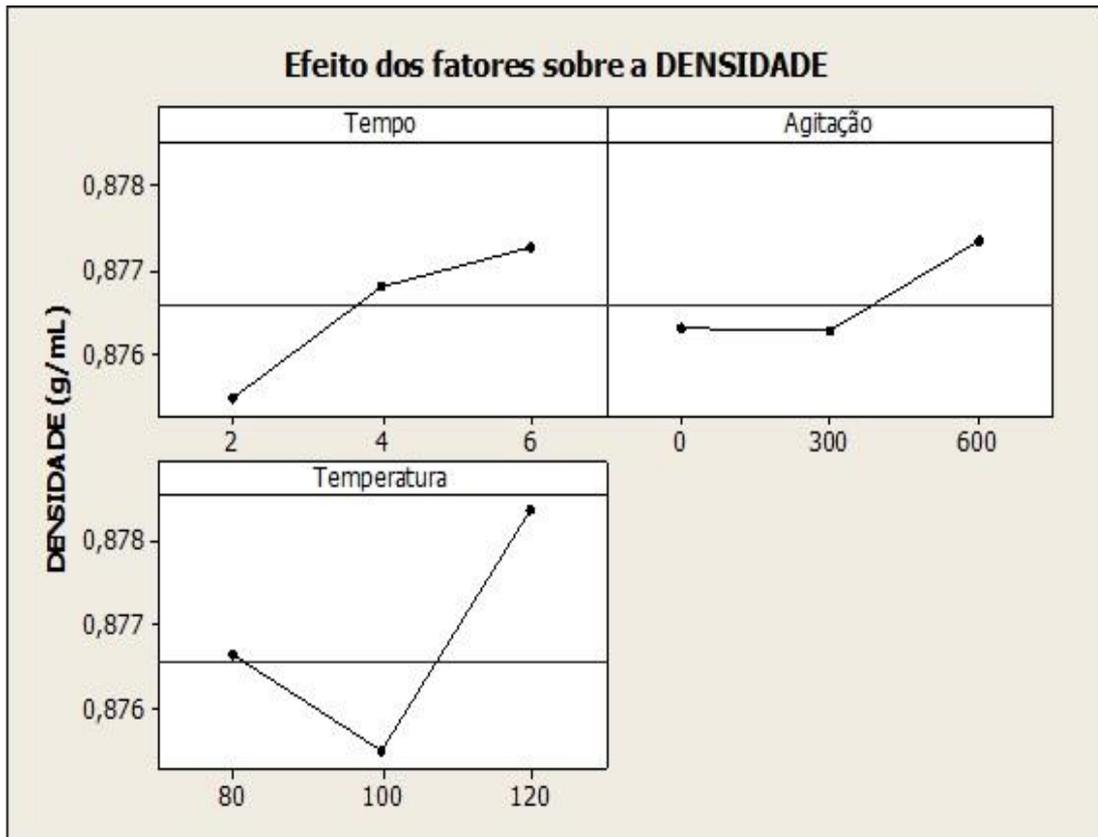
Conforme observado pelo Gráfico de Pareto (Figura 6), a temperatura apresenta o maior efeito inversamente proporcional sobre a densidade, ou seja, quanto menor a temperatura, maior a densidade. Os valores de concentração encontrados nas amostras de extratos de *H. impetiginosus* que identificam a temperatura de destaque foi do tratamento F10 com  $0,8782 \pm 0,001$ , de acordo com Tabela 4. Para Rodrigues et al. (2004), assim como o pH, é um parâmetro físico-químico importante para avaliar a estabilidade, qualidade e a otimização do método de extração escolhido através dos valores retratados no presente estudo. Porém ainda na literatura não foi possível encontrar estudos que demonstram a influência do fator temperatura com relação a densidade dos extratos, nas condições extrativas por micro-ondas. Segundo Jacques (2005), para as extrações de erva-mate (*Ilex paraguariensis*), é possível observar que em extratos com menores de temperaturas, como 20 °C, obteve-se uma maior densidade, 0,963 g/cm<sup>3</sup>, logo os extratos de *H. impetiginosus* do presente estudo concorda com os parâmetros encontrados pela a autora.

Figura 5. Gráfico de Pareto de padronização de efeitos: Densidade



Esse fenômeno pode ser observado também de acordo com a Figura 7 dos efeitos estudados sobre a densidade de *H. impetiginosus*.

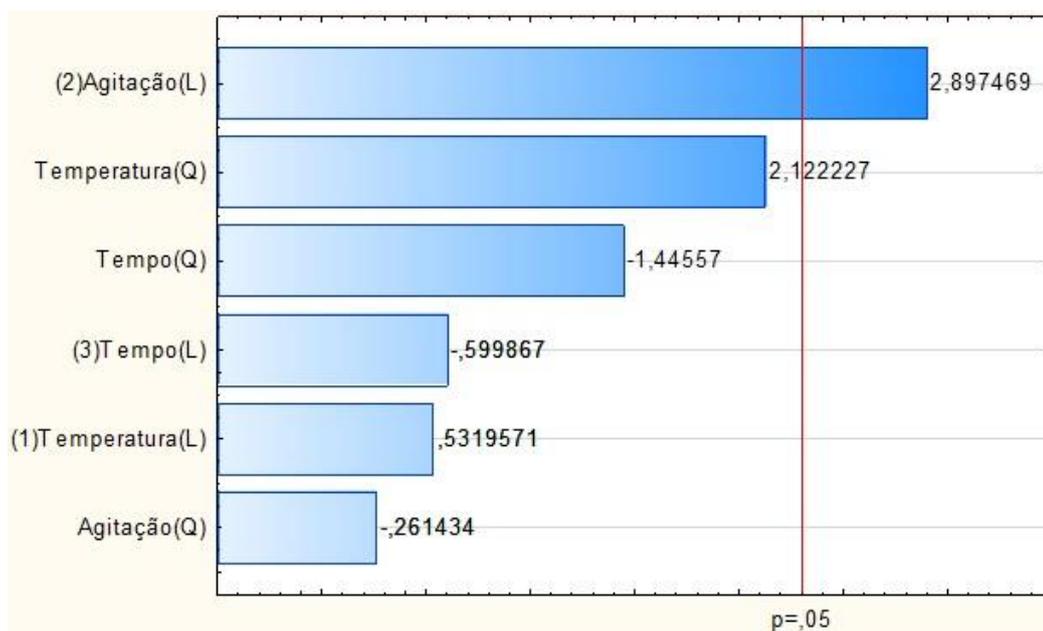
Figura 6. Efeito dos fatores sobre a densidade de *H. impetiginosus*



#### 5.4. pH

Conforme observado pelo Gráfico de Pareto (Figura 7), a agitação se mostrou a melhor condição para a extração de *H. impertiginosus*, os tratamentos que foram extraídos sem agitação, apresentaram menores valores de pH, exibindo valores de 5,85 e 5,52 nas amostras F1 e F9, respectivamente.

Figura 7. Gráfico de Pareto de padronização de efeitos: pH



Após as extrações, os valores apresentados na Tabela 4, demonstram que o valores de pH do extrato da droga vegetal, podem ser remetidas ao alto grau de acidez dos compostos fenólicos, devido a sua oxidação (EFRAIM, et al.2010).

## 6. CONCLUSÃO

Os resultados deste estudo mostraram a grande importância na utilização da extração por micro-ondas ao analisar os extratos de *Handroanthus impetiginosus*. Logo concluiu-se que o tempo, em 6 minutos, foi o fator mais significativo para a extração por microondas de polifenóis das entrecasas de *H. impetiginosus* em temperaturas acima de 100 °C, não ocorrendo a degradação das substâncias, sendo portanto a condição ótima para a extração para polifenóis totais. Notou-se que com a extração assistida por micro-ondas não se esperava a influência dos fatores estudados, pois para a condição ótima de extração para a matéria seca, seria importante tempo e potência superior das que foram utilizadas. O pH encontrado nos extratos da droga vegetal se apresentou ácido, devido principalmente as substâncias ácidas presentes nos polifenóis. Porém, nota-se a necessidade de novos estudos para a espécie estudada, levando em consideração outras condições.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AB'SÁBER, A. N. **Os domínios de natureza no Brasil: potencialidades paisagísticas**. São Paulo: Ateliê Editorial, 2003. 159 p.
2. ALUPULUI, Ani; CĂLINESCU, Ioan; LAVRIC, Vasile. **Microwave Extraction of active principles from medicinal plants**. Upb Scientific Bulletin, Series B: Chemistry And Materials Science, Busharest, v. 2, n. 74, p.368-376, jan. 2012.
3. AMORIM, Priscilla Kobayashi; BATALHA, Marco Antônio. **Soil-vegetation relationships in hyperseasonal cerrado, seasonal cerrado, and wet grassland in Emas National Park (central Brazil)**. Acta Oecologica, São Carlos, São Paulo, v. 32, n. 3, p.319-327, nov. 2007. Elsevier BV.
4. ANTON-PAAR (Org.). **Sistema de Reação assistida por Micro-ondas: Multiwave PRO**. Disponível em: <<https://www.anton-paar.com/br-pt/produtos/detalhes/sistema-de-reacao-assistida-por-micro-ondas-multiwave-pro/>>. Acesso em: 29 abr. 2018.
5. AOYAMA, Sayuri Moreira. **Avaliação do processo extrativo de ipê-roxo (*Handronathus impetiginosus*) e citotoxicidade em células de cancer de mama 2017**. 40 f. TCC (Graduação) - Curso de Farmácia, Coordenação do Curso de Farmácia, Universidade de Brasília, Brasília, 2017.
6. ARAÚJO, Evani L.; ALENCAR, João Rui B.; ROLIM NETO, Pedro J. **Lapachol: segurança e eficácia na terapêutica**. Revista Brasileira de Farmacognosia, v. 12, p. 57-59, 2002.
7. BORBA FILHO, Aluisio Brigido; PEREZ, Sonia Cristina Juliano Guatierri de Andrede. **ARMAZENAMENTO DE SEMENTES DE IPÊ-BRANCO E IPÊ-ROXO EM DIFERENTES EMBALAGENS E AMBIENTES**. Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, v. 31, n. 1, p.1-11, nov. 2007.
8. BORIOLLO, M. F. G. et al. **Reduction of doxorubicin-induced genotoxicity by *Handroanthus impetiginosus* in mouse bone marrow revealed by micronucleus assay**. Brazilian Journal Of Biology, Alfenas, Minas Gerais, v. 78, n. 1, p.1-12, 10 jul. 2017. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/1519-6984.18515>.
9. BRASIL. **Farmacopéia Brasileira 5ª**. Edição. ANVISA. Brasília. 2010.

10. CABRAL, Daniela Lyra de Vasconcelos. **Potencial antimicrobiano de plantas da caatinga utilizadas na medicina tradicional como antiinflamatórias.** 2014. 79 f. TCC (Graduação) - Curso de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2014.
11. COELHO, Julice Medeiros. **O efeito da sulfadiazina de prata, extrato de ipê roxo e extrato de barbatimão na cicatrização de feridas cutâneas, em ratos.** 2009. 85 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Farmácia, Universidade Federal do Mato Grosso do Sul, Campo Grande, 2009.
12. COMPARINI, Anaisa et al. **Metodologia de Superfície de Resposta: Uma Introdução nos softwares R e Statistica.** Icmc. Universidade de São Paulo, São Paulo, v. 2, n. 1, p.1-14, nov. 2012.
13. COSTA, Debora dos Santos Venancio. **Desenvolvimento e validação de um método para extração de lipídeos de peixes assistida por microondas.** 2014. 71 f. Monografia (Especialização) - Curso de Engenharia de Alimentos, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2013.
14. CRAGG, Gordon M.; NEWMAN, David J.; SNADER, Kenneth M. **Natural products in drug discovery and development.** Journal of natural products, v. 60, n. 1, p. 52-60, 1997.
15. CUNICO, M. W. M. et al. **PLANEJAMENTO FATORIAL: UMA FERRAMENTA ESTATÍSTICA VALIOSA PARA A DEFINIÇÃO DE PARÂMETROS EXPERIMENTAIS EMPREGADOS NA PESQUISA CIENTÍFICA.** Visão Acadêmica, Curitiba, Paraná, v. 9, n. 1, p.1-10, 30 jun. 2008. Universidade Federal do Paraná.
16. DELAZAR A, NAHAR L, HAMEDEYAZDAN S, SARKER SD. **Microwave-assisted extraction in natural products isolation.** Methods Mol Biol. 2012, 864:89-115.
17. EFRAIM, Priscila et al. **Influência da fermentação e secagem de amêndoas de cacau no teor de compostos fenólicos e na aceitação sensorial.** Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas, v. 1, n. 1, p.142-150, maio 2010.
18. FONSECA, E.; CRUZ, C. A. **Efeito de diferentes níveis de saturação por bases no desenvolvimento e qualidade de mudas de ipê-roxo (Tebeuia impetiginosa (Mart.) Standley).** Scientia Forestalis, Piracicaba, v. 2, n. 66, p. 100-107, 2004.

19. JACQUES, Rosângela Assis. **Caracterização química da erva-mate (*Ilex paraguariensis*): aplicação de diferentes processos de extração e influência das condições de plantio sobre a composição química**. 2005. 158 f. Tese (Doutorado) - Curso de Química, Instituto de Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2005.
20. KISEN, Carla Yuri; MACHADO, Ana Marta Ribeiro; RUOTOLO, Luís Augusto Martins. **Avaliação do desempenho de um fotoreator para o estudo da degradação de resíduos contendo formol pelo processo fotofeton**. V Congresso Brasileiro de Gestão Ambiental, São Carlos, v. 5, n. 8, p.1-12, nov. 2014.
21. KLINK, Carlos A.; MACHADO, Ricardo B.. **A conservação do Cerrado Brasileiro**. Empraba, Brasília, v. 1, n. 1, p.147-155, jul. 2005.
22. LACERDA, Maria Juliana Ribeiro; FREITAS, Karina Rocha; SILVA, José Waldemar da. **Determinação da matéria seca de forrageiras pelos métodos de microondas e convencional**. Biosci J, Uberlândia, v. 3, n. 25, p.185-190, jun. 2009.
23. LIMA, Karla Virginia Leite. **Extração por micro-ondas: Uma alternativa para a extração de Fitoquímicos**. 2015. 40 f. TCC (Graduação) - Curso de Química, Coordenação do Curso de Química, Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 2015.
24. LUÇARDO, Milena; OLIVEIRA, Charles Martins de; FRIZZAS, Marina Regina. ***Scarabaeoidea* (Insecta: Coleoptera) no Cerrado brasileiro: estado atual do conhecimento**. Ciência Rural, Brasília, v. 44, n. 4, p.652-658, abr. 2014.
25. MACHADO, Ricardo B. **Estimativa de perda da área do Cerrado brasileiro**. 2016.
26. MAMEDES, Talita Cristina. **ESTABELECIMENTO IN VITRO DE *Handroanthus impetiginosus* (Mart. ex Dc.) Mattos (BIGNONIACEAE) E ESTUDO DA INCIDÊNCIA DE OÍDIO (*Oidium* sp.) EM PLÂNTULAS OBTIDAS IN VITRO**. 2013. 88 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Agronomia, Escola de Agronomia, Universidade de Goiás, Goiânia, Goiás, 2013.
27. MARTINS, Leila; LAGO, Antônio Augusto do; CICERO, Silvio Moure. **Conservação de sementes de ipê-roxo**. Rev. Bras. Eng. Agríc. Ambient, São Paulo, v. 16, n. 1, p.108-112, nov. 2012.

28. MEDEIROS, J. D. **Guia de campo: vegetação do Cerrado 500 espécies**. Brasília: MMA/SBF, 2011. 532 p.
29. MORAIS, Lais S. R. et al. Extração de agrotóxicos do Solo. Técnica de agitação mecânica versus Extração assistida por microondas. **Unicamp**. Campinas, p. 1-1. nov. 2004.
30. MORLOKA, Luiz Rodrigo Ito et al. FLOCULAÇÃO DE *Chlorella* sp. PRODUZIDA EM CONCENTRADO DE DESSALINIZAÇÃO E ESTUDO DE MÉTODO DE EXTRAÇÃO DE LIPÍDEOS INTRACELULARES. **Química Verde**, Florianópolis, v. 37, n. 1, p.44-49, set. 2013
31. QUEIROZ, Sonia C. N. **Métodos de extração de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos em amostra de solo, sedimento e lodo** / Sonia C. N. Queiroz, Vera Lúcia Ferracini, Débora R. Cassoli de Souza. – Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2009. 15 p. : il. — (Embrapa Meio Ambiente. Documentos; 79)
32. REZENDE, Helen Cristine de. **Desenvolvimento de métodos analíticos para a especiação de As(III) e As total e determinação de Cd, Cr e Pb em fertilizantes fosfatados utilizando espectrometria de absorção atômica e extração assistida por ultrassom**. 2014. 115 f. Monografia (Especialização) - Curso de Química, Instituto de Química, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2013.
33. Ribeiro, J. F. & Walter, B. M. T. As **Principais Fitofisionomias do Bioma Cerrado**. In: SANO, S. M.; ALMEIDA, S. P. de; RIBEIRO, J. F. (Ed.). Cerrado: ecologia e flora v. 2. Brasília: EMBRAPA-CERRADOS, 2008. 876 p.
34. RIBEIRO, Leticia Gouveia. **Extração assistida por micro-ondas de óleo essencial de folhas de Eucalipto (*Eucalyptus Urophylla X Globulus*)**. 2018. 118 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Engenharia Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2018.
35. ROCKENBACH, Ismael Ivan et al. **Influência do solvente no conteúdo total de polifenóis, antocianinas e atividade antioxidante de extratos de bagaço de uva (*Vitis vinifera*) variedades Tannate Ancelota**. Ciência e Tecnologia de Alimentos, Florianópolis, v. 1, n. 1, p.238-244, dez. 2008.
36. RODRIGUES, Patrick Oening; GONÇALVES, Taisi Citadim; SILVA, Wellington Barros da. **Influência de Diferentes Sistemas de Solventes no Processo de Extração de *Calendula officinalis* L. (Asteraceae)**. Acta Farm. Bonaerense, Tubarão (sc), v. 1, n. 1, p.27-31, set. 2004.

37. ROSINI, F.; NASCENTES, C. C.; NÓBREGA, J. A. **Experimentos didáticos envolvendo radiação micro-ondas**. Química Nova, v. 27, n. 6, p. 1012-1015, 2004.
38. SILVA, Andre Monte Luchiari da et al. **Anatomia foliar com implicações taxonômicas em espécies de ipês**. Hoehnea, São José do Rio Preto, v. 36, n. 1, p.329-338, maio 2009.
39. SOUZA, Leiliane do Socorro Sodré de et al. **OTIMIZAÇÃO DOS PARÂMETROS OPERACIONAIS DA FERMENTAÇÃO ALCÓOLICA DA MANDIOCA DOCE (Manihot esculenta Crantz)**. Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais, Campina Grande, v. 16, n. 2, p.1-8, nov. 2014.
40. TIWARI, Prashant et al. **Phytochemical screening and extraction: a review**. Internationale pharmaceutica sciencia, v. 1, n. 1, p. 98-106, 2011.
41. TSUKUI, Anna; REZENDE, Claudia M. **Microwave Assisted Extraction and Green Chemistry**. Revista Virtual de Química, [s.l.], v. 6, n. 6, p.1-6, nov. 2014. Sociedade Brasileira de Quimica (SBQ). <http://dx.doi.org/10.5935/1984-6835.20140111>.
42. UPADHYAY, R.; RAMALAKSHMI, K.; RAO, L. J. M. **Microwave-assisted Extraction of Chlorogenic Acids from Green Coffee Beans**. Food Chemistry 2012, 130, 184.
43. V. DRAGOVIJ-UZELAC et al.: **Microwave-Assisted Extraction of Sage Polyphenols**, Food Technol. Biotechnol. 50 (3) 377–383 (2012).
44. VIANA, Alexandre Espíndola. **Análise da qualidade fisiológica de sementes de Handroanthus impetiginosus (Mart. Ex. Dc) Mattos**. 2017. ix, 38f., II. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Engenharia Florestal) ---Universidade de Brasília, Brasília, 2017.
45. VIEIRA, V. B. et al. **Extra o assistida por ultrassom e determina o do teor de fenólicos totais da própolis**. Xxv Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos. Gramado (rs), p. 1-5. out. 2016.
46. VIEIRA, Vanessa Bordin. **Obten o do extrato de própolis assistida por microondas, aplica o em linguiça toscana e avalia o da sua capacidade antioxidante**. 2012. 78 f. Monografia (Especializa o) - Curso de Tecnologia de Alimentos, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, Rs, 2012.