

EXTRACCIÓN ASISTIDA POR ULTRASONIDO PARA LA OBTENCIÓN DE FLAVONOIDES: EL PUNTO DE VISTA TECNO-ECONÓMICO

Ivo Heyerdahl-Viau^{1*}

Departamento de Sistemas Biológicos, Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Xochimilco, Calz. del Hueso 1100, Coapa, Villa Quietud, Coyoacán, 04960 Ciudad de México, CDMX
Correo electrónico del autor por correspondencia: ivoheyerdahl@gmail.com

RESUMEN

Los flavonoides son fitoquímicos con gran potencial farmacoterapéutico, por lo que es necesario estudiar los métodos de extracción para su obtención. La extracción asistida por ultrasonido es uno de los métodos más rápidos y eficientes para la obtención de flavonoides, y varios análisis tecno-económicos sugieren que también es un método más rentable comparado con otros, sobre todo en procesos continuos. Dentro de las variables a tomar en cuenta para optimizar la rentabilidad de los proyectos se encuentra la escala, la obtención de la materia prima, el tiempo de sonicación y el costo de los equipos. Sin embargo, la mayoría de los estudios se enfocan sólo en flavonoides de tipo antocianina, por lo que aún hace falta más investigación.

Palabras clave: flavonoides, extracción asistida por ultrasonido, antocianinas, análisis tecno-económico, costo de manufactura

ABSTRACT

Flavonoids are phytochemicals with great pharmacotherapeutic potential, so it is necessary to study the extraction methods to obtain them. Ultrasound-assisted extraction is one of the fastest and most efficient methods for obtaining flavonoids, and several techno-economic analyzes suggest that it is also a more feasible method compared to others, especially in continuous process. Among the variables to consider to optimize the feasibility of the projects is the scale, the obtaining of the raw material, the sonication time and the cost of the equipment. However, most studies focus only on anthocyanin-type flavonoids, so more research is still needed.

Key words: flavonoids, ultrasound-assisted extraction, anthocyanins, techno-economic analysis, cost of manufacture

1. INTRODUCCIÓN

Los flavonoides son los metabolitos secundarios más abundantes producidos por los vegetales. Son compuestos fenólicos con una estructura que consiste en 15 carbonos en un arreglo de tres anillos C6-C3-C6, dos de ellos bencénicos (anillos A y B), conectados entre sí por un anillo pirano (anillo C) (Damián-Reyna et al. 2016) (Figura 1)

De acuerdo con sus diferencias estructurales, los flavonoides se dividen en grupos: en flavanos, flavanoles, flavonas, flavonoles, flavanonas, flavanonoles, isoflavonoides, chalconas, antocianinas y neoflavonoides (Nabavi et al. 2020; Panche et al. 2016) (Figura 2).

Estos compuestos pueden encontrarse en cualquier parte del vegetal, pero es frecuente encontrarlos en flores, hojas, semillas y frutos, entre otras partes de la planta (Shen et al. 2022). Asimismo, también se cuenta con abundante evidencia científica de que los flavonoides pueden ejercer

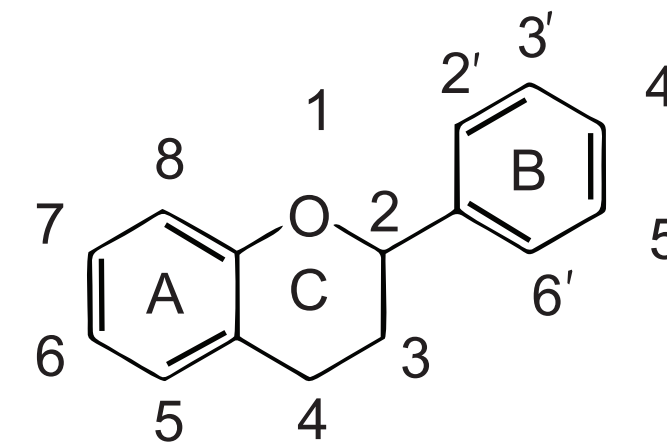
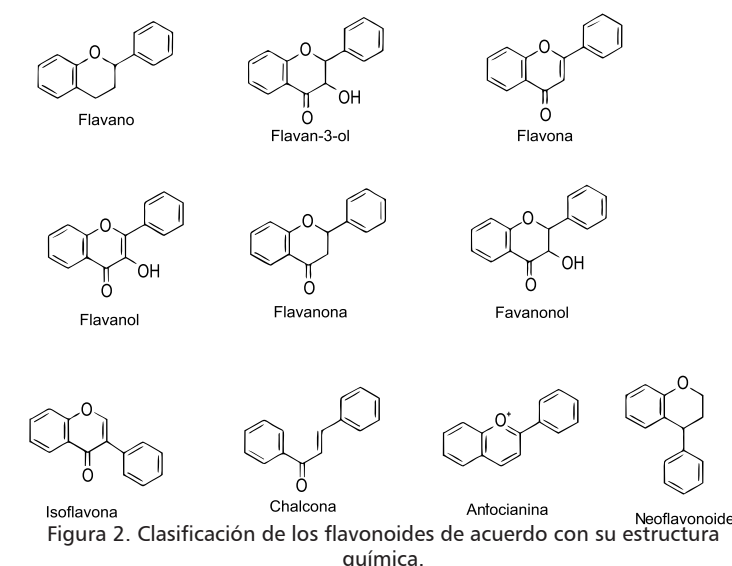


Figura 1. Estructura básica de los flavonoides.

efectos biológicos terapéuticos en humanos, incluyendo actividad cardioprotectora, antibacteriana, antifúngica, antiviral, antiinflamatoria, anticancerígena, antidiabética, neuroprotectora, entre otras, por lo que se trata de compuestos con gran potencial farmacéutico y de gran interés para la comunidad científica (Ullah et al. 2020).



El primer paso de para estudiar estos compuestos es su extracción a partir de la fuente vegetal. Para ello, se cuenta con métodos clásicos de extracción, como extracciones simples asistidas por agitación o calentamiento y soxhlet, las cuales se caracterizan por el empleo de grandes cantidades de disolventes, largos tiempos de extracción, obtención de bajos rendimientos, baja selectividad, degradación térmica de los compuestos y desventajas ambientales y económicas (Chaves et al. 2020).

Por eso, se han desarrollado métodos modernos de extracción, los cuales reducen las desventajas previamente mencionadas. Estos métodos incluyen la extracción asistida por microondas (AEM), que se basa en el uso de esta radiación para la obtención de fitoquímicos (Chaves et al. 2020), la extracción asistida por líquido presurizado

(EALP), que se basa en el empleo de altas presiones y temperaturas para mantener al disolvente de extracción en estado líquido por arriba de su punto de ebullición para aumentar la penetración a la matriz vegetal y la solubilización de los fitoquímicos (Andreu y Picó, 2019), o la extracción asistida por ultrasonido (EAU), la cual es de las técnicas más empleadas para la obtención de flavonoides debido a que es muy eficiente, rápida, reproducible, simple, ecológica y genera un rápido retorno de inversión (Chaves et al. 2020). Estas características son importantes debido a que el proceso de descubrimiento y desarrollo de un nuevo medicamento puede tomar hasta una década y un costo promedio de US\$2.8 billones (Paul et al. 2021), por lo que los investigadores deben optimizar los procesos de búsqueda y obtención de moléculas de manera que se reduzcan al máximo los costos de manufactura (CM).

En el presente artículo, se describen algunos estudios publicados en los últimos cuatro años en idioma inglés sobre los análisis tecno-económicos (ATEs) y la rentabilidad de la EAU para la extracción de flavonoides.

2. CM, PRECIOS DE VENTA Y ATEs

En términos de valor monetario, el CM es la cantidad de dinero que el productor paga para manufacturar sus productos. Posteriormente, el productor debe establecer el precio de venta de sus productos de manera tal que exista un margen de beneficio, es decir, que la manufactura del producto sea rentable y que el productor obtenga ganancias monetarias a partir de su venta (Mankiw, 2012).

Por otro lado, a lo largo de los años, se han vivido diferentes revoluciones industriales, comenzando por la primera en 1784 con la aparición de las primeras máquinas que empleaban vapor como fuente de poder. A partir de la década del 2010, se empezó a vivir la cuarta revolución industrial, también llamada "Indusrtly 4.0" (IR 4.0), la cual se basa en el uso de internet y computadoras para digitalizar y automatizar procesos de manufactura (Sreedharan.V y Unnikrishnan, 2017), así como el empleo de inteligencia artificial y análisis de datos para una rápida y eficiente toma de decisiones y mejor monitoreo y control de procesos de manera tal que puede aumentar la productividad de los manufactures y la rentabilidad de sus procesos y productos (Saleh et al. 2022).

Como parte de este enfoque de "Smart Industries" de la IR 4.0, surgen los ATEs, que buscan optimizar los procesos de producción y los parámetros económicos simultáneamente. Para ello, mediante softwares profesionales, se lleva a cabo una simulación computacional del proceso previamente conceptualizado y con ello, una serie de análisis holísticos completados consecutivamente: 1) diseño del proceso, 2) modelado del proceso, 3) dimensionamiento de equipos, 4) costo de capital (incluyendo costos del equipo y materiales establecidos en los pasos previos), 5) costos de operación

(incluyendo costos de obtención y procesamiento de materias primas, de labor de operación y de tratamiento de residuos, entre otros) y 6) análisis de flujo de dinero. Con ello, se hace un balance económico con el que el productor puede predecir variables importantes de su proceso como el CM, el tiempo de retribución, los precios de compra de insumos y los precios de venta que debe establecer para que el proceso y el producto se rentable. La realización de estos análisis se ha vuelto más relevante hoy en día debido a la gran competencia comercial entre empresas de diferentes industrias y a la posibilidad de un mejor aprovechamiento de los recursos con los que cuentan los investigadores (Chai et al. 2022).

Por ello, hoy en día los químicos y biotecnólogos frecuentemente se apoyan del software SuperPro Designer®. Es un programa que se desarrolló específicamente llevar a cabo ATEs de bioprocesos y es capaz de realizar la simulación computacional con diferentes tipos y marcas de equipos, a diferentes dimensiones y en procesos continuos o por lotes para predecir y ajustar las condiciones óptimas del proceso, los rendimientos obtenidos con esas condiciones y los costos que conlleva. Asimismo, también puede predecir el balance de energía y materiales y la caracterización del flujo de desechos. Además, este software es fácil de usar para investigadores no expertos, por lo que es una buena herramienta para iniciarlos y orientarlos en todo lo referente a los aspectos económicos de sus experimentos (Canizales et al. 2020).

3. FUNDAMENTO DE LA EAU Y SU APLICACIÓN PARA LA EXTRACCIÓN DE FLAVONOIDES

La EAU se basa en el hecho de que el ultrasonido genera cavitación (Vinatoru et al. 2017), es decir, la generación, crecimiento y colapso de millones de burbujas del líquido del medio de extracción (Roohinejad et al. 2016); el ultrasonido se propaga a través de ondas sucesivas de compresión y rarefacción, y cuando se encuentra en interfaces líquido-sólido como lo son los medios de extracción fitoquímica, se generan las burbujas de cavitación durante la rarefacción, las cuales crecen progresivamente durante ciclos sucesivos debido a que ingresan a ellas pequeñas cantidades de gas o vapor del medio. Parte de este gas es expulsado durante la fase de compresión hasta que, después de algunos ciclos, las burbujas alcanzan un tamaño inestable y colapsan violentamente, generando un chorro de disolvente que se dispara a alta velocidad y que impacta con el vegetal (Vinatoru et al. 2017) (Figura 3), generándole daños como erosión, fragmentación y sonoporación (aumento de la permeabilidad de la membrana celular), entre otros (Chemat et al. 2017), dando lugar a la extracción de fitoquímicos, como los flavonoides.

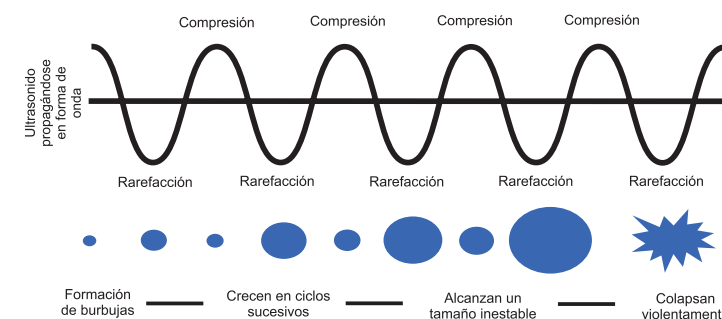


Figura 3. Generación de burbujas de cavitación por ultrasonido.

La EAU presenta varias ventajas. Por ejemplo, se reduce el tiempo de extracción, el volumen de disolventes y las temperaturas utilizadas y es útil para la obtención de compuestos termolábiles (Zhang et al. 2018). Además, la EAU se puede combinar con otros métodos de extracción convencionales, dando lugar a técnicas como el sono-soxhlet o incluso con otros métodos modernos de extracción, dando lugar a técnicas como la extracción asistida por ultrasonido-microondas (EAUM) o extracción asistida por ultrasonido y líquidos presurizados (EAULP). Asimismo, hoy en día ya se cuenta con equipos de EAU de escala industrial (Chemat et al. 2017), por lo que puede ser aprovechado por las grandes empresas si se estandarizan las condiciones de trabajo

Anteriormente ya se ha demostrado que la EAU es un buen método de extracción de flavonoides y es posible obtener mejores rendimientos comparados con métodos clásicos o incluso métodos modernos como AEM. (Lin et al. 2021). Por eso, también es importante estudiar la rentabilidad de este método de extracción para la obtención de flavonoides.

4. ATEs DE LA EXTRACCIÓN DE FLAVONOIDES MEDIANTE EAU

Hoy en día se cuenta con varios estudios que sugieren que la EAU es un método más rentable para la obtención de flavonoides a comparación de otros métodos de extracción. Por ejemplo, en un estudio, se determinó el contenido total de fenoles (CTF) obtenido a partir de *Adenaria floribunda* mediante EAU, soxhlet y extracción con agua caliente (EAC), encontrando que a pesar de que la extracción con soxhlet obtuvo mayores rendimientos de CTF, también fue 36 veces más lento y requirió mayor consumo de energía que las otras dos extracciones, lo cual condujo a que, de acuerdo con un ATE llevado a cabo con SuperPro Designer®, también generara mayor CM (US\$5.8 por frasco-l de 100 mL de extracto) comparado con EAC (US\$3.92 por frasco-l) y EAU (US\$3.86 por frasco-l), y sólo es rentable si el extracto obtenido se vende a US\$7 por frasco-l, mientras que los procesos de EAU y EAC son igualmente rentables si el producto se vende a US\$4 por frasco-l, pero la EAU permite mayores rendimientos de extracción en menor tiempo, lo que lo hace un método más eficiente. Sin embargo, aunque se encontró el flavonoide

catqueina en estos extractos, este estudio se enfocó en el CTF en general y no únicamente en flavonoides (Valdés-Duque et al. 2022). A pesar de ello, es un buen indicativo de la rentabilidad de la EAU para la obtención de este tipo de compuestos frente a otros métodos de extracción.

En otro estudio, se empleó el software SuperPro Designer® para estudiar las variables y condiciones con las que se puede optimizar la rentabilidad de la EAU en un extractor semicontinuo para la obtención de fenoles a partir de infrutescencia de iraca (*Carludovica palmata*). Como resultado, se encontró que el CM disminuyó de US\$456.04 Kg-l a US\$93.43 Kg-l cuando la capacidad del extractor aumentó de 5 L a 500 L, por lo que el escalado es factible. Asimismo, el CM estimado más bajo fue de US\$56.09 Kg-l cuando el precio de venta del producto obtenido es de e US\$100 Kg-l y el costo de los equipos es de US\$1.73 x 106. Nuevamente, aunque en la práctica se encontró el flavonoide apigenina, el estudio se enfocó en fenoles en general (Galviz-Quezada et al. 2019). Sin embargo, tal como se observa en otros estudios descritos a continuación, su aporte en el enfoque de los costos del escalado de estos procesos es valioso.

Por otro lado, los estudios sobre la rentabilidad de la extracción de antocianinas mediante EAU son los más frecuentes para flavonoides. El interés en la comunidad científica sobre este grupo específico de flavonoides recae en sus diversas actividades biológicas (antioxidante, antiinflamatoria, anticancerígena, antimicrobiana, etc.), su baja toxicidad y su buena hidrosolubilidad (Tan et al. 2022).

Por ejemplo, en un estudio se evaluó obtención de extractos ricos en antocianinas a partir de ñame morado (*Dioscorea alata*) mediante EAU, extracción asistida por disolventes a baja presión (LPSE) y soxhlet, encontrando que, en condiciones óptimas, la EAU no sólo obtuvo mejores rendimientos de extracción en menor tiempo, sino que el CM, evaluado mediante un ATE llevado a cabo con SuperPro Designer®, fue menor (US\$124.08 Kg-l) comparado con el de LPSE (US\$263.65 Kg-l) y soxhlet (US\$765.13 Kg-l). Este CM se obtuvo en un proceso semicontinuo empleando un extractor de 500 L, mientras que un reactor de 5 L genera un CM mucho mayor (US\$950.52 Kg-l); en el caso del reactor de 500 L el proceso rentable si el precio de venta del extracto obtenido es mayor a US\$170 Kg-l mientras que para proyectos de laboratorio a baja escala (5 L) es importante considerar que el proceso sólo es rentable si el precio de venta del producto es mayor (>US\$250 Kg-l), por lo que el tiempo de retribución también es mayor (Ochoa et al. 2020). Asimismo, cabe hacer notar que el CM en este estudio es 24% mayor que el estudio realizado por Galviz-Quezada et al. (2019) anteriormente descrito, lo cual puede explicarse con que dicho artículo consideró nulo el costo del material crudo debido a que la infrutescencia de iraca es un subproducto de los cultivos de ese vegetal y, por

lo tanto, el CM también fue menor al del estudio de Ochoa et al. (2020), lo cual demuestra que gran parte del costo del proceso depende de las materias primas y su obtención, y no sólo del método montado en el laboratorio.

Por ello, en otro estudio posterior realizado por los mismos autores, se llevó a cabo un ATE con el mismo software para la obtención del mismo extracto a partir de la misma materia prima, pero esta vez tomando en cuenta variables como los costos de compra del material crudo, su lavado y procesamiento, la recuperación del producto obtenido y el lavado posterior a la extracción. Asimismo, en esta ocasión simulamos el proceso en una planta con una capacidad de 600 Kg h⁻¹ en un proceso continuo. Como resultado, se observó que, a pesar de que las nuevas variables sí influyeron en el CM, si se considera un precio de compra de fñame morado de US\$0.8 Kg⁻¹, este nuevo método con proceso continuo redujo mucho el CM (US\$15.49 Kg⁻¹) en comparación con el del estudio previo debido a que los procesos continuos reducen el tiempo de producción, mejoran la utilización del equipo y mejora la consistencia de la calidad del producto. Este proceso resulta rentable cuando el extracto rico en antocianinas obtenido se vende a US\$22 Kg⁻¹ (Ochoa et al. 2021).

Por otro lado, en otro estudio se llevó a cabo un ATE comparativo entre EAU y extracción asistida por calentamiento para la obtención de un polvo crudo de antocianinas a partir de cáliz de *Hibiscus sabdariffa* con extractores de 600 L. No es de sorprender que la EAU obtuvo un menor CM (US\$164.28/Kg) comparado con el método clásico (US\$176.31/Kg) con una certidumbre de 80.08%, pero, lo que es más, se realizó un análisis de sensibilidad, es decir, un análisis de cómo se ve afectado el CM en función a los cambios que pueden sufrir las diferentes variables del proceso; como resultado, se encontró que el tiempo de tratamiento ultrasónico tuvo la mayor contribución positiva (aumento del COM), con un +61.2%, seguido de la obtención de otros compuestos distintos a antocianinas (+21.1%), el costo del extractor (17%), el precio de la planta (+0.5) y la recuperación de antocianinas (+0.2%) (Adeyi et al. 2021). Este es un trabajo muy valioso ya que señala cuáles son las variables que más pueden afectar la rentabilidad del proceso, lo cual puede orientar al resto de investigadores.

Por último, cabe mencionar que en un estudio se empleó la EAULP para obtener fenoles a partir de la fruta de la pasión, encontrando flavonoides C-glicosilados como isoorientina, vicenina, isovitexina, vitexina y orientina. Aunque se obtuvieron mejores rendimientos con esta técnica que con la EALP sola, la mejoría no fue estadísticamente significativa. Posteriormente, al llevar a cabo el ATE con el software SuperPro Designer®, se encontró que con las condiciones empleadas en la práctica (extractor con capacidad para 300 mL), el CM fue de US\$245.46/g (Pereira et al. 2021), lo cual es mucho más costoso que los métodos previamente

descritos, lo cual puede deberse a la combinación de métodos de extracción y, nuevamente, a que se evaluó el enfoque de un proyecto a baja escala. Sin embargo, dado que es fácil de adaptar la EAU a otros métodos de extracción, este estudio es importante y deberán hacerse más análisis con este enfoque para evaluar otras combinaciones de métodos de extracción y a diferentes escalas para comparar tanto los rendimientos de extracción como los CMs.

5. CONCLUSIÓN Y PERSPECTIVAS

Mediante el empleo de EAU se obtienen buenos rendimientos de extracción de flavonoides, y, en muchas ocasiones, superiores comparados con los obtenidos mediante otras técnicas. Asimismo, si se optimizan las condiciones, puede resultar ser un método más rentable y rápido en comparación a otros, por lo que en general, se trata de una técnica muy eficiente y una buena opción para la obtención de flavonoides para su posterior estudio, sobre todo en extractores que llevan a cabo procesos continuos. Sin embargo, hay que considerar que, de acuerdo con algunos estudios, este método puede resultar más costoso si se aplica a baja escala, lo cual puede dificultar los primeros pasos de la investigación, por ejemplo, a nivel universitario. Además, la obtención de la materia prima y su procesamiento también influyen significativamente en los CMs del proceso, por lo que deben estudiarse cuidadosamente al montar el método. Por último, también es necesario resaltar que algunos estudios están enfocados en el ATE de la EAU para fenoles en general, y los trabajos que abordan exclusivamente flavonoides suelen enfocarse sólo en antocianinas, por lo que, en general, esta línea de investigación aún es incipiente y hacen falta más análisis sobre los costos y rentabilidad de la obtención de flavonoides mediante EAU.

6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adeyi O, Adeyi AJ, Oke EO, Okolo BI, Olalere AO, Otolorin JA, Taiwo AE (2021) Techno-economic and uncertainty analyses of heat- and ultrasound-assisted extraction technologies for the production of crude anthocyanins powder from *Hibiscus sabdariffa* calyx. *Cogent Engineering* 8(1):1947015.
- Andreu V, Picó Y (2019) Pressurized liquid extraction of organic contaminants in environmental and food samples. *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 118:709–721.
- Canizales L, Rojas F, Pizarro CA, Caicedo-Ortega NH, Villegas-Torres MF (2020) SuperPro Designer®, User-Oriented Software Used for Analyzing the Techno-Economic Feasibility of Electrical Energy Generation from Sugarcane Vinasse in Colombia. *Processes* 8(9):1180.
- Chai SYW, Phang FJF, Yeo LS, Ngu LH, How BS (2022) Future era of techno-economic analysis: Insights from review. *Frontiers in Sustainability* 3:70.

Adeyi O, Adeyi AJ, Oke EO, Okolo BI, Olalere AO, Otolorin JA, Taiwo AE (2021) Techno-economic and uncertainty analyses of heat- and ultrasound-assisted extraction technologies for the production of crude anthocyanins powder from *Hibiscus sabdariffa* calyx. *Cogent Engineering* 8(1):1947015.

Andreu V, Picó Y (2019) Pressurized liquid extraction of organic contaminants in environmental and food samples. *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 118:709–721.

Canizales L, Rojas F, Pizarro CA, Caicedo-Ortega NH, Villegas-Torres MF (2020) SuperPro Designer®, User-Oriented Software Used for Analyzing the Techno-Economic Feasibility of Electrical Energy Generation from Sugarcane Vinasse in Colombia. *Processes* 8(9):1180.

Chai SYW, Phang FJF, Yeo LS, Ngu LH, How BS (2022) Future era of techno-economic analysis: Insights from review. *Frontiers in Sustainability* 3:70.

Chaves JO, de Souza MC, da Silva LC, Lachos-Perez D, Torres-Mayanga PC, Machado APDF, Forster-Carneiro T, Vázquez-Espinosa M, González-de-Peredo AV, Barbero GF, Rostagno MA (2020) Extraction of Flavonoids From Natural Sources Using Modern Techniques. *Frontiers in Chemistry* 8:864.

Chemat F, Rombaut N, Sicaire AG, Meullemiestre A, Fabiano-Tixier AS, Abert-Vian M (2017) Ultrasound assisted extraction of food and natural products. Mechanisms, techniques, combinations, protocols and applications. A review. *Ultrasonics Sonochemistry* 34:540–560.

Damián-Reyna AA, González-Hernández JC, Chávez-Parga MDC (2016) Current procedures for extraction and purification of citrus flavonoides. *Revista Colombiana de Biotecnología* 18(1):135–147.

Galviz-Quezada A, Ochoa-Aristizábal AM, Arias-Zabala ME, Ochoa S, Osorio-Tobón JF (2019) Valorization of iraca (*Carludovica palmata*, Ruiz & Pav.) infructescence by ultrasound-assisted extraction: An economic evaluation. *Food and Bioproducts Processing* 118:91–102.

Lin X, Wu L, Wang X, Yao L, Wang L (2021) Ultrasonic-assisted extraction for flavonoid compounds content and antioxidant activities of India *Moringa oleifera* L. leaves: Simultaneous optimization, HPLC characterization and comparison with other methods. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants* 20:100284.

Mankiw GN (2012) Principios de Economía (6ta edición). CENAGE Learning. México, D.F. 260 pp.

Nabavi SM, Šamec D, Tomczyk M, Milella L, Russo D, Habtemariam S, Sutar I, Rastrelli L, Daglia M, Xiao J, Giampieri F, Battino M, Sobarzo-Sanchez E, Nabavi SF, Yousefi B, Jeandet P, Xu S, Shiroye S (2020) Flavonoid biosynthetic pathways in plants: Versatile targets for metabolic engineering. *Biotechnology Advances* 38:107316.

Ochoa S, Durango-Zuleta MM, Osorio-Tobón JF (2020) Techno-economic evaluation of the extraction of anthocyanins from purple yam (*Dioscorea alata*) using ultrasound-assisted extraction and conventional extraction processes. *Food and*

Bioproducts Processing 122:111–123.

Ochoa S, Durango-Zuleta MM, Osorio-Tobón JF (2021) Integrated process for obtaining anthocyanins rich-extract by ultrasound-assisted extraction and starch recovery from purple yam (*Dioscorea alata*): a techno-economic evaluation. *Biomass Conversion and Biorefinery* 1–10.

Panche AN, Diwan AD, Chandra SR (2016) Flavonoids: an overview. *Journal of Nutritional Science* 5:e47.

Paul D, Sanap G, Shenoy S, Kalyane D, Kalia K, Tekade RK (2021) Artificial intelligence in drug discovery and development. *Drug Discovery Today* 26(1):80.

Pereira DTV, Zobot GL, Reyes FGR, Iglesias AH, Martínez J (2021) Integration of pressurized liquids and ultrasound in the extraction of bioactive compounds from passion fruit rinds: Impact on phenolic yield, extraction kinetics and technical-economic evaluation. *Innovative Food Science & Emerging Technologies* 67:102549.

Roohinejad S, Koubaa M, Barba FJ, Greiner R, Orlie V, Lebovka NI (2016) Negative pressure cavitation extraction: A novel method for extraction of food bioactive compounds from plant materials. *Trends in Food Science & Technology* 52:98–108.

Saleh N, Ijab MT, Hashim N (2022) A Review on Industrial Revolution 4.0 (IR4.0) Readiness Among Industry Players. In *International Conference on Computer, Information Technology and Intelligent Computing (CITIC 2022)*. Edited by SC Haw and K Sonai Muthu. Atlantis Press. 216-231 pp.

Shen N, Wang T, Gan Q, Liu S, Wang L, Jin B (2022) Plant flavonoids: Classification, distribution, biosynthesis, and antioxidant activity. *Food Chemistry* 383:132531.

Sreedharan VR, Unnikrishnan A (2017) Moving Towards Industry 4.0: A Systematic Review. *International Journal of Pure and Applied Mathematics* 117(20):929–936.

Tan J, Han Y, Han B, Qi X, Cai X, Ge S, Xue H (2022) Extraction and purification of anthocyanins: A review. *Journal of Agriculture and Food Research* 8:100306.

Ullah A, Munir S, Badshah SL, Khan N, Ghani L, Poulson BG, Emwas AH, Jaremko M (2020) Important Flavonoids and Their Role as a Therapeutic Agent. *Molecules* 25(22):5243.

Lopeda-Correa M, Valdés-Duque M, Osorio-Tobón, JF. (2022). Ultrasound-Assisted Extraction of Phenolic Compounds from *Adenaria floribunda* Stem: Economic Assessment. *Foods* 11(18):2904.

Vinatoru M, Mason TJ, Calinescu I (2017) Ultrasonically assisted extraction (UAE) and microwave assisted extraction (MAE) of functional compounds from plant materials. *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 97:159–178.

Zhang QW, Lin LG, Ye WC (2018) Techniques for extraction and isolation of natural products: A comprehensive review. *Chinese Medicine* 13(1):1–26.