



JHENIFER CRISTINA CARVALHO SANTOS

**EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS
BIOATIVOS DA CASCA E POLPA DE ROMÃ (*Punica
granatum*) COM SOLVENTES E MISTURAS**

**LAVRAS-MG
2022**

JHENIFER CRISTINA CARVALHO SANTOS

**EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS DA CASCA E POLPA DE ROMÃ
(*Punica granatum*) COM SOLVENTES E MISTURAS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos, para a obtenção do título de Mestre.

Profª. Dra. Fabiana Queiroz
Orientadora

**LAVRAS-MG
2022**

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

Santos, Jhenifer Cristina Carvalho.

Extração de compostos bioativos da casca e polpa de romã
(*Punica granatum*) com solventes e misturas / Jhenifer Cristina
Carvalho Santos. - 2022.

72 p. : il.

Orientador(a): Fabiana Queiroz.

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de
Lavras, 2022.

Bibliografia.

1. Extração sólido-líquido. 2. Misturas de solventes. 3.
Subproduto. I. Queiroz, Fabiana. II. Título.

JHENIFER CRISTINA CARVALHO SANTOS

**EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS DA CASCA E POLPA DE ROMÃ
(*Punica granatum*) COM SOLVENTES E MISTURAS**

**EXTRACTION OF BIOACTIVE COMPOUNDS FROM THE PEEL AND PULP OF
POMEGRANATE (*Punica granatum*) WITH SOLVENTS AND MIXTURES**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos, para a obtenção do título de Mestre.

APROVADA em 14 de fevereiro de 2022.
Dr. José Guilherme Lembi Ferreira Alves UFLA
Dr. Evandro Galvão Tavares Menezes UFV

Profa. Dra. Fabiana Queiroz
Orientadora

**LAVRAS-MG
2022**

AGRADECIMENTOS

Primeiramente gostaria de agradecer a Deus por me abençoar e me acompanhar em toda essa jornada. Gostaria de agradecer a Nossa Senhora Aparecida que sempre acalmou meu coração e me ajudou a superar os desafios com paciência, amor e fé.

À Universidade Federal de Lavras (UFLA) por proporcionar que muitas pessoas, além de mim, consigam adquirir conhecimento. À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES), ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), pelo apoio financeiro e pelo incentivo à pesquisa.

Aos meus pais, Sueli e José Domingos, e meu irmão Elton pelo apoio, carinho, amor e dedicação.

À Professora Dra. Fabiana Queiroz pela orientação, carinho e paciência durante todo o tempo em que trabalhamos juntas.

À minha amiga Joyce, por tudo que vivemos durante a pós-graduação, desafios, tristezas, angústias, mas também pelas alegrias e conquistas.

Às minhas companheiras de laboratório e amigas Maria e Tainah por toda a ajuda e companheirismo em todos os momentos.

E à banca avaliadora, professores José Guilherme e Evandro, por contribuírem para o aperfeiçoamento do trabalho desenvolvido.

RESUMO

A romã é uma fruta originária do Oriente Médio e Ásia que se adaptou muito bem ao Brasil, tendo um cultivo promissor. A romã apresenta características terapêuticas devido à presença de compostos bioativos, principalmente na casca e polpa, destacando compostos como os taninos e polifenóis e a pectina, um polissacarídeo com propriedades gelificantes amplamente utilizado na indústria. O estudo da casca e polpa de romã separadamente seria uma forma de analisar em qual parte se encontram em maior quantidade os compostos de interesse. O objetivo do presente trabalho foi estudar o efeito do uso da mistura de solventes etanol, água e acetona e da temperatura na extração de compostos bioativos da casca e polpa de romã e posterior quantificação de pectina do resíduo. A casca e a polpa foram analisadas quanto à composição centesimal, teores de minerais, pectina, acidez titulável, teor de taninos, fenólicos totais e atividade antioxidante por DPPH. Na primeira etapa foi realizada a extração sólido-líquido utilizando a matéria-prima seca e triturada num banho agitado com temperatura e tempo constantes. Nessa etapa foram avaliados os efeitos das misturas de solventes e temperatura de extração por delineamento composto central rotacional (DCCR) na composição do extrato, quanto ao teor de fenólicos, taninos, capacidade antioxidante por DPPH e acidez titulável. Na segunda etapa, foi realizada uma extração ácida com 3,5% de ácido cítrico para obtenção da pectina da casca e polpa de romã dos resíduos da primeira etapa, identificando a influência das condições utilizadas na extração prévia de compostos bioativos na primeira fase, no rendimento da pectina e no grau de esterificação. Ao analisar os resultados podemos observar que a matéria-prima seca apresenta concentração de compostos fenólicos na casca de romã de 112,41 mg de GAE/g de amostra e para a polpa 207,3741 mg de GAE/g de amostra, teor de taninos na casca de romã 42,22 mg de catequina/g de amostra e para a polpa 23,62 mg de catequina/g de amostra, e ao extrair pectina da casca e polpa de romã seca obtivemos 9,41% e 6,61%, respectivamente. Dentre os solventes puros, a água foi mais eficiente para a extração de compostos fenólicos, atividade antioxidante e obtenção de pectina do resíduo para ambas as amostras, casca e polpa de romã. As misturas de solventes foram melhores que os solventes puros para a extração de compostos fenólicos, taninos, atividade antioxidante e pectina do resíduo, sendo que os parâmetros ótimos encontrados para casca e polpa de romã em relação a etanol:acetona:temperatura foram 30,8%; 0%; 51°C e 20%; 33,6%; 57,3°C, respectivamente.

Palavras-chave: Extração sólido-líquido. Misturas de solventes. Subproduto. Otimização. Compostos fenólicos. Pectina.

ABSTRACT

The pomegranate is a fruit originally from the Middle East and Asia that has adapted very well to Brazil, having a promising cultivation. Pomegranate has therapeutic characteristics due to the presence of bioactive compounds, mainly in the skin and pulp, highlighting compounds such as tannins and polyphenols and pectin, a polysaccharide with gelling properties widely used in the industry. The study of pomegranate peel and pulp separately would be a way of analyzing in which part the compounds of interest are found in greater quantity. The objective of the present work was to study the effect of using a mixture of ethanol, water and acetone solvents and temperature in the extraction of bioactive compounds from the pomegranate peel and pulp and subsequent quantification of pectin in the residue. Peel and pulp were analyzed for proximate composition, mineral content, pectin, titratable acidity, tannin content, total phenolic content and antioxidant activity by DPPH. In the first step, solid-liquid extraction was carried out using the dry and ground raw material in a stirred bath with constant temperature and time. In this step, the effects of solvent mixtures and extraction temperature by central rotational composite design (DCCR) on the extract composition were evaluated, regarding the content of phenolics, tannins, antioxidant capacity by DPPH and titratable acidity. In the second stage, an acid extraction with 3.5% citric acid was carried out to obtain the pectin from the pomegranate peel and pulp from the residues of the first stage, identifying the influence of the conditions used in the previous extraction of bioactive compounds in the first stage, in the pectin yield and degree of esterification. When analyzing the results, we can see that the dry raw material has a concentration of phenolic compounds in the pomegranate peel of 112.41 mg of GAE/g of sample and for the pulp 207.3741 mg of GAE/g of sample, tannin content in the pomegranate peel 42.22 mg of catechin/g of sample and for the pulp 23.62 mg of catechin/g of sample, and when extracting pectin from the peel and dried pomegranate pulp we obtained 9.41% and 6.61%, respectively. Among the pure solvents, water was more efficient for the extraction of phenolic compounds, antioxidant activity and obtaining pectin from the residue for both samples, pomegranate peel and pulp. The solvent mixtures were better than the pure solvents for the extraction of phenolic compounds, tannins, antioxidant activity and pectin from the residue, and the optimal parameters found for pomegranate peel and pulp in relation to ethanol:acetone:temperature were 30.8 %; 0%; 51°C and 20%; 33.6%; 57.3°C, respectively.

Keywords: Solid-liquid extraction. Solvent mixtures. By-product. Optimization. Phenolic compounds. Pectin.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 - Romãs inteiras em três estágios de maturação (verde, intermediário e maduro) adquiridas da fazenda Sol Nascente, localizada na cidade de Janaúba, norte de Minas Gerais, durante o período de safra de novembro de 2020. 15
- Figura 2 - Romã madura aberta adquirida no mesmo lote da Figura 1. 15
- Figura 3 - Superfície de resposta para compostos fenólicos da casca de romã (A) e polpa de romã (B) em função da fração mássica da acetona e a fração mássica do etanol..... 47
- Figura 4 - Superfície de resposta para extração de tanino na casca de romã em função da fração mássica do etanol e fração mássica da acetona (A), da fração mássica da acetona e temperatura (B) e temperatura e fração mássica do etanol (C) e extração de taninos na polpa de romã em função da fração mássica do etanol e fração mássica da acetona (D). 49
- Figura 5 - Superfície de resposta para atividade antioxidante por DPPH (EC_{50}) para casca e polpa de romã em função da fração mássica da acetona e fração mássica do etanol, da fração mássica da acetona e temperatura e temperatura e fração mássica do etanol. 52
- Figura 6 - Superfície de resposta para e pectina da casca de romã em função da fração mássica do etanol e a fração mássica da acetona (A) e superfície de resposta para pectina da polpa de romã em função da fração mássica do etanol e a fração mássica da acetona (B). 54
- Figura 7 - Superfície de resposta para grau de esterificação da polpa de romã em função da fração mássica da acetona e temperatura. 56

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Metabólitos encontrados em <i>Punica granatum L.</i>	18
Tabela 2 - Variáveis independentes do DCCR para casca e polpa de romã.....	28
Tabela 3 - Composição centesimal da casca e polpa de romã, resultados expressos em base seca.	30
Tabela 4 - Concentração de minerais encontrados na casca e polpa de romã em base seca. ...	31
Tabela 5 - Compostos fenólicos totais (CF), taninos, capacidade antioxidante, acidez titulável (AT) da casca e polpa de romã, resultados expressos em base seca.	32
Tabela 6 - Pectina e grau de esterificação de casca e polpa de romã, resultados expressos em base seca.	33
Tabela 7 - Resultados das análises de compostos fenólicos (CF), taninos, atividade antioxidante (AA), acidez titulável (AT), pectina e grau de esterificação (GE) das extrações de casca de romã do planejamento do DCCR e uso de solventes puros.	35
Tabela 8 - Resultados das análises de compostos fenólicos (CF), taninos, atividade antioxidante (AA), acidez titulável (AT), pectina e grau de esterificação (GE) das extrações de polpa de romã do planejamento do DCCR e uso de solventes puros.	36
Tabela 9 - Estimativa do coeficiente de regressão (C.R.) e p-valor para compostos fenólicos (CF), taninos, atividade antioxidante (EC ₅₀), acidez titulável (AT) do extrato e pectina e grau de esterificação (GE) da pectina do resíduo de extração da casca de romã.	43
Tabela 10 - Estimativa do coeficiente de regressão (C.R.) e p-valor para compostos fenólicos (CF), taninos, atividade antioxidante (EC ₅₀), acidez titulável (AT) do extrato e pectina e grau de esterificação (GE) da pectina do resíduo de extração da polpa de romã.....	44
Tabela 11 - Modelo estatístico para resposta compostos fenólicos.....	46
Tabela 12 - Modelo estatístico para resposta taninos.	48
Tabela 13 - Modelo estatístico para resposta atividade antioxidante.	51
Tabela 14 - Modelo estatístico para resposta pectina.	54
Tabela 15 - Modelo estatístico para resposta grau de esterificação.	55

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	11
2	OBJETIVO	13
2.1	Objetivo geral	13
2.2	Objetivos específicos.....	13
3	REFERENCIAL TEÓRICO	14
3.1	Romã (<i>Punica granatum Lythraceae</i>).....	14
3.1.1	Compostos fenólicos	16
3.1.2	Pectina	18
3.2	Processo de extração	20
4	MATERIAL E MÉTODOS.....	23
4.1	Material	23
4.2	Preparo da matéria-prima.....	23
4.3	Caracterização da matéria-prima.....	23
4.3.1	Composição química	23
4.3.2	Pectina	24
4.3.3	Determinação do grau de esterificação	24
4.3.4	Minerais.....	25
4.3.5	Acidez titulável	25
4.3.6	Extrato para determinação de taninos, fenólicos totais e capacidade antioxidante.....	26
4.3.7	Teor de taninos totais	26
4.3.8	Análise de fenólicos totais	26
4.3.9	Atividade antioxidante total pelo método de DPPH.....	27
4.4	Planejamento experimental.....	27
4.5	Processo de extração de compostos bioativos	28
4.6	Análise da fase extrato	29
4.7	Análise da pectina no resíduo do extrato	29
5	RESULTADO E DISCUSSÃO.....	30
5.1	Análise da matéria-prima	30
5.2	Extrações da casca e polpa de romã	34
5.2.1	Solventes puros	37
5.2.2	Extrações do planejamento do DCCR.....	40

5.2.3	Análise estatística do DCCR do processo de extração	42
5.2.4	Compostos fenólicos	45
5.2.5	Taninos	47
5.2.6	Atividade antioxidante	49
5.2.7	Acidez titulável	53
5.2.8	Pectina	53
5.2.9	Grau de esterificação.....	54
5.2.10	Otimização	56
6	CONCLUSÃO	57
	REFERÊNCIAS	58
	APÊNDICE A - Tabelas de ANOVA para as variáveis respostas do DCCR ..	67

1 INTRODUÇÃO

A romã (*Punica granatum L.*) é uma fruta advinda da romãzeira que apresenta características funcionais descritas há milênios. Relatos de livros sagrados como a Bíblia e o Alcorão relatam sua utilização e efeito potencialmente terapêutico. O fruto da romã pode ser dividido em casca, polpa e sementes, sendo que cada parte pode apresentar compostos específicos e/ou em proporções diferentes, como por exemplo polifenóis, tanino, elagitanina, ácido elágico e gálico na casca e polpa. Esses compostos podem promover ação antioxidante, anti-inflamatória, bacteriana, antitumoral e diminuição de risco de doenças metabólicas (MASTROGIOVANNI *et al.*, 2019; TOPALOVIC *et al.*, 2020).

Atualmente, a parte mais utilizada da romã é o arilo para a fabricação de suco, chás, licores e vinagre. A casca e polpa são considerados resíduos, utilizados em sua maioria para a adubação ou alimentação animal. A utilização de uma matéria-prima que antes era considerada como resíduo, para a obtenção de compostos bioativos, pode ser uma revolução em termos de conscientização alimentar e reaproveitamento de um alimento. A casca de romã pode chegar a representar 10% e a polpa 50% do fruto, o que indica o potencial desses recursos para a extração de compostos de interesse (MASTROGIOVANNI *et al.*, 2020; MELGAREJO *et al.*, 2020).

Pesquisadores estudam a extração da casca e polpa de romã utilizando diversas técnicas e solventes, tais como maceração utilizando mistura de etanol e água para a extração de resíduos de romã, casca e polpa, e obtenção de extratos com ação antioxidante anti-inflamatória (MORZELLI, 2012). Martos *et al.* (2011) identificaram atividade antioxidante e presença significativa de compostos fenólicos, flavonoide e taninos ao realizarem extração com casca de romã utilizando metanol como solvente em banho ultrassônico, que favoreceu a extração. Negi, Jayaprakasha e Jena (2003), utilizando extrator soxhlet e acetona, metanol e etanol como solventes, separadamente, demonstraram que os extratos da casca de romã possuem propriedades antioxidantes e bactericidas, sendo que com o extrato aquoso obtiveram-se os maiores valores, seguido da acetona, etanol e metanol. Portanto, podemos notar que solventes como a água, etanol, metanol e acetona são solventes eficientes na extração de compostos bioativos da casca e polpa de romã.

Na literatura podemos observar a utilização do metanol, etanol, acetona e água como solventes de extração para a casca e polpa de romã por serem solventes com afinidade com os polifenóis de interesse (CHEN *et al.*, 2020; DIKMEN; OZTURK; OZTURK, 2011; NEGI; JAYAPRAKASHA; JENA, 2003; SAMSURI *et al.*, 2020). No entanto, o metanol é considerado um solvente de classe 2 com toxicidade inerente, sendo seu uso não adequado para

estabelecimento de processos usando solventes com menor impacto ambiental e toxicidade. O etanol e a acetona são solventes de classe 3 apresentando baixa toxicidade e risco a saúde, tendo afinidade com as substâncias de interesse (MORZELLI, 2012, NEYRINCK *et al.*, 2013).

A água, etanol e acetona são opções atóxicas e ecológicas. A água é considerada um solvente capaz de dissolver diversos compostos. Essa característica é uma consequência de sua polaridade, que permite que suas moléculas hidratem íons e outras moléculas polares. O etanol (álcool etílico) também é um solvente muito versátil, sendo miscível em água e muitos compostos orgânicos, incluindo ácido acético, acetona, benzeno, tetracloreto de carbono e clorofórmio, por isso muitas vezes é considerado bipolar. A acetona (propanona) é um solvente com característica estrutural mais apolar. Na extração com água ou álcool etílico obtém-se os compostos fenólicos da fração mais hidrofílica da casca e polpa, enquanto a extração usando acetona obtém-se os compostos fenólicos da fração lipofílica da casca e polpa. A utilização de um solvente como o etanol em uma mistura utilizando a acetona como cossolvente obtém-se uma maior extração de compostos com diferentes características (KOTOVICZ, 2014; VIEIRA, 2015).

Além de compostos fenólicos, a casca e polpa de romã podem ser utilizadas para a extração de pectina. Atualmente, a extração é realizada utilizando principalmente bagaço de maçã e casca de frutas cítricas, como a laranja e o limão, assim como a casca de maracujá (CONDEZO-HOYOS; PEREZ-LÓPEZ; RUPÉREZ, 2015; PEREIRA *et al.*, 2016). A identificação da extração da pectina, na etapa de extração dos compostos bioativos ou numa extração sequencial, é informação importante na definição dos processos para utilização de resíduo da romã de forma a obter compostos de alto valor agregado. Os trabalhos disponíveis na literatura promovem a extração conjunta da casca e polpa como um resíduo único. O presente trabalho estudou o potencial de cada uma das frações separadamente na extração dos compostos bioativos e da pectina.

2 OBJETIVO

2.1 Objetivo geral

Avaliar a extração de compostos bioativos e pectina da casca e polpa de romã (*Punica granatum L.*). Na extração de compostos bioativos foi avaliada a utilização dos solventes água, etanol e acetona e suas misturas e o efeito da temperatura, e o efeito desses tratamentos na determinação de pectina do resíduo.

2.2 Objetivos específicos

- Caracterização da matéria-prima, casca e polpa de romã, quanto a composição centesimal, micronutrientes, compostos fenólicos, taninos, atividade antioxidante, acidez titulável, pectina e grau de esterificação da pectina.
- Otimização da mistura de solvente, água, etanol e acetona, e temperatura na identificação da atividade antioxidante, teor de taninos e fenólicos do extrato.
- Determinar o efeito das condições de extração dos compostos bioativos no teor de pectina do resíduo e grau de esterificação.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 Romã (*Punica granatum Lythraceae*)

A romã é uma fruta pertencente à família *Lythraceae* e ao gênero *Punica*, e contém apenas duas espécies: *Punica granatum L.* e *Punica protopunica*, sendo que a última é encontrada apenas na Ilha de Socotra no Iêmem (GULLÓN *et al.*, 2016; WERKMAN *et al.*, 2008). A *Punica granatum L.* está presente em diversos países como Índia, Afeganistão, Irã, Estados Unidos, Israel, Itália, Espanha e Brasil. Mas o fruto também pode ser encontrado em mais de 100 países, em regiões áridas e semiáridas (JAFARI *et al.*, 2020; SUN *et al.*, 2019).

A romã teve seu cultivo domesticado no Irã por volta de 2000 a.C., levada para regiões próximas ao mar mediterrâneo pelos fenícios e assim se espalhou para o mundo por meio das grandes navegações. No Brasil chegou a partir dos colonizadores portugueses e se estabeleceu na região nordeste, adaptando-se bem ao clima semiárido. É principalmente encontrada em Belém, Fortaleza e João Pessoa, mas também cultivada na região sul, sudeste e centro-oeste (SOUSA *et al.*, 2018).

A romã brasileira cultivada em nosso território é a *Punica granatum L.*, proveniente da romãzeira, uma arbórea que pode atingir de 3 a 5 metros de altura. Sua colheita sazonal ocorre entre novembro e fevereiro, devido ao clima quente e chuvoso. Apresenta uma coloração um pouco mais clara que a americana e de outros países do Oriente Médio. Estruturalmente apresenta tamanhos variados, uma casca coriácea, cores flutuando entre o amarelo e rosa avermelhado, podendo apresentar manchas (FIGURA 1). Sua polpa é branca e densa e suas sementes são múltiplas e angulosas, cobertas de tegumento espesso e polposo, arilo (FIGURA 2) (TEHRANIFAR *et al.*, 2010; Wafa *et al.*, 2017).

Figura 1 - Romãs inteiras em três estágios de maturação (verde, intermediário e maduro) adquiridas da fazenda Sol Nascente, localizada na cidade de Janaúba, norte de Minas Gerais, durante o período de safra de novembro de 2020.



Fonte: Da autora (2020).

Figura 2 - Romã madura aberta adquirida no mesmo lote da Figura 1.



Fonte: Da autora (2020).

O arilo é a parte mais utilizada da romã atualmente por ser empregada na fabricação de sucos, licores, vinagre e chás, por apresentar uma textura macia adocicada. Pode conter elagitaninas, flavonoides e antocianinas. Como subprodutos da romã podemos obter as sementes, a polpa e a casca. As sementes se encontram sob o arilo e podem permanecer intactas mesmo após o processamento. Contém ácidos graxos e lipídeos com destaque para o ácido linolênico conjugado. A casca é fina e firme e encontra-se na parte mais externa do fruto, podendo conter taninos hidrossolúveis, polifenóis e ácidos fenólicos, assim como elagitaninas, flavonoides e antocianinas. A polpa encontra-se entre a casca e o arilo, podendo apresentar taninos, flavonoides e antocianinas (MARTINS *et al.*, 2020; MASTROGIOVANNI *et al.*, 2019).

O fruto da romã pode conter compostos referentes aos seus metabólitos primários e secundários, como taninos hidrolisáveis, polifenóis, flavonoides, antocianinas, ácidos graxos e lipídios. Cada parte do fruto pode apresentar um tipo de composto ou o mesmo composto em proporções diferentes. Esses compostos, em especial os taninos, apresentam atividades antioxidante e anti-inflamatória, auxilia no tratamento e diminuição de risco de doenças

metabólicas, cardiovasculares e inflamatórias (LANSKY; NEWMAN, 2007; MARTOS *et al.*, 2011).

3.1.1 Compostos fenólicos

A romã apresenta em sua composição compostos fenólicos, em especial a classe dos taninos, polifenóis e seus constituintes (TABELA 1). Os compostos fenólicos apresentam capacidade antioxidante ao serem capazes de neutralizar radicais livres presentes no organismo. Os compostos fenólicos diferem em termos de biodisponibilidade e funções fisiológicas (MORZELLE, 2012). Li *et al.* (2006) identificaram compostos fenólicos na casca e polpa de romã utilizando uma mistura de solventes, etanol, metanol e acetona, sendo que na casca foram obtidas maiores concentrações que na polpa em relação a compostos fenólicos, 249,4 mg de ácido tanico/g na casca e 24,44 mg de ácido tanico/g na polpa. Em relação a flavonoides, foram obtidas concentrações de até 17,2 mg de rutina/g na polpa e 59,1 mg de rutina/g na casca. Kuskoski *et al.* (2006) determinaram os teores de compostos fenólicos de polpa de fruta em extrato etanoico determinando para a polpa de goiaba 83 mg de ácido gálico/100 g, e para extrato de uva e açai 117,1 a 136,8 mg de ácido gálico/100 g, respectivamente. Em relação ao morango 203-223 mg ácido gálico/100 g, amora-preta 241,7 mg ácido gálico/100 g e manga 544,9 mg de ácido gálico/100 g, todos em base úmida, o que demonstrou que a casca e polpa de romã apresentam valores elevados de compostos fenólicos em relação a outras frutas.

De acordo com a literatura, a casca e polpa de romã apresentam diversas atividades biológicas, correlacionadas com seus princípios ativos, dentre as quais atividade antioxidante, antiviral, antibacteriana, antidiarreica, anti-helmíntica, prevenção de doenças crônicas como diabetes, doenças cardiovasculares, doenças do trato digestivo e respiratório, e ainda atuando na restauração do sistema imunológico (SALAMA; ISMAEL; BEDEWY, 2020; TEHRANIFAR *et al.*, 2010).

Neyrinck *et al.* (2013) perceberam que a casca de romã atenua processos ateroscleróticos, desordens metabólicas como a hipercolesterolemia e a inflamação causada pela obesidade, assim como fortalece a imunidade inata. Isso ocorre pela diminuição dos níveis oxidativos, ação atribuída ao percentual dos polifenóis (30% no extrato aquoso) e concentrado de punicalaginas (8%) e ácido elágico (5%) presentes no extrato da casca de romã. Segundo Dikmen, Ozturk e Ozturk (2011), o extrato metanoico da casca de *Punica granatum* apresentou atividades anticâncer, por seu poder antiproliferativo e apoptótico correlacionado ao conteúdo

de fenólico total 331,28 mg de ácido gálico/g de extrato seco e a presença em abundância do ácido elágico.

Em relação a ação bactericida, Chen *et al.* (2020) obtiveram resultados significativos ao avaliarem a atividade antimicrobiana do extrato metanólico de casca de romã ao observarem os efeitos antibacterianos em diferentes patógenos de origem alimentar, incluindo *Escherichia coli*, *Fusarium sambucinum*, *Penicillium italicum* e *Bacillus subtilis*, ação essa relacionada ao conteúdo total de taninos contido no extrato.

Os taninos são metabólitos secundários que apresentam solubilidade em água e massa molecular compreendida entre 500 e 3000 Dalton, podendo ser classificados como hidrolisáveis e condensados. Os principais taninos encontrados na romã são as punicalaginas α e β , assim como os ácidos fenólicos gálico e elágico, ésteres constituintes de taninos hidrolisáveis. Esses compostos, ao serem metabolizados pela microbiota humana, contribuem para a melhora da saúde através dos compostos antioxidantes (BEN-ALI *et al.*, 2018; WAFÁ *et al.*, 2017). As punicalaginas, anômeros α e β , são classificadas como taninos hidrolisáveis. Apresentam massa molar alta, características de adstringência, cor, sabor e estabilidade oxidativa, sendo denominadas polifenóis. Encontradas principalmente nas cascas do fruto da romã, sendo extraídas em sua maioria em extração hidroalcoólica (CHEN *et al.*, 2020; MELGAREJO *et al.*, 2020).

Morzelli (2012) analisou o extrato de casca de romã, mistura de etanol/ água, sendo que a mistura com 60% de etanol destacou-se na capacidade antioxidante por DPPH (1244,57 μm de trolox/g de extrato). Morzelli (2012) atribuiu isso a presença de taninos (83,23 μg de catequina/g de amostra) e compostos fenólicos (1099,43 mg de catequina/g de extrato), sendo que o extrato também de casca de romã com 80% de etanol apresentou capacidade antioxidante por DPPH (1157,65 $\mu\text{m}/\text{g}$ de extrato), taninos (73,51 μg de catequina/g de amostra) e compostos fenólicos (600,10 mg de catequina/g de extrato). Os valores encontrados para taninos em casca de romã foram maiores do que encontrados para outras frutas. Huerta *et al.* (2018), ao extrair taninos de farinha de bagaço de uva utilizando extrato acetônico e metanoico, encontraram 16,3 μg de catequina/g de amostra e 9,2 μg de catequina/g de amostra, respectivamente. Rocha *et al.* (2011), ao avaliarem o teor de taninos para frutas em extrato etanoico, encontraram para pitanga do cerrado 60,0 μg de catequina/g de amostra, para pera do cerrado 25,0 μg de catequina/g de amostra e para caju 13,4 μg de catequina/g de amostra.

Contudo, podemos observar que a casca e polpa de romã apresentam quantidades consideráveis de compostos fenólicos, em especial os taninos, e que estes apresentam ações benéficas ao organismo, demonstrando que a casca e polpa de romã são potenciais alvo de

estudos para a obtenção de substâncias de interesse com potencial terapêutico, e que a obtenção desses compostos pode ser utilizada para a produção de produtos funcionais de alto valor agregado no futuro.

Tabela 1 - Metabólitos encontrados em *Punica granatum L.*

Classe	Metabólito	Método de Extração	Origem	Referência
Polifenóis	Punicalagina	Extração por solvente etanol e metanol/ultrassom	Casca do fruto/ pericarpo/folhas/raízes	Wafa <i>et al.</i> (2017)/ Rakshit e Srivastav (2021)
Ácido orgânico	Ácido gálico	Extração por solvente etanol e metanol	Casca do fruto/ pericarpo/flores	Wafa <i>et al.</i> (2017)/ Rakshit e Srivastav (2021)
Ácido fenólico	Ácido elágico	Extração por solvente etanol/ metanol/ultrassom	Casca do fruto/ pericarpo	Wafa <i>et al.</i> (2017)/ Dikmen, Ozturk e Ozturk (2011)/ Rakshit e Srivastav (2021)

Fonte: Da autora (2021).

3.1.2 Pectina

A pectina é uma fibra solúvel encontrada na parede celular de vegetais e frutas, sendo, portanto, um componente desses alimentos. Pertence à família de polissacarídeos, com características comuns, mas diversificadas. Apresenta capacidade de formar géis viscosos, característicos em geleias de frutas. O esqueleto péctico é um homopolímero de ácido

galacturônico ligado em α (1 \rightarrow 4), com grau variável de grupos carboxilas metil esterificados. É necessária a constituição de no mínimo 65% de ácido galacturônico para ser considerada pectina, segundo a FAO (Organização das Nações Unidas para a Alimentação e Agricultura) e EU (União Europeia) (GULLÓN *et al.*, 2020; GRASSINO *et al.*, 2018).

A pectina pode ser classificada de duas formas, dependendo do percentual de grupamentos esterificados na cadeia. O grupo de pectina que apresenta grau de esterificação superior a 50% é considerado de alta metoxilação (HM ou AM), e sua ligação é realizada pela interação das moléculas de pectina, envolvendo uma combinação de ligações de hidrogênio e interações hidrofóbicas. A pectina com grau de esterificação inferior a 50% é considerada de baixa metoxilação (LM ou BM), e a gelificação ocorre pela ligação iônica via pontes de cálcio entre dois grupos carboxila pertencentes a duas estruturas diferentes que se encontram próximas uma da outra. A diferença entre o grau de esterificação exerce grande influência na pectina obtida e seu poder gelificante. As diferentes estruturas que podem constituir a pectina ocorrem devido à variedade de matérias-primas de onde a pectina pode ser extraída (CANTERISCHMIN *et al.*, 2005; CONDEZO-HOYOS; PEREZ-LÓPEZ; RUPÉREZ, 2015).

A pectina é um polissacarídeo importante nas indústrias de alimentos e farmacêutica. Na indústria de alimentos pode ser usada em geleias e doces, alimentos congelados e em alimentos de baixa caloria como um substituinte de gordura e/ou açúcar. Pode também ser utilizada como material de parede em secagem de alimentos em *Spray dryer*. Na indústria farmacêutica pode ser utilizada em formulações que reduzem níveis de colesterol no sangue e distúrbios gastrointestinais. Outras aplicações são relatadas como na indústria de cosméticos, na fabricação de filmes comestíveis e biodegradáveis, substituindo papel, espumas e plastificantes (GRASSINO *et al.*, 2018; TOPALOVIC *et al.*, 2020).

Atualmente, a pectina é obtida através da extração de bagaço de maçã, podendo também ser obtida de casca de frutos cítricos como laranja e limão, assim como de maracujá, por apresentarem alta concentração do composto (GRASSINO *et al.*, 2018; PEREIRA *et al.*, 2016). Segundo Beckmam (2019), o teor de pectina em matéria seca para as principais frutas utilizadas na extração é de 15 a 20% para bagaço de maçã, 30 a 35% para albedo cítrico, 15 a 20% para bagaço de beterraba, 10% para cenoura e 3% para tomate. Kulkarni e Vijayanand *et al.* (2010) obtiveram rendimento de 14,80% a partir da casca de maracujá amarelo através da utilização de ácido clorídrico concentrado como agente extrator a 98 °C. Khamsucharit *et al.* (2018), utilizando cerca de 10 gramas de pó de bagaço de maçã e casca de banana para a extração, obtiveram valores de 24,08% e 10,91% de pectina, respectivamente.

A extração de pectina é um processo de múltiplos estágios físicos e químicos, sendo geralmente extraída por métodos químicos ou enzimáticos. A extração, hidrólise, e a solubilização de macromoléculas do tecido vegetal são as formas como a pectina é desvinculada da parede celular. Esse processo de extração ocorre a partir de três etapas: extração da matéria-prima de interesse (hidrólise); purificação do extrato (precipitação); e isolamento da pectina do extrato (secagem).

Segundo Fertonani *et al.* (2006), a utilização de um ácido ou uma base em altas temperaturas ajudam no rompimento da parede celular, hidrolisando a protopectina e solubilizando as substâncias pécnicas com facilidade. Na literatura é relatada a utilização de ácidos como o clorídrico, sulfúrico ou nítrico, porém, estes ácidos são potencialmente tóxicos e geram efluentes prejudiciais ao meio ambiente. O ácido cítrico também pode ser utilizado, apresentando rendimentos que se equiparam à extração com ácido clorídrico e sem toxicidade (CANTERI-SCHEMIN *et al.*, 2005; YAPO, 2009). No entanto, existem fatores que influenciam nesse processo além do método de extração, como temperatura, pH, tipo de ácido e tempo de extração (PAGÁN *et al.*, 2001).

A utilização de subprodutos para a extração de pectina é uma forma de agregar valor aos resíduos e ainda minimizar o volume de resíduo que seriam descartados. Em relação à casca de romã, Pereira *et al.* (2016), ao otimizarem o processo de extração, obtiveram um rendimento de extração de 11% em resíduo insolúvel alcoólico utilizando uma temperatura de 88 °C, durante 120 minutos, em pH de 2,5. Shinde, Mandavgane e Karadbhajane (2020), utilizando resíduo de romã, casca e polpa, em biorreatores, quantificaram a presença de 19% de pectina e 10% de ácido elágico e 13% para a lignina, demonstrando o potencial do resíduo de romã para a obtenção de pectina, evidenciando que a extração de pectina de resíduo de romã (casca e polpa) é um processo com potencial.

3.2 Processo de extração

Existem hoje em dia inúmeros métodos de extração de compostos bioativos. O processo extrativo pode ocorrer por técnicas clássicas, como a maceração, extração sólido-líquido, decocção, infusão, extração contínua a quente (Soxhlet), arraste com vapor, ou através do auxílio de técnicas avançadas como infravermelho, micro-ondas, ultrassom, líquidos comprimidos e com fluidos supercríticos (DIAS, 2015; THOMA *et al.*, 2001).

Todos esses processos de extração têm o objetivo de retirar substâncias de interesse que se encontram em partes de plantas e matrizes orgânicas. A retirada dessas substâncias ocorre,

em geral, pela solubilização dos compostos de interesse em um solvente adequado. A escolha do solvente é primordial para a eficiência e a seletividade da extração. Contudo, após a extração, o solvente deve ser removido e as substâncias de interesse isoladas, e esse processo pode ocorrer por evaporação, destilação, filtração ou cromatografia (PACHÚ, 2007), e outros.

Assim como métodos de extração, existem inúmeros solventes que podem ser utilizados. Mas normalmente os mais utilizados são os solventes orgânicos, tais como etanol, metanol, hexano, éter de petróleo, éter etílico, diclorometano, clorofórmio, acetato de etila, acetona e pentano. Porém, é necessário analisar qual será o destino do extrato, visto que, mesmo após a retirada do solvente, resquícios tendem a permanecer e isso pode afetar consideravelmente o produto final (MOTIKAR; MORE; ARYA, 2020; PACHÚ, 2007). Além da contaminação do extrato ao final do processo, situações potencialmente perigosas ao utilizar certos tipos de solventes, como o hexano, metanol, éter de etílico, éter de petróleo e pentano, dentre outros, podem ocorrer, por serem inflamáveis ou apresentarem certa toxicidade e efluentes para a atmosfera. Independentemente de qual solvente for escolhido, deve haver uma precaução com possíveis infortúnios futuros, lesões, intoxicações e mudanças na legislação (KOTOVICZ, 2014; VIEIRA, 2015).

O metanol, por exemplo, é utilizado em estudos como solvente extrator de polifenóis e antioxidante em casca e polpa de romã, assim como a água, o etanol e a acetona (CHEN *et al.*, 2020; DIKMEN; OZTURK; OZTURK, 2011; NEGI; JAYAPRAKASHA; JENA, 2003; SAMSURI *et al.*, 2020). No entanto, o metanol é considerado um solvente de classe 2, apresentando toxicidade inerente, podendo causar acúmulo tanto de metanol propriamente dito quanto de seus metabólitos, tais como o ácido fórmico e o ácido láctico no corpo. Se for ingerido em quantidade elevada, o organismo não consegue excretá-lo, ocorrendo o acúmulo, podendo causar dificuldade de respiração ou falha respiratória, visão borrada, que pode terminar em cegueira, dor abdominal severa, vômito, diarreia, confusão, vertigem, coma ou até mesmo a morte (PAINE; DAVAN, 2011).

A água é um solvente universal, sem qualquer risco à saúde humana, o etanol e acetona são exemplos de solventes classe 3, atóxicos, podendo ser utilizados sem causar danos físicos e ambientais, estando em baixa concentração no produto final (VIEIRA, 2015). Esses solventes são considerados solventes verdes por serem renováveis, biodegradáveis, atóxicos, apresentarem grande potencial de produção e serem baratos. A água apresenta ampla solubilidade dentre diversas substâncias, polaridade que permite sua interação com sólidos iônicos, açúcares, proteínas, sais e muitas outras substâncias. O etanol é miscível em água e muitos compostos orgânicos, incluindo ácido acético, acetona, benzeno, tetracloreto de carbono

e clorofórmio, sendo considerado um solvente versátil. A acetona é um solvente com característica mais apolar. Na extração utilizando água, álcool etílico e acetona obtêm-se compostos presentes na fração hidrofílica e lipofílica da casca e polpa (KOTOVICZ, 2014; VIEIRA, 2015).

A utilização de solventes seguros, verdes e que não provoquem danos ao ser humano e ao meio ambiente é de suma importância. Assim como a otimização do processo de extração e a definição de parâmetros cruciais como tempo de extração, grau de trituração da matéria-prima, temperatura, polaridade do solvente e a interação de seus compostos com a matéria-prima, a quantidade de solvente utilizado e o método escolhido para a extração (KOTOVICZ, 2014).

Existem atualmente várias metodologias para a extração de casca e polpa de romã. Tabaraki, Heidarizadi e Benvidi (2012) descrevem a otimização da extração de polifenóis e antioxidantes da casca de romã (*Punica granatum L.*) utilizando banho ultrassônico, variando as concentrações de solventes de etanol-água, temperatura e o tempo de extração, e a partir das variações obtiveram como resultado rendimentos de extração de compostos bioativos que variaram de 29,78% a 45,38%, teor de compostos fenólicos variando de 5506,42 a 8923,24 mg equivalente de ácido gálico/100 g de amostra. Valores de poder antioxidante redutor férrico FRAP variaram de 24,30 a 63,37 mmol Fe₂ +/100 g de amostra e atividade sequestrante de DPPH de 60,12 a 83,52% de inibição.

Rakshit e Srivastav (2021) também realizaram extração assistida por ultrassom pulsado para a extração de punicalaginas, ácido elágico e gálico, conteúdo fenólico total, conteúdo de flavonoides totais, antocianinas e atividade antioxidante. Rakshit e Srivastav (2021) conseguiram identificar, por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) acoplada a espectrômetro de massa, a presença de punicalaginas em extrato etanólico e outros quinze taninos hidrolisáveis no extrato de polifenólicos obtidos na condição otimizada.

Podemos observar que existem diversas formas de extração de casca e polpa de romã, juntas como resíduo ou separadamente, no entanto, a otimização do processo de extração com utilização de solventes não tóxicos é importante para a obtenção de produtos de interesse e agregar valor ao processo de modo sustentável.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Material

Os frutos da romã (*Punica granatum L.*) foram adquiridos da fazenda Sol Nascente, localizada na cidade de Janaúba, norte de Minas Gerais, altitude 507 m.a.s.l, latitude 15° 32' 58.698783" e longitude 43° 18' 51.962304", durante o período de safra de novembro de 2020.

4.2 Preparo da matéria-prima

Os frutos foram primeiramente lavados em água corrente e sanitizados com hipoclorito de sódio 200 mg/L, durante 15 minutos, secos à temperatura ambiente, seguido de separação. A casca foi retirada manualmente com auxílio de um descascador manual e a separação da polpa e do arilo e semente foi realizada manualmente. A casca foi cortada em tamanho de 1 cm/1 cm (comprimento/largura) e seca em estufa de fluxo de ar (Solab SL-102) a 50 °C até peso constante, por aproximadamente 24 horas.

As amostras de polpa foram cortadas em dimensões de 1 cm/1 cm/0,5 cm (comprimento/largura/altura), desidratadas em estufa de fluxo de ar a 50 °C até peso constante, por aproximadamente 36 horas. Após secagem as amostras foram trituradas em moinho de facas (Tecnal R-TE-650/1), peneiradas em um conjunto de peneiras *mesh*, sendo selecionadas as amostras que apresentaram granulometria inferior a 100 *mesh* (149 mm) e armazenadas sob refrigeração em *freezer* (Brastemp BVG24HB), até o uso nas extrações e análises.

4.3 Caracterização da matéria-prima

4.3.1 Composição química

Todas as análises de caracterização da casca e polpa de romã foram realizadas em triplicata e os resultados expressos em média \pm desvio padrão. A determinação da composição química em amostra previamente seca foi realizada em relação ao teor de extrato etéreo, proteínas, cinzas e fibras, realizada de acordo com a metodologia oficial da Association of Official Analytical Chemists (AOAC, 2005), sendo que a fração de carboidratos foi determinada pelo método da diferença (100 - % lipídios - % proteína - % fibra - % cinza), com valores em base seca.

4.3.2 Pectina

A pectina foi extraída em meio ácido, com ácido cítrico, de acordo com a metodologia de Ranganna (1977). O procedimento para a extração de pectina da polpa e casca de romã foi realizado com as amostras secas e trituradas. As amostras (4 g) foram dissolvidas em 200 mL de água destilada. As extrações foram realizadas à temperatura constante (97 °C) sob condições de concentração de ácido (3,5%) e tempo (95 minutos). Após extração ácida, as amostras foram resfriadas a 4 °C por duas horas, filtradas em tecido de poliéster, sendo descartado o sobrenadante. Ao filtrado, contendo pectina, foi adicionado álcool etílico (95%) na proporção 1:2 (uma parte de solução de pectina e duas partes de álcool). Após uma hora, ocorreu a separação da pectina na forma de precipitado, sendo separada por filtração. A pectina obtida foi, então, seca em estufa de secagem a 55 °C até peso constante. O rendimento de pectina foi obtido a partir da quantidade inicial da matéria-prima utilizada (Equação 1).

$$Rendimento = \left(\frac{Massa\ de\ Pectina\ extraída}{Massa\ amostra\ (seca)} \right) * 100 \quad (1)$$

Em que:

Massa de Pectina extraída = Massa de pectina obtida após extração e secagem em gramas;

Massa amostra (seca) = Massa da amostra em base seca em gramas.

4.3.3 Determinação do grau de esterificação

O grau de esterificação (DE) das amostras de pectina foi determinado pelo método de titulação potenciométrica de acordo com Kliemann (2006). A pectina seca (0,2 g) foi colocada em um Becker e umedecida com etanol 95%. Água destilada aquecida a 40 °C (20 mL) foi adicionada ao polímero que foi dissolvido em agitação por 2 horas. A solução resultante foi titulada com NaOH 0,1 mol/L na presença de fenolftaleína até mudança de coloração, e o resultado anotado como titulação inicial (Ti). Depois, adicionaram-se 10 mL da solução de NaOH 0,1 mol/L à amostra neutralizada de ácido galacturônico, agitando essa solução por mais 2 horas para saponificação dos grupos carboxílicos esterificados do polímero. Então, 10 mL de HCl 0,1 mol/L foram adicionadas. O excesso de HCl foi titulado com NaOH 0,1 mol/L. O número de grupos carboxílicos esterificados foi calculado a partir do volume de NaOH 0,1 mol/L gasto na titulação final (Tf). O grau de esterificação foi calculado usando a equação 2:

$$\%DE = \frac{T_f}{(T_i + T_f)} * 100 \quad (2)$$

Onde:

%DE = Grau de esterificação (%);

T_i = Volume de NaOH 0,01 mol/L usado na titulação inicial (mL);

T_f = Volume de NaOH 0,01 mol/L usado na titulação final (mL).

4.3.4 Minerais

A avaliação do nível de minerais foi realizada na casca e polpa de romã preparadas por digestão orgânica de acordo com a metodologia descrita por Salinas e Garcia (1985). Para digestão orgânica, as amostras foram tratadas com uma mistura de ácido nítrico e ácido perclórico. Para determinar a concentração de cálcio, ferro, zinco, magnésio, cobre e manganês foi utilizado um espectrofotômetro de absorção atômica. Um fotômetro de chama foi usado para determinação de potássio (768 nm), e um espectrofotômetro de luz visível foi usado para determinação de fósforo (420 nm). As análises de nitrogênio, potássio, fósforo, cálcio, magnésio, enxofre, cobre, zinco, manganês e ferro foram realizadas pelo Laboratório de Análise de Solos do Departamento de Ciência do Solo da Universidade Federal de Lavras.

4.3.5 Acidez titulável

A acidez titulável foi realizada por titulação com solução padronizada de hidróxido de sódio a 0,1 mol/L e o ponto de viragem do indicador foi acompanhado com pHmetro até o valor de 8,2, segundo a metodologia de Cecchi (2003). Foram pesados 2 g de casca ou polpa seca e triturada em frasco *erlenmeyer* de 125 mL, adicionados 50 mL de água destilada e de duas gotas do indicador fenolftaleína a 1%. Titulou-se com solução de hidróxido de sódio e a acidez foi expressa em equivalente em grama de ácido cítrico/100 g de casca ou polpa. Equação 3:

$$At = \frac{\text{Volume de NaOH} * \text{Normalidade} * \text{Equivalente do ácido}}{10 * \text{Massa da amostra}} \quad (3)$$

Onde:

Volume de NaOH = Volume de NaOH gasto na titulação (mL);

Normalidade = 0,1 mol/L de NaOH;

Equivalente de ácido = 64,02, referente ao ácido cítrico;

Massa da amostra = Massa em gramas da amostra em base seca.

4.3.6 Extrato para determinação de taninos, fenólicos totais e capacidade antioxidante

A metodologia descrita para a obtenção do extrato foi realizada de acordo com Brand-Williams, Cuvelier e Berset (1995), em que foram utilizados 2 g das amostras de casca ou polpa secas e trituradas em 20 mL de álcool metílico 50% e deixados em repouso por 1 hora à temperatura ambiente. Após o repouso, a mistura foi centrifugada a 14.000 rpm por 15 minutos. O sobrenadante foi coletado e adicionado de 20 mL de acetona 70% ao resíduo, que foi homogeneizado e deixado em repouso por 1 hora à temperatura ambiente. Em seguida, centrifugado a 14.000 rpm por 15 minutos. O sobrenadante foi coletado, adicionado ao primeiro sobrenadante e o volume completado para 50 mL com água destilada.

4.3.7 Teor de taninos totais

Para determinar o teor de tanino foi utilizado o método vanilina/HCl, segundo Price e Butler (1977), em que foi preparada uma solução de HCl 8% em metanol e outra de vanilina 2% em metanol, sendo essas duas soluções misturadas a seguir, obtendo-se, assim, uma solução de vanilina/ HCl. Para os tubos controle, branco, foi preparada uma solução de HCl 4% em metanol. Em cada tubo de ensaio, adicionou-se 1 mL do extrato e 5 mL da solução de Vanilina/ HCl, sendo adicionado 1 mL da solução de Vanilina/ HCl a cada intervalo de um minuto. Posteriormente, a leitura da absorbância foi realizada em espectrofotômetro a 500 nm. Para a determinação da presença de tanino nas amostras, foi utilizada uma curva padrão obtida a partir de diferentes concentrações de catequina. Para tanto, em balão volumétrico de 200 mL foram adicionados 200 mg de catequina e completado o volume com metanol, para a obtenção da curva padrão. Procedimento similar foi usado para a determinação do teor de tanino nas amostras que substituíram as soluções padrões, como descrito anteriormente. E os resultados foram expressos em mg de equivalente de catequina/g de casca ou polpa seca.

4.3.8 Análise de fenólicos totais

A análise de fenólicos foi realizada de acordo com o método adaptado de Folin Ciocalteu (WATERHOUSE, 2002). Os extratos (0,5 mL) diluídos foram misturados com 2,5 mL de

reagente de Folin-Ciocalteu (10%) e 2 mL de solução de carbonato de sódio (4%). A mistura foi agitada e mantida à temperatura ambiente durante 2 horas, no escuro. A absorbância foi medida a 750 nm. Soluções aquosas de ácido gálico foram utilizadas para construção da curva padrão. Os resultados foram expressos em mg de ácido gálico (EAG)/g de casca ou polpa seca.

4.3.9 Atividade antioxidante total pelo método de DPPH

A atividade antioxidante foi determinada de acordo com a metodologia proposta por Brand-Williams, Cuvelier e Berset (1995). Essa metodologia é baseada na extinção da absorção do radical 2,2-difenil-1-picril hidrazil (DPPH 60 μ M). Para a determinação a partir do extrato obtido, foram preparadas em tubos de ensaio no mínimo três diluições diferentes em triplicata. Em ambiente escuro, foi transferida uma alíquota de 0,1 mL de cada um dos extratos preparados anteriormente a 3,9 mL de solução de DPPH e homogeneizada em agitador de tubos. Álcool metílico foi utilizado como branco, para calibrar o espectrofotômetro. As leituras foram realizadas em espectrofotômetro a 515 nm, após 150 minutos, e os resultados de EC₅₀ expressos em g de amostra/g de DPPH.

4.4 Planejamento experimental

Para a otimização das extrações com mistura de solventes foi realizado um planejamento fatorial completo de ordem 2³ com níveis +1 e -1, seis pontos axiais nos níveis - α e + α , e três repetições no ponto central, nível zero, com 3 variáveis independentes. Portanto, o delineamento composto central rotacional (DCCR), fatorial completo, incluindo pontos axiais e 3 repetições no ponto central, totalizou 17 ensaios (RODRIGUES; IEMMA, 2014).

Foram avaliados os efeitos de três variáveis independentes: fração mássica do etanol na solução aquosa (x_1 ; % m/m), fração mássica da acetona na solução aquosa (x_2 ; % m/m) e temperatura de extração (x_3 ; °C).

Na Tabela 2 têm-se as variáveis codificadas (x_i) utilizadas no planejamento do DCCR. Sendo que nos tratamentos do DCCR a água será utilizada como solvente base, ou seja, os demais solventes quando presentes substituem parte da água presente do sistema.

Tabela 2 - Variáveis independentes do DCCR para casca e polpa de romã.

Variáveis	Variável	-1,68	-1	0	1	1,68
	Códificada					
x₁ - Fração mássica do etanol (%)	x ₁	0	10	25	40	50
x₂ - Fração mássica da acetona (%)	x ₂	0	10	25	40	50
x₃ - Temperatura (°C)	x ₃	30	36	45	54	60

Fonte: Da autora (2022).

Foram realizadas 3 extrações utilizando solventes puros (água, etanol e acetona) a 45 °C para comparar com as extrações realizadas com as misturas. Essas extrações foram realizadas como descrito no item 3.5.

Nesse planejamento foram avaliadas como variáveis respostas a concentração de fenólicos totais, taninos, a capacidade antioxidante utilizando o método do DPPH, acidez titulável, e das tortas resultantes das extrações a % de pectina e o grau de esterificação da pectina.

O *software* Statistica 10.0 (STATISTICA ANALYSIS, 2010) foi utilizado para a análise estatística dos resultados. Todos os resultados foram avaliados a 5% de significância e considerando o $F_{calculado}$ maior que o $F_{tabelado}$. As superfícies de resposta foram obtidas considerando o modelo completo (Equação 4).

$$Y = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 X_3 + \beta_{11} X_1^2 + \beta_{22} X_2^2 + \beta_{33} X_3^2 + \beta_{12} X_1 X_2 + \beta_{13} X_1 X_3 + \beta_{23} X_2 X_3 \quad (4)$$

Em que Y é a função variável resposta, X_i ($i = 1, 2, 3$) são as variáveis codificadas estudadas, β_0 é o termo constante, β_i é o coeficiente linear e β_{ii} e β_{ij} são os termos quadráticos e interativos, respectivamente.

4.5 Processo de extração de compostos bioativos

As extrações de compostos bioativos da casca e polpa de romã com solvente foram realizadas até o sistema atingir o equilíbrio. Para a realização das extrações foi utilizado Erlenmeyer de plástico de 125 mL com tampa de rosca para evitar perda do solvente. Para cada

tratamento a razão casca ou polpa: solvente foi de 1:10 e o tempo de extração de 4 horas, determinados através de testes preliminares. A extração foi realizada numa incubadora (Marconi MA830/A) à temperatura constante (temperatura do tratamento) sob agitação de 150 rpm. Após o tempo de extração, o frasco de Erlenmeyer foi deixado em repouso por 30 minutos e pesado para verificar se ocorreu perda de solvente. O sistema foi transferido para tubos *falcon* e centrifugados a 3500 rpm por 15 minutos, sendo o sobrenadante, fase extrato, transferido para recipientes âmbar e acondicionados refrigerados (5 °C) até a realização das análises, e a fase sedimentada (refinado) levada à estufa de secagem até apresentar massa constante e posteriormente utilizada para a extração de pectina.

4.6 Análise da fase extrato

As análises da fase extrato foram realizadas de forma semelhante às análises da matéria-prima, utilizando para determinação o extrato obtido da extração da casca e da polpa de romã num tempo de extração suficiente para atingir o equilíbrio (4 horas). Foram realizadas para a fase de extrato as análises taninos totais (item 4.3.7), fenólicos totais (item 4.3.8) capacidade antioxidante por DPPH (item 4.3.9) e acidez titulável (item 4.3.5).

4.7 Análise da pectina no resíduo do extrato

As amostras utilizadas na extração/quantificação de pectina foram os resíduos desidratados obtidos dos ensaios das extrações do DCCR e dos solventes puros. A fase sedimentada obtida da centrifugação, após as extrações sólido-líquido dos compostos bioativos, foi desidratada em estufa de secagem (Solab SL-102) na mesma temperatura do tratamento até massa constante.

O processo de extração da pectina foi realizado de acordo com a metodologia descrita no item 4.3.2 e o grau de esterificação da pectina determinado através da metodologia descrita no item 4.3.3.

5 RESULTADO E DISCUSSÃO

5.1 Análise da matéria-prima

O teor de umidade da casca de romã foi de $64 \pm 2\%$ e para a polpa de romã $72 \pm 3\%$ *in natura*. A composição centesimal em base seca para casca e polpa de romã é apresentada na Tabela 3. Abid *et al.* (2017) avaliaram as características físico-químicas da casca de romã de diferentes variedades e o teor de umidade encontrado variou de 67,26% a 73,23%, valores pouco acima dos encontrados neste trabalho. Santos *et al.* (2010) obtiveram 73,93% de umidade para a polpa de romã, valores próximos encontrados neste trabalho, contudo, a umidade dos frutos pode variar de acordo com a região de cultivo, a pluviosidade e a variedade (FURTUNATO, 2016).

Tabela 3 - Composição centesimal da casca e polpa de romã, resultados expressos em base seca.

Composição centesimal (%)*					
Amostra	Extrato Etéreo	Proteína	Fibra	Cinza	Fração de carboidratos
Casca	1,20±0,35	4,71±0,56	12,62±0,77	5,36±0,05	76,11
Polpa	0,27±0,10	4,72±0,02	6,74±0,49	4,18±0,23	84,09

*Resultado expressos em base seca pela média e desvio padrão.

Fonte: Da autora (2022).

Em relação ao extrato etéreo foram encontrados 1,2% na casca de romã e 0,27% na polpa de romã seca. Farias (2018), ao analisar a composição da farinha da casca de romã, obteve 2,93% de lipídeos, valor superior ao encontrado. Jardini e Mancini Filho (2007) verificaram que a polpa de romã em base seca apresentou 0,24% de lipídeos, semelhante ao encontrado neste estudo.

O teor de proteína encontrado para a casca de romã foi de 4,71% e na polpa 4,72%, sendo a variação desprezível entre as partes. Abid *et al.* (2017), ao caracterizarem a casca de romã, obtiveram valores de teor de proteínas que variaram de 3,96% a 7,13% em base seca para romãs de diferentes tipos. Ismail *et al.* (2020), ao analisarem a composição centesimal da casca e polpa de romã secos como um resíduo único, identificaram 5,57% de proteína.

A fibra apresentou 12,62% na casca de romã e 6,74% na polpa de romã, sendo maior na casca. Farias (2018), para farinha de casca de romã, obteve 7,73% de fibra, e Santos *et al.* (2010) obtiveram 2,43% de fibra para polpa de romã em base seca. Ismail *et al.* (2020), ao analisarem o resíduo de romã, casca e polpa juntos, encontraram 9,13% de fibra em base seca.

Foram encontrados 5,36% de cinza para a casca de romã e 4,2% na polpa de romã. Abid *et al.* (2017) determinaram o percentual de cinzas na casca de romã seca e quantificaram um valor médio de 4,52%, próximo aos teores encontrados no presente estudo. Farias (2018), para farinha de casca de romã, obteve 3,83%. Ismail *et al.* (2020) encontraram 3,32% de cinza para resíduo de romã, casca e polpa, em base seca.

Para fração de carboidratos foram obtidos valores de 76,11% para casca de romã e 84,09% para polpa de romã. Farias (2018), para farinha de casca de romã, obtiveram 81,98% de carboidrato, valor semelhante ao encontrado para casca. Ismail *et al.* (2020), para casca e polpa de romã, resíduo, obtiveram 67% de carboidrato, valor inferior ao encontrado neste estudo.

A concentração de micronutrientes encontrados na casca e polpa de romã podem ser observados na Tabela 4.

Tabela 4 - Concentração de minerais encontrados na casca e polpa de romã em base seca.

Amostra	N*	P*	K*	Ca*	Mg*	S*	Mn**	Zn**	B**	Cu**	Fe**
Casca	7,2	1,0	24,4	7,9	1,4	0,7	15,7	15,2	17,3	6,7	14,8
Polpa	8,9	1,5	39,1	2,2	0,7	0,6	9,5	18,0	6,3	6,3	11,6

*(g/kg) ** (mg/kg)

Fonte: Da autora (2022).

Ao observar os resultados, podemos notar o elevado teor de potássio encontrado tanto na casca como na polpa (24,4 g/kg e 39,1 g/kg, respectivamente), sendo o mineral presente em maior quantidade. O zinco apresenta 15,2 mg/kg na casca e 18,0 mg/kg na polpa. O ferro, por sua vez, apresenta 14,8 mg/kg na casca e 11,6 mg/kg na polpa. O manganês 15,7 mg/kg na casca e 9,5 mg/kg na polpa. A casca tem maior quantidade de cálcio, magnésio, enxofre, manganês, boro, cobre e ferro que a polpa de romã.

A polpa de romã, por sua vez, contém mais nitrogênio, fósforo, potássio e zinco. Como podemos observar, cada parte da fruta apresenta concentrações distintas de minerais. Ismail *et al.* (2020), ao analisarem o resíduo de romã seco, casca e polpa juntos, encontraram em relação aos minerais potássio (12,69 g/kg), cálcio (2,65 g/kg), fósforo (0,47 g/kg), magnésio (0,23 g/kg), ferro (20,7 mg/kg), cobre (3,7 mg/kg) e manganês (2,8 mg/kg), valores menores aos encontrados neste estudo, com exceção do ferro.

Segundo a lista de IDR (Ingestão Diária Recomendada) disponibilizada pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA, 2018), IN n° 28 de 26 de julho de 2018, para

adultos o teor recomendado de fósforo é de 105 mg, cálcio 180 mg, manganês 0,35 mg, zinco 1,65 mg, cobre 135 µg e ferro 2,7 mg. Isso mostra que o consumo tanto da casca quanto da polpa de romã diariamente como uma farinha, por exemplo, supriria a necessidade desses nutrientes em indivíduos adultos.

As concentrações de compostos fenólicos totais, taninos totais, capacidade antioxidante por DPPH e acidez titulável podem ser observadas na Tabela 5.

Tabela 5 - Compostos fenólicos totais (CF), taninos, capacidade antioxidante, acidez titulável (AT) da casca e polpa de romã, resultados expressos em base seca.

Amostra	CF (mg de GAE/g de amostra)	Tanino (mg de catequina/g de amostra)	DPPH EC₅₀ (g de amostra/g de DPPH)	AT (g de ácido cítrico/100 g de amostra)
Casca	112,41±0,20	42,22±3,35	30,10±1,35	4,75±0,02
Polpa	207,37±1,62	23,62±2,27	15,96±1,87	8,32±0,02

*Resultado expressos pela média e desvio padrão.

Fonte: Da autora (2022).

A concentração de compostos fenólicos na casca de romã foi de 112,41 mg de GAE/g de amostra e para a polpa 207,3741 mg de GAE/g de amostra. Xi, He e Yan (2017), ao caracterizarem o resíduo de romã, casca e polpa secos, obtiveram 199,83 mg de GAE/g de amostra. Derakhshan *et al.* (2018), ao quantificarem o teor de compostos fenólicos em casca de romã na região de Natanz, no Irã, encontraram 276 mg de GAE/g de amostra. Valor superior ao encontrado na fruta cultivada no Brasil. Al-Rawahi *et al.* (2013), ao analisarem o conteúdo fenólico de casca de romã seca, encontraram 116,04 mg de GAE/g de amostra. Saad *et al.* (2012) quantificaram o teor de fenólicos totais em casca de romã em 100,04 mg de GAE/g e para polpa de romã 181,0 mg de GAE/g de amostra, valores próximos aos encontrados neste trabalho.

O teor de taninos encontrados na casca de romã foi de 42,22 mg de catequina/g de amostra e para a polpa 23,62 mg de catequina/g de amostra, demonstrando que a casca de romã tem maior concentração de taninos que a polpa. Turkplrnaz e Ozkan (2014), ao analisarem o teor de taninos em casca de polpa após a prensagem do fruto de romã, quantificaram 31 mg de catequina/g de amostra.

A capacidade antioxidante por DPPH expresso em EC₅₀ é a capacidade da amostra em consumir os radicais livres durante a análise. Assim, quanto menor o valor mais antioxidante a amostra é. A casca de romã apresentou um resultado de EC₅₀ de 30,10 g de amostra/g de DPPH

e a polpa 15,96 g de amostra/g de DPPH, demonstrando que a polpa apresenta maior capacidade antioxidante que a casca. Wu *et al.* (2020), ao analisarem a capacidade antioxidante de resíduo industrial de romã, casca e polpa, obtiveram 6,59 g de amostra/g de DPPH, apresentando maior capacidade antioxidante que as amostras utilizadas neste estudo. Zitha *et al.* (2021), ao quantificarem a atividade antioxidante de mangaba por DPPH, obtiveram um EC₅₀ de 953,67 g de amostra/g de DPPH em polpa e em geleia 1454,07 g de amostra/g de DPPH.

A acidez titulável encontrada para casca de romã foi de 4,75 g de ácido cítrico/100g de amostra e 8,32 g de ácido cítrico/100 g para a polpa de romã. Ismail *et al.* (2020), ao caracterizarem pós de casca de romã, obtiveram para acidez titulável 4,75%. Furtunato (2016), no fruto da romã, casca e polpa, identificou para acidez titulável valores próximos a 0,66% de ácido cítrico em base úmida em frutos maduros. Tehranifar *et al.* (2010), ao caracterizarem os frutos da romã em 20 cultivares diferentes no Irã, obtiveram resultados médios de acidez titulável variando de 0,33% a 2,44% em base úmida.

O percentual de pectina e grau de esterificação da pectina encontrada em casca e polpa de romã podem ser observados na Tabela 6.

Tabela 6 - Pectina e grau de esterificação de casca e polpa de romã, resultados expressos em base seca.

Amostra	Pectina (%)	Grau de Esterificação (%)
Casca	9,41±1,11	66,66±2,14
Polpa	6,81±0,25	64,50±1,34

*Resultado expressos pela média e desvio padrão.

Fonte: Da autora (2022).

Os rendimentos da extração de pectina da casca e polpa de romã seca foram de 9,41% e 6,81%, respectivamente, com a casca de romã com maior quantidade de pectina em relação à polpa. O grau de esterificação da casca de romã foi de 66,66% e na polpa de romã foi de 64,50%. Ibrahim, Awad e El-Sayed (2020), ao extraírem pectina de pós de romã secas, obtiveram para a polpa 3,5% de pectina e 5% na casca, valor menor ao encontrado, porém o teor de fibra encontrado também foi menor de 7% na casca e 3,2% na polpa.

Pereira *et al.* (2016), ao otimizarem o processo de extração de pectina em casca de romã, obtiveram um rendimento de extração de 11% em resíduo insolúvel alcoólico utilizando uma temperatura de 88 °C, durante 120 minutos, em pH de 2,5. Abid *et al.* (2017), ao realizarem extração aquosa a quente (86 °C; 80 min.; Ácido nítrico 20 mM) de pectina da casca de romã de diferentes variedades cultivadas na Tunísia, obtiveram entre 6,8 e 10,1% de pectina e grau

de esterificação variando de 34,1 a 46,1%. Talekar *et al.* (2018), na extração de pectina de resíduo de casca de romã com tratamento hidrotérmico, obtiveram 18,8 - 20,9% para pectina e 68 - 74% para grau de esterificação. Os graus de esterificação acima de 50% para as duas amostras demonstram que a pectina obtida em ambos é de alto grau de metoxilação. Pectinas com alto grau de metoxilação tendem a gelificar em concentrações maiores de açúcares e temperatura (PEREIRA *et al.*, 2016).

5.2 Extrações da casca e polpa de romã

Os resultados das análises experimentais de compostos fenólicos, taninos, atividade antioxidante, acidez titulável, pectina e grau de esterificação da pectina extraída da torta da casca e polpa de romã estão nas Tabelas 7 e 8, respectivamente, obtidos do estudo da influência das variáveis do processo analisadas (fração mássica do etanol, fração mássica da acetona e temperatura), conforme Delineamento Composto Central Rotacional (item 3.4). Nessas Tabelas são especificados os níveis codificados das variáveis independentes do DCCR para cada ensaio e respectivos valores das variáveis respostas, em adição, e os resultados das variáveis respostas para extrações com solventes puros (água, etanol e acetona) a 45 °C.

Tabela 7 - Resultados das análises de compostos fenólicos (CF), taninos, atividade antioxidante (AA), acidez titulável (AT), pectina e grau de esterificação (GE) das extrações de casca de romã do planejamento do DCCR e uso de solventes puros.

Ensaio	X ₁	X ₂	X ₃	CF (mg GAE/g)	Tanino (mg de catequina/g)	AA (EC ₅₀) (g/g de DPPH)	AT (g ácido cítrico/100mL)	Pectina (%)	GE (%)
1	-1	-1	-1	109,35	12,81	24,54	0,35	7,53	62,07
2	1	-1	-1	103,74	18,88	21,22	0,35	5,08	50,37
3	-1	1	-1	115,37	20,74	34,00	0,38	5,45	59,04
4	1	1	-1	93,72	24,51	27,73	0,30	5,02	61,31
5	-1	-1	1	109,91	18,75	22,38	0,33	6,01	61,87
6	1	-1	1	104,65	18,04	13,71	0,34	4,89	62,17
7	-1	1	1	104,51	23,74	30,18	0,29	5,07	64,44
8	1	1	1	92,60	31,82	43,94	0,25	4,66	62,36
9	-1,681	0	0	115,73	14,99	15,28	0,32	7,95	63,26
10	1,681	0	0	91,19	33,68	33,80	0,25	4,22	59,18
11	0	-1,681	0	124,49	24,08	7,07	0,29	8,09	63,17
12	0	1,681	0	100,10	40,57	30,07	0,27	4,63	62,99
13	0	0	-1,681	112,99	19,55	36,57	0,28	6,23	56,81
14	0	0	1,681	114,11	19,47	38,91	0,44	6,12	56,17
15	0	0	0	104,63	39,15	11,78	0,34	5,35	58,92
16	0	0	0	106,68	39,25	11,75	0,35	5,25	58,66
17	0	0	0	105,42	38,97	14,72	0,36	5,41	58,58
Água	-	-	-	92,04	2,96	53,65	0,31	7,28	60,08
Etanol	-	-	-	38,49	13,69	93,29	0,10	5,21	60,99
Acetona	-	-	-	25,10	9,98	202,90	0,08	4,75	51,11

Variáveis codificadas: X₁: fração mássica do etanol; X₂: fração mássica da acetona e X₃: temperatura.

Fonte: Da autora (2022).

Tabela 8 - Resultados das análises de compostos fenólicos (CF), taninos, atividade antioxidante (AA), acidez titulável (AT), pectina e grau de esterificação (GE) das extrações de polpa de romã do planejamento do DCCR e uso de solventes puros.

Ensaio	X ₁	X ₂	X ₃	CF (mg GAE/g)	Tanino (mg de catequina/g)	AA (EC ₅₀) (g/g de DPPH)	AT (g ácido cítrico/100mL)	Pectina (%)	GE (%)
1	-1	-1	-1	166,96	2,63	9,80	0,68	5,40	61,60
2	1	-1	-1	164,93	4,02	17,49	0,70	3,48	60,62
3	-1	1	-1	175,37	3,85	17,27	0,73	6,11	60,56
4	1	1	-1	152,17	10,12	20,31	0,58	4,80	62,33
5	-1	-1	1	172,35	2,32	4,02	0,66	6,54	60,60
6	1	-1	1	157,92	3,96	8,97	0,63	4,41	60,66
7	-1	1	1	165,49	3,33	15,03	0,65	4,43	60,76
8	1	1	1	138,78	10,02	24,56	0,50	5,60	63,32
9	-1,681	0	0	167,17	1,35	8,74	0,63	6,79	61,53
10	1,681	0	0	144,88	11,14	18,13	0,54	5,42	60,61
11	0	-1,681	0	173,89	1,10	1,82	0,59	6,23	63,06
12	0	1,681	0	149,16	12,39	18,45	0,58	5,47	63,14
13	0	0	-1,681	169,48	4,15	20,77	0,58	5,04	57,04
14	0	0	1,681	173,83	3,84	19,44	0,67	4,34	58,32
15	0	0	0	164,95	4,19	27,46	0,64	3,77	61,63
16	0	0	0	167,94	4,30	29,29	0,64	3,39	62,22
17	0	0	0	167,38	4,27	24,72	0,63	4,17	61,44
Água	-	-	-	155,81	0,38	34,72	0,71	4,18	58,54
Etanol	-	-	-	52,44	0,45	76,35	0,19	3,04	58,65
Acetona	-	-	-	30,57	0,30	274,53	0,12	3,04	60,29

Variáveis codificadas: X₁: fração mássica do etanol; X₂: fração mássica da acetona e X₃: temperatura

Fonte: Da autora (2022).

5.2.1 Solventes puros

Ao analisar as extrações realizadas com solventes puros a 45 °C para casca e polpa de romã (TABELAS 7 e 8), observa-se a relação entre a extração dos compostos nos extratos e na matéria-prima (TABELA 5). Para casca de romã, o extrato obtido com água obteve os maiores valores de compostos fenólicos, considerando os solventes puros, alcançando a extração de 81,9% dos compostos fenólicos quantificados na casca da romã seca (112,41 mg de GAE/g de amostra), seguido pelo etanol (extração de 34,2% dos compostos fenólicos) e por último a acetona (extração de 22,3% dos compostos fenólicos). Comportamento similar para os solventes puros também pode ser observado para a polpa de romã, em que com a água obteve-se uma extração de 75,1% dos compostos fenólicos da casca, etanol uma extração de 25,3% e acetona, extração de 14,7%. A polpa tem uma menor percentagem de extração que a casca com os solventes puros, porém a polpa contém maior quantidade de compostos fenólicos que a casca, obtendo-se na extração da polpa extratos com concentrações maiores de compostos fenólicos. Esses resultados mostram que para a extração usando solventes puros a água é melhor para a extração de compostos fenólicos, para casca e polpa seca de romã. Resultados semelhantes foram encontrados por Saad *et al.* (2012) ao realizarem extração aquosa com casca de romã seca de 4 regiões da Tunísia, obtendo-se em relação a compostos fenólicos uma variação de 77,5 a 174,5 mg GAE/g de amostra. Tabaraki, Heidarizadi e Benvidi (2012), por outro lado, ao extraírem compostos bioativos de casca de romã, mostraram que com a utilização da água com etanol utilizando ultrassom nas condições ótimas de etanol 70%, temperatura de 60 °C e tempo de extração de 30 minutos, obteve-se a maior concentração de compostos fenólicos (86,77 mg GAE/g de amostra).

Em relação a taninos para a casca e polpa de romã (TABELAS 7 e 8) entre os solventes puros, o etanol foi o mais eficiente, extraíndo 34,2% da catequina da casca de romã e apenas 1,9% da catequina da polpa de romã. A acetona foi o segundo melhor solvente para a extração de taninos da casca (22,2%) e a água com a menor eficiência extraíndo 7%. Para a polpa, a água foi mais eficiente que a acetona na extração de taninos, correspondendo à extração de 2,4% e 1,9% dos taninos da polpa. Saad *et al.* (2012), ao realizarem extração aquosa com casca de romã seca de diferentes regiões, obtiveram para taninos de 1,5 a 7,7 mg de catequina/g de amostra seca em extrato aquoso. Çam e Hişil (2010), ao realizarem extração aquosa em casca de romã seca, encontraram para taninos 3,7 mg de catequina/g de amostra seca, e utilizando metanol como solvente obtiveram 9,2 mg de catequina/g de amostra seca.

A atividade antioxidante expressa em EC_{50} é a quantidade necessária de amostra para reduzir em 50% os radicais livres, sendo que quanto menor seu valor maior a capacidade antioxidante. Na matéria-prima (TABELA 5) podemos observar que a polpa apresentou maior atividade antioxidante que a casca. Para os extratos, o comportamento dos diferentes solventes puros foi similar nas duas matérias-primas. Ao comparar a atividade antioxidante dos extratos com os valores da matéria-prima, nota-se que o extrato da casca de romã com água pura tem menor atividade antioxidante, correspondendo a 56,1% em relação à casca seca, e o extrato aquoso da polpa de romã teve uma eficiência de extração de 45,97% em relação à polpa seca. Seguidos pela extração com etanol responsável por um extrato com 33% da atividade antioxidante da casca de romã e extrato com 21% da atividade antioxidante para a polpa de romã. A acetona foi o solvente com menor eficiência na extração dos compostos com atividade antioxidante pelo método DPPH, sendo que para a casca de romã obteve-se extrato com 14,8% da atividade antioxidante da casca, e na extração da polpa de romã obteve-se um extrato com 5,8% da atividade antioxidante da polpa de romã. Negi, Jayaprakasha e Jena (2003), ao realizarem extração de casca de romã seca em extrator soxhlet por 4 horas, obtiveram para extrato aquoso capacidade antioxidante de 956 μmol de DPPH/g de extrato. Martos *et al.* (2011), ao extraírem compostos bioativos de bagaço de romã, resíduo obtido da produção de suco em banho ultrassônico com metanol sem temperatura controlada, obtiveram atividade antioxidante por DPPH expresso em IC_{50} de 11,6%. Como os principais compostos correlacionados à atividade antioxidante na casca e polpa de romã são os compostos fenólicos, a maior quantidade de compostos no extrato com água pura condiz com a maior atividade antioxidante.

O efeito do tipo de solvente na acidez titulável do extrato de ambas as matérias-primas foi similar. Ressaltando que a polpa apresenta maior acidez titulável que a casca em relação à matéria-prima (TABELA 5). Na extração com água obteve-se o maior valor de acidez para o extrato da casca e polpa de romã, sendo 0,31 g de ac. cítrico/100 g da casca de romã e 0,71 g de ac. cítrico/100 g de polpa; seguido pela extração com etanol 0,1 g de ac. cítrico/100 g de casca e 0,19 g de ac. cítrico/100 g de polpa, sendo os extratos com acetona os de menor valor de acidez 0,08 g de ac. cítrico/100 g da casca e 0,12 g de ac. cítrico/100 g da polpa. O ácido apresenta maior solubilidade em água e etanol, por serem solventes mais polares, o que pode explicar a maior acidez nesses extratos. A acetona, por outro lado, não consegue extrair com tanta facilidade os ácidos da matéria-prima, tornando o extrato menos ácido (MOTIKAR; MORE; ARYA, 2020).

Ao quantificar a pectina obtida na casca e polpa de romã, verifica-se que a casca tem maior percentual de pectina (38,2% maior) que a polpa de romã (TABELA 6). No resíduo de extração com solventes puros a maior quantidade de pectina obtida foi com extração prévia utilizando água pura, com 77,4% da pectina da casca da romã seca antes da extração, e 61,3% da pectina da polpa de romã. Para a casca com etanol tem-se resíduo com 55,4% da pectina da casca antes da extração, e usando acetona como solvente, tem-se um resíduo com 50,5% da pectina da casca. A polpa de romã apresentou o mesmo valor para o resíduo da extração primária com etanol e acetona 50,6% em relação à matéria-prima. Yang *et al.* (2018), ao extraírem pectina da casca da romã com água quente a 86 °C e pH 1,7 por 80 minutos, encontraram um rendimento de pectina de 8,5%, e ao caracterizá-la estruturalmente sugeriram que a pectina era altamente metilada (MS = 75%). Şen, Özdemir e Uğuzdoğan (2021), ao extraírem pectina de casca de frutas variando temperatura (80; 90 °C) e ácido (citríco ou clorídrico) por 90 minutos, concluíram que o mais adequado seria usar ácido cítrico a 90 °C, ao encontrar 4,4-9,25% para casca de romã, 4,7-14,5% para casca de tangerina e 2,10-4,8% para casca de abóbora. Em ambos os relatos foi utilizada a água como solvente para a extração de pectina, porém é necessária uma temperatura alta para a extração, o que não ocorreu durante a extração dos compostos bioativos que foram extraídos a 45 °C, pois a baixa temperatura permitiu que a pectina presente na matéria-prima permanecesse no resíduo (PEREIRA *et al.*, 2016).

O grau de esterificação obtido na pectina da matéria-prima foi de aproximadamente 67% na casca de romã e 65% na polpa de romã. O grau de esterificação da pectina do resíduo de extração foi muito próximo para a extração com água e etanol na casca de romã com relação à matéria-prima, sendo 60% e 61%, respectivamente. Comportamento semelhante na polpa de romã em que a pectina do resíduo da extração com água tem um grau de esterificação de 59% e para o etanol 60%. No resíduo da extração com acetona pura da casca de romã o grau de esterificação da pectina teve a maior variação em relação à matéria-prima, sendo o grau de esterificação de 51% para o resíduo da casca e de 60% para a pectina do resíduo da polpa de romã. Güzel e Akpınar (2019), ao extraírem pectina de casca de romã utilizando solução de ácido cítrico, temperatura a 80 °C por 60 minutos, obtiveram um rendimento de 6,13% em base seca e grau de esterificação de 56,74%. Pereira *et al.* (2016), ao extraírem pectina de casca de romã variando temperatura (70 – 90 °C), tempo (40 – 150 min.) e pH (2-4), encontraram rendimento variando de 3,92 - 11,18% e grau de esterificação de 47,18 - 71,45%, demonstrando que a extração primária com solventes puros não afeta de forma considerável o grau de esterificação da pectina obtida na matéria-prima.

5.2.2 Extrações do planejamento do DCCR

Dentre os ensaios realizados com misturas de solventes para a casca de romã, o que obteve a maior concentração de compostos fenólicos em relação à matéria-prima foi o ensaio 11 (25% de etanol e 75% de água a 45 °C), extração de 111% dos compostos fenólicos quantificados na casca. E o ensaio que teve a menor extração de concentração de compostos fenólicos no extrato foi o ensaio 10 (50% de etanol, 25% de acetona e 25% de água a 45 °C) 81%. Para a polpa de romã, o ensaio que obteve maior extração e concentração de composto fenólicos foi o ensaio 3 (10% de etanol, 40% de acetona e 50% de água a 36 °C), com extração de 84,6% dos compostos fenólicos quantificados na polpa seca, assim como os ensaios 5 (10% de etanol, 10% de acetona e 80% de água a 54 °C), 11 (25% de etanol e 75% de água a 45 °C) e 14 (25% de etanol, 25% de acetona e 50% de água a 60 °C), com percentuais elevados de extração de 83%, 83,8% e 83,8%, respectivamente. O ensaio com menor concentração foi o ensaio 8 (40% de etanol, 40% de acetona e 20% de água a 54 °C), com extração de 67% dos compostos fenólicos da polpa. De acordo com os dados das Tabelas 7 e 8, observa-se que as misturas de solventes apresentaram maior rendimento de extração de compostos fenólicos que os solventes puros. O ensaio 11 (25% de etanol e 75% de água a 45 °C), na extração da casca de romã, obteve um rendimento de extração superior ao valor quantificado na amostra conforme metodologia descrita no item 4.3.8.

O tanino na casca de romã tem maior extração em relação à matéria-prima no ensaio 12 (25% de etanol, 50% de acetona e 25% de água a 45 °C), com extração de 96% dos taninos quantificados na casca de romã. O ponto central também tem valores próximos ao máximo encontrado (50% de água, 25% de etanol e 25% de acetona a 45 °C), com rendimento médio de extração de taninos de 92,7%, e o ensaio com menor concentração foi o ensaio 1 (10% de etanol, 10% de acetona e 80% de água a 36 °C), com extração de 30,3% dos taninos da casca de romã. Na polpa de romã o ensaio com maior concentração foi o 12 (25% de etanol, 50% de acetona e 25% de água a 45 °C), com a extração de 52,4% dos taninos quantificados na polpa de romã. Os ensaios 4 (40% de etanol, 40% de acetona e 20% de água a 36 °C), 8 (40% de etanol, 40% de acetona e 20% de água a 54 °C) e 10 (50% de etanol, 25% de acetona e 25% de água a 45 °C) também tiveram alta eficiência no rendimento de 42,8%, 42,4%, 47,2% da extração de taninos da casca de romã, respectivamente. O ensaio com menor eficiência foi o 11 (25% de etanol e 75% de água a 45 °C), com extração de 4,6% dos taninos da polpa de romã. Podemos observar que a eficiência da extração de taninos foi menor na polpa do que na casca

de romã e que a mistura de solventes foi mais eficiente para a extração do que solventes puros, exceto o ensaio 1 (10% de etanol, 10% de acetona e 80% de água a 36 °C).

Para a capacidade antioxidante da casca de romã das extrações com misturas de solventes, o ensaio 11 (25% de etanol e 75% de água a 45 °C) obteve maior eficiência (menor valor de EC₅₀), obtendo-se extratos com atividade antioxidante a 426% da atividade antioxidante da casca de romã seca. O ponto central (25% de etanol, 25% de acetona e 50% de água a 45 °C) obteve extratos com atividade antioxidante elevada (236% maiores que a casca). No ensaio 8 obteve-se um extrato com menor atividade antioxidante (40% de etanol, 40% de acetona e 20% de água a 54 °C), que corresponde a 69% da atividade antioxidante da casca. Para a polpa de romã, também nas condições do ensaio 11 (25% de etanol e 75% de água a 45 °C) obteve-se o extrato com maior capacidade antioxidante, 877% superior a atividade antioxidante da polpa seca por DPPH. E extratos com menor capacidade antioxidante foi no ponto central (25% de etanol, 25% de acetona e 50% de água a 45 °C), sendo a média da capacidade antioxidante do extrato 59% da atividade antioxidante da polpa de romã seca. Podemos observar que todos os ensaios com misturas de solventes apresentaram maior eficiência na capacidade antioxidante em relação aos solventes puros, e no melhor ensaio para ambas as amostras foi mais eficiente que a extração padrão realizada na matéria-prima

Na acidez titulável do extrato para a casca de romã obteve-se o maior valor no ensaio 14 (25% de etanol, 25% de acetona e 50% de água a 60 °C) com 0,44 g de ac. cítrico/100 g de casca, e os extratos com menores acidez foram obtidos nos ensaios 8 (40% de etanol, 40% de acetona e 20% de água a 54 °C) e 10 (50% de etanol, 25% de acetona e 25% de água a 45 °C), correspondendo a 0,25 g de ac. cítrico/100 g de casca. Já para a polpa de romã, a maior acidez do extrato foi obtido no ensaio 3 (10% de etanol, 40% de acetona e 50% de água a 36 °C), com extrato 0,73 g de ac. cítrico/100 g de polpa, e a menor acidez no ensaio 8 (40% de etanol, 40% de acetona e 20% de água a 54 °C), com 0,5 g de ac. cítrico/100 g de casca.

A pectina obtida a partir dos resíduos de extração para casca de romã teve o maior percentual no ensaio 11 (25% de etanol, 75% de água a 45 °C), em que 86% da pectina da casca foi extraída no resíduo, seguido pelo ensaio 9 (25% de acetona, 75% de água a 45 °C), com 84,5%, e o ensaio 1 (10% de etanol, 10% de acetona e 80% de água), com 80% da pectina da casca extraída no resíduo, respectivamente; e no ensaio 10 (50% de etanol, 25% de acetona e 25% de água a 45 °C) obteve-se a menor quantidade de pectina extraída do resíduo, com 44,8% da pectina da casca. Para a polpa de romã, a maior concentração foi no ensaio 9 (25% de acetona e 75% de água a 45 °C), sendo que 99,7% da pectina da polpa foi extraída do resíduo, seguido pelo ensaio 5 (10% de etanol, 10% de acetona e 80% de água a 54 °C), com 96% de pectina no

resíduo. No ensaio 2 (40% de etanol, 10% de acetona e 50% de água a 36 °C) tem-se a condição com menor percentual de pectina no resíduo, sendo 51,1% da pectina da casca.

O grau de esterificação da pectina tanto da casca como da polpa obtida da extração do resíduo com misturas de solventes foi inferior ao da pectina da matéria-prima. No ensaio 7 (10% de etanol, 40% de acetona e 50% de água a 54 °C) obteve-se pectina do resíduo com maior grau de esterificação, e o menor grau de esterificação foi da pectina extraída do resíduo do ensaio 2 (40% de etanol, 10% de acetona e 50% de água a 36 °C), sendo de 50,37%. Para a polpa de romã, o grau de esterificação da pectina extraída do resíduo foi muito próximo em todos os ensaios com o percentual em relação à polpa seca (64,5%), variando de 57,04% a 63,32%.

5.2.3 Análise estatística do DCCR do processo de extração

A análise estatística dos resultados experimentais do DCCR permitiu o ajuste de modelos para descrever o comportamento das variáveis independentes. Nas Tabelas 9 e 10 têm-se os valores dos coeficientes de regressão, e seus respectivos p-valores, e a coeficiente de determinação (R^2) para as variáveis respostas compostos fenólicos, taninos, atividade antioxidante (expresso em EC_{50}) do extrato e quantificação da pectina do resíduo e respectivo grau de esterificação para casca e polpa de romã, respectivamente.

Tabela 9 - Estimativa do coeficiente de regressão (C.R.) e p-valor para compostos fenólicos (CF), taninos, atividade antioxidante (EC₅₀), acidez titulável (AT) do extrato e pectina e grau de esterificação (GE) da pectina do resíduo de extração da casca de romã.

	CF [mg GAE/ g amostra] (R ² = 0,83)		Tanino [mg CE/ g amostra] (R ² = 0,92)		AA (EC ₅₀) [g de amostra/g DPPH] (R ² = 0,89)		AT [g ácido cítrico/100mL] (R ² = 0,55)		Pectina [%] (R ² = 0,77)		GE [%] (R ² = 0,69)	
	C.R	p-valor	C.R.	p-valor	C.R.	p-valor	C.R.	p-valor	C.R.	p-valor	C.R.	p-valor
Média	105,955	0,000	39,344	0,000	12,790	0,005	0,349	0,000	5,389	0,000	58,713	0,000
X₁(L)	-6,276*	0,004*	3,562*	0,011*	1,951	0,230	-0,017	0,261	-0,782*	0,010*	-1,323	0,138
X₁(Q)	-2,038	0,250	-5,986*	0,001*	4,036*	0,043*	-0,019	0,246	0,087	0,732	0,906	0,333
X₂(L)	-4,574*	0,017*	4,399*	0,004*	6,788*	0,002*	-0,013	0,356	-0,668*	0,020*	0,759	0,369
X₂(Q)	1,088	0,525	-3,158*	0,029*	1,923	0,277	-0,021	0,209	0,185	0,477	1,564	0,116
X₃(L)	-0,632	0,682	1,119	0,322	0,487	0,752	0,007	0,611	-0,193	0,417	1,243	0,160
X₃(Q)	1,532	0,378	-7,693*	0,000*	8,707*	0,001*	0,007	0,631	0,119	0,642	-0,768	0,407
X₁ X₂	-2,836	0,185	0,811	0,573	2,435	0,249	-0,016	0,392	0,341	0,281	1,449	0,204
X₁ X₃	1,261	0,534	-0,617	0,828	1,835	0,375	0,006	0,736	0,169	0,581	0,956	0,386
X₂ X₃	-1,681	0,412	39,345	0,000	2,757	0,197	-0,014	0,465	0,121	0,691	-0,644	0,553

X₁ variável codificada da fração mássica do etanol, X₂ variável codificada da fração mássica da acetona, X₃ é a temperatura codificada, L indica o termo linear e Q indica o termo quadrático. (*) indicam variáveis estatisticamente significativas, a 5% de significância.

Fonte: Da autora (2022).

Tabela 10 - Estimativa do coeficiente de regressão (C.R.) e p-valor para compostos fenólicos (CF), taninos, atividade antioxidante (EC₅₀), acidez titulável (AT) do extrato e pectina e grau de esterificação (GE) da pectina do resíduo de extração da polpa de romã.

	CF [mg GAE/ g amostra] (R ² = 0,93)		Tanino [mg CE/ g amostra] (R ² = 0,94)		AA (EC ₅₀) [g de amostra/g DPPH] (R ² = 0,97)		AT [g ácido cítrico/100mL] (R ² = 0,62)		Pectina [%] (R ² = 0,82)		GE [%] (R ² = 0,89)	
	C.R.	p-valor	C.R.	p-valor	C.R.	p-valor	C.R.	p-valor	C.R.	p-valor	C.R.	p-valor
Média	166,828	0,000	4,300	0,001	27,098	0,000	0,634	0,000	3,813	0,000	61,713	0,000
X₁(L)	-7,606*	0,000*	2,377*	0,000*	3,003*	0,001*	-0,034	0,054	-0,476*	0,034*	0,136	0,561
X₁(Q)	-4,041*	0,017*	0,545	0,213	-4,656*	0,000*	-0,008	0,625	0,699*	0,010*	-0,076	0,766
X₂(L)	-5,268*	0,003*	2,444*	0,000*	4,750*	0,000*	-0,017	0,292	-0,012	0,948	0,265	0,274
X₂(Q)	-2,095	0,152	0,722	0,112	-5,823*	0,000*	-0,008	0,625	0,609*	0,018*	0,642*	0,035*
X₃(L)	-1,288	0,313	-0,111	0,768	-1,064	0,094	-0,007	0,635	0,001	0,996	0,174	0,461
X₃(Q)	1,489	0,291	-0,251	0,548	-2,295*	0,007*	0,006	0,722	0,198	0,352	-1,276*	0,001*
X₁ X₂	-4,181*	0,031*	1,241*	0,033*	-0,009	0,991	-0,036	0,099	0,489	0,077	0,656	0,059
X₁ X₃	-1,989	0,239	0,084	0,864	0,469	0,535	-0,006	0,752	0,284	0,268	0,229	0,459
X₂ X₃	-2,706	0,124	-0,031	0,949	2,039*	0,025*	-0,009	0,659	-0,369	0,162	0,269	0,388

X₁ variável codificada da fração mássica do etanol, X₂ variável codificada da fração mássica da acetona, X₃ é a temperatura codificada, L indica o termo linear e Q indica o termo quadrático. (*) indicam variáveis estatisticamente significativas, a 5% de significância.

Fonte: Da autora (2022).

Os modelos que apresentaram elevados coeficientes de determinação indicam um bom ajuste aos dados experimentais. Isso foi observado para compostos fenólicos ($R^2=0,83$ para casca; $R^2=0,93$ para polpa), taninos ($R^2=0,92$ para casca; $R^2=0,94$ para polpa), atividade antioxidante ($R^2=0,89$ para casca; $R^2=0,97$ para polpa) e pectina ($R^2=0,77$ para casca; $R^2=0,82$ para polpa) da casca e polpa de romã, assim como o grau de esterificação ($R^2=0,89$) da polpa de romã. A acidez titulável ($R^2=0,55$ para casca; $R^2=0,62$ para polpa) para ambas as amostras e o grau de esterificação ($R^2=0,69$) para a casca de romã, por outro lado, apresentaram coeficientes de determinação baixos. Também foi considerado para avaliar a significância para as variáveis o p-valor menor que 0,05 e o $F_{\text{calculado}}$ maior que o F_{tabelado} para a regressão que pode ser observado nas Tabelas de ANOVA que se encontram no Apêndice A, que nesse caso foi considerado o modelo completo (RODRIGUES; IEMMA, 2014).

5.2.4 Compostos fenólicos

Em relação aos compostos fenólicos da casca de romã (TABELA 9) verifica-se que os efeitos estatisticamente significativos foram o termo linear da fração mássica do etanol (X_1) e da fração mássica da acetona (X_2). Para a polpa de romã (TABELA 10) verifica-se que os efeitos estatisticamente significativos foram o termo linear e quadrático do etanol (X_1 ; X_1^2), o termo linear da acetona (X_2) e a interação entre o etanol e a acetona ($X_1.X_2$), sendo que os coeficientes de regressão dos termos lineares da fração mássica de etanol e da fração mássica da acetona na casca quanto na polpa foram negativos. Para a polpa, o coeficiente de regressão do termo quadrático da fração mássica de etanol foi negativo, indicando um ponto de máximo na região de estudo. Ao observar o efeito da interação entre fração mássica do etanol e fração mássica da acetona para elevadas concentrações de acetona, tem-se que o uso de etanol diminui o rendimento. Podemos observar que a temperatura não foi significativa para ambas as amostras, indicando a possibilidade de realizar as extrações em temperaturas menores.

Ao observar os gráficos na Figura 3 A e B podemos notar que uma menor fração mássica de etanol juntamente com uma maior fração mássica de acetona aumenta a concentração de compostos fenólicos tanto para casca quanto para polpa de romã. E uma menor porcentagem de ambos também aumenta a concentração de compostos fenólicos, indicando que suas misturas em baixa concentração são indicadas para a obtenção de compostos fenólicos para casca e polpa de romã. Ao realizar a análise do ponto de cela pelo *software* Statistica, utilizando a função de ponto crítico, em relação às variáveis para a casca de romã, identificamos a condição 0% de etanol, 39,07% de acetona, 60,93% de água e temperatura de 57,96 °C como melhor rendimento

para extração de compostos fenólicos. E para a polpa, o ponto crítico identificado foi com 15,04% de etanol, 19,44% de acetona e 65,52% de água a 41,87 °C.

Da Silveira *et al.* (2020), no estudo da extração de compostos fenólicos de bacaba utilizando misturas de solventes, identificaram a melhor condição de extração como água: acetona: etanol (16,7:66,7:16,7), em que a extração da maioria dos compostos fenólicos e a capacidade antioxidante acorreram. E Cruz *et al.* (2021), ao otimizarem a extração de compostos fenólicos de ora-pro-nóbis utilizando misturas de solventes (água, etanol e acetona), a metodologia de superfície de resposta aplicada para modelar os resultados identificou a mistura 60% de água, 40% de etanol e 0% de acetona como o extrato otimizado. Esse comportamento se deve à interação dos compostos fenólicos com os diferentes solventes, sendo que cada qual apresenta maior solubilidade por fenólicos distintos, dependendo da matéria-prima e a variedade de compostos pertencentes à classe dos fenóis. A polaridade do composto pode indicar qual solvente ou qual proporção de solventes permitiria a extração em maior quantidade e diversidade de compostos de interesse (MORZELLE, 2012).

A Tabela 11 apresenta os modelos estatísticos completos para descrever a influência das variáveis independentes codificadas na variável resposta compostos fenólicos. Com o uso desses modelos foi possível gerar gráficos de superfície de respostas (Figuras 3), sendo que as superfícies de resposta foram plotadas fixando a terceira variável codificada no ponto central ($X_i = 0$).

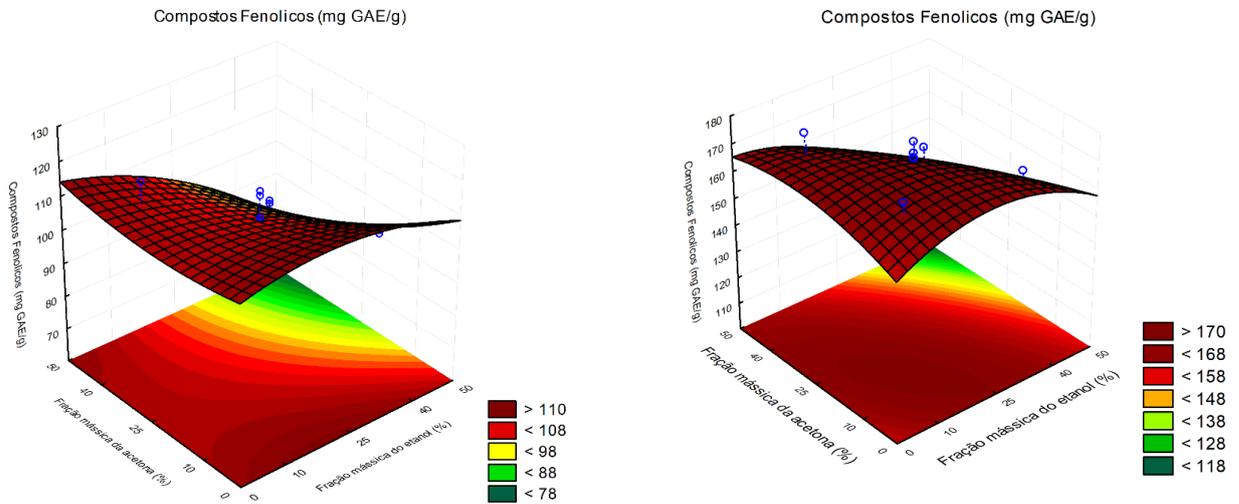
Tabela 11 - Modelo estatístico para resposta compostos fenólicos.

Compostos para casca de romã	fenólicos	$CF = 105,95 - 6,28X_1 - 2,04X_1^2 - 4,57X_2 + 1,09X_2^2 - 0,63X_3 + 1,53X_3^2 - 2,84X_1X_2 + 1,26X_1X_3 - 1,68X_2X_3$
Compostos para polpa de romã	fenólicos	$CF = 166,83 - 7,61X_1 - 4,04X_1^2 - 5,27X_2 - 2,10X_2^2 - 1,29X_3 + 1,49X_3^2 - 4,18X_1X_2 - 1,99X_1X_3 - 2,71X_2X_3$

X_1 ; X_1^2 variável codificada da fração mássica do etanol, X_2 ; X_2^2 variável codificada da fração mássica da acetona, X_3 ; X_3^2 é a temperatura codificada para os termos linear e quadrático, respectivamente.

Fonte: Da autora (2022).

Figura 3 - Superfície de resposta para compostos fenólicos da casca de romã (A) e polpa de romã (B) em função da fração mássica da acetona e a fração mássica do etanol.
 (A) Casca de romã (B) Polpa de romã



Fonte: Da autora (2022).

5.2.5 Taninos

Na Tabela 9 verifica-se que os efeitos significativos para taninos na casca de romã foram os termos linear e quadrático para a fração mássica do etanol (X_1 ; X_1^2) e fração mássica da acetona (X_2 ; X_2^2) e o termo quadrático da temperatura (X_3^2). Os termos quadráticos de todas as variáveis independentes foram significativos e os coeficientes de regressão negativos, indicando que na região de estudo a superfície de resposta terá uma curva com ponto de máximo (Gráficos A e B da FIGURA 4). Na extração de taninos da polpa de romã (TABELA 10) os efeitos significativos foram os termos lineares da fração mássica do etanol (X_1) e da fração mássica da acetona (X_2) e termo da interação entre a fração mássica do etanol e fração mássica da acetona ($X_1.X_2$), sendo que as condições de maiores eficiências são para misturas com menor teor de umidade, e misturas com concentrações elevadas de etanol e acetona, o que pode ser observado melhor na Figura 4. Extrações realizadas com misturas, com frações mássicas maiores de etanol e acetona, correspondendo a baixas frações mássicas de água, favorecem a extração de taninos, visto que a solubilizados destes compostos são mais solúveis em solventes com menor polaridade devido a sua estrutura molecular (BEN-ALI *et al.*, 2018). Na Figura 4 A; B; C pode ser observado o efeito das variáveis independentes na extração dos taninos da casca de romã em que se observa um ponto de máximo, onde misturas com fração mássica de acetona e etanol na região entre 25 e 40% e temperaturas na faixa de 36 a 54 °C são regiões em que se têm os maiores rendimentos da extração de taninos. Para a polpa de romã, na Figura 4

D pode-se observar um gráfico mais plano devido à significância dos termos lineares e que a região analisada de maior eficiência na extração de taninos corresponde a misturas com fração elevada de etanol e acetona, na ausência de água.

Ao analisar o ponto crítico em relação às variáveis utilizando o *software* Statistica, para a casca de romã identificamos a condição 30,19% de etanol, 36,26% de acetona, 33,55% de água e temperatura de 45,88 °C como melhor rendimento para extração de taninos. E para a polpa as condições com melhor resultado foi com 50% de etanol, 50% de acetona e 0% de água a 33,12 °C.

Kandi e Charles (2018), ao analisarem a solubilidade de epicatequina e polifenol, em diferentes solventes (etanol 75%, acetona, água e metanol), demonstraram que o etanol a 75% e a acetona foram considerados solventes eficazes para solubilizar a epicatequina em função da temperatura (25 a 65 °C), devido à melhor interação entre os solventes e as moléculas de interesse. Podemos observar que a temperatura foi significativa apenas para a casca de romã e que temperaturas intermediárias favorecem o rendimento da extração de taninos. Para a polpa não houve significância indicando a possibilidade de se utilizar temperaturas menores durante a extração.

A Tabela 12 apresenta os modelos estatísticos completos para descrever a influência das variáveis independentes codificadas na variável resposta extração de taninos. Com o uso desses modelos foi possível gerar gráficos de superfície de respostas (FIGURAS 4), sendo que as superfícies de resposta foram plotadas fixando a terceira variável no ponto central ($X_i = 0$).

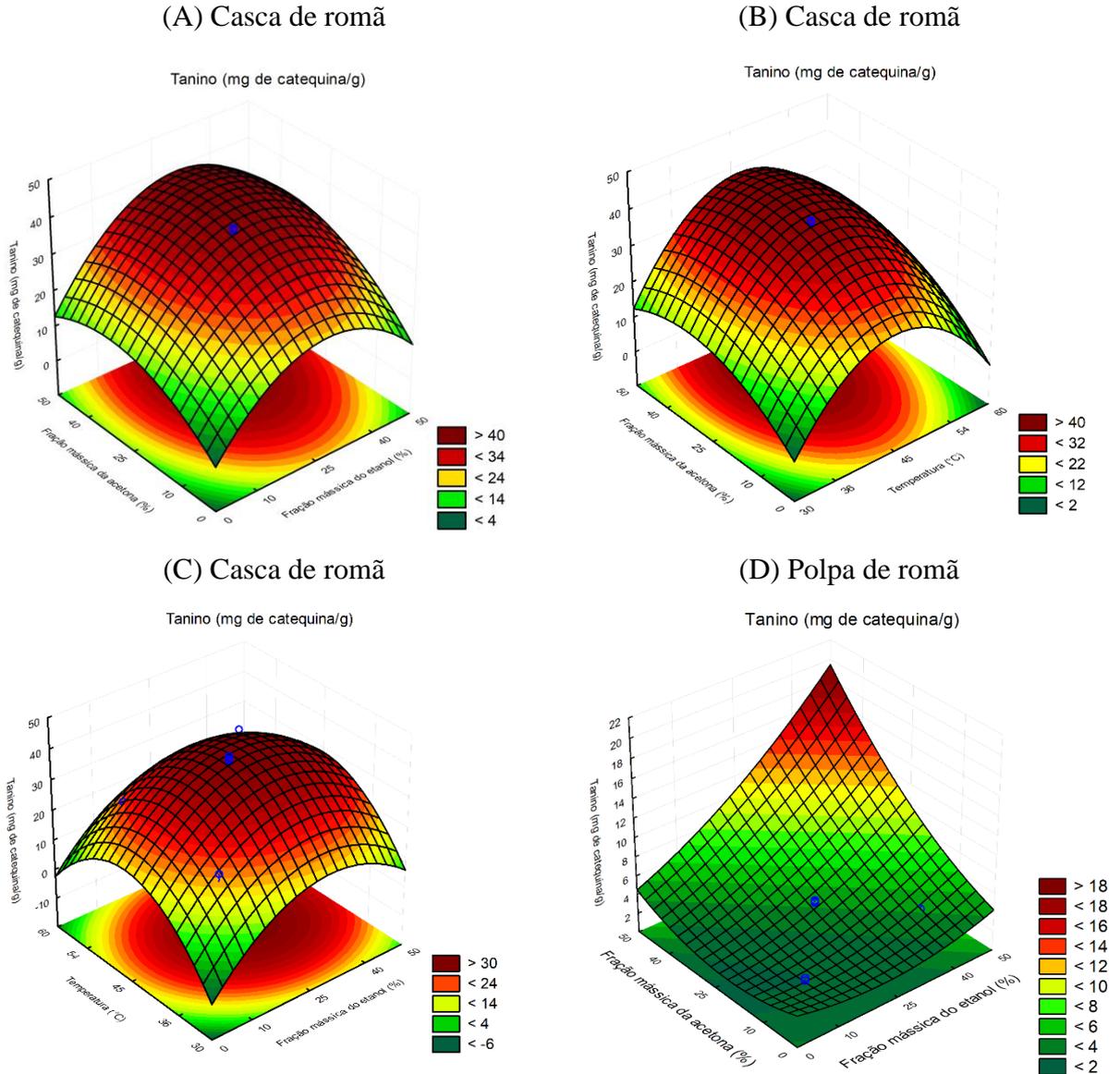
Tabela 12 - Modelo estatístico para resposta taninos.

Taninos para casca de romã	$T = 39,34 + 3,56X_1 - 5,98X_1^2 + 4,40X_2 - 3,16X_2^2 + 1,12X_3 - 7,69X_3^2 + 0,81X_1X_2 - 0,31X_1X_3 + 0,65X_2X_3$
Taninos para polpa de romã	$T = 4,30 + 2,38X_1 + 0,54X_1^2 + 2,44X_2 + 0,72X_2^2 - 0,11X_3 - 0,25X_3^2 + 1,24X_1X_2 + 0,08X_1X_3 - 0,03X_2X_3$

X_1 ; X_1^2 variável codificada da fração mássica do etanol, X_2 ; X_2^2 variável codificada da fração mássica da acetona, X_3 ; X_3^2 é a temperatura codificada para os termos linear e quadrático, respectivamente.

Fonte: Da autora (2022).

Figura 4 - Superfície de resposta para extração de tanino na casca de romã em função da fração mássica do etanol e fração mássica da acetona (A), da fração mássica da acetona e temperatura (B) e temperatura e fração mássica do etanol (C) e extração de taninos na polpa de romã em função da fração mássica do etanol e fração mássica da acetona (D).



Fonte: Da autora (2022).

5.2.6 Atividade antioxidante

Para a casca de romã (TABELA 9) observa-se que os efeitos significativos foram os termos quadráticos da fração mássica do etanol (X_1^2) e da temperatura (X_3^2) e o termo linear da fração mássica da acetona (X_2). Os coeficientes dos termos quadráticos com efeitos significativos são positivos, correspondendo a superfícies de respostas com ponto de mínimo, e que corresponde a valores menores de EC_{50} e atividade oxidante máxima (Gráficos A, B e C

da FIGURA 5). Para a polpa de romã (TABELA 10) os efeitos significativos foram os termos linear (X_1 ; X_2) e quadrático da fração mássica do etanol, acetona e temperatura (X_1^2 ; X_2^2 ; X_3^2), assim como a interação entre a fração mássica da acetona e temperatura ($X_2.X_3$). Como os coeficientes dos termos quadráticos foram negativos, indica a tendência de superfícies respostas no formato de curvas com pontos de máximo, no entanto, como para a atividade antioxidante valores menores indicam maior atividade antioxidante, o ponto crítico e respectiva região de máximo correspondem a condições de menor atividade antioxidante do extrato. As regiões com extratos com maior atividade antioxidante correspondem as regiões de mínimo, localizada nos extremos onde os valores de EC_{50} são menores (Gráficos D, E e F da FIGURA 5).

No gráfico A da Figura 5 observa-se que a região com maior atividade antioxidante (região de tonalidade mais verde) para a casca de romã corresponde a um menor valor da fração mássica de acetona e valores intermediários de fração mássica de etanol (25%), obtendo-se, nessa região, os valores menores em g de amostra/ g de DPPH que indicam maior capacidade antioxidante. No gráfico B da Figura 5 também podemos observar que temperatura próxima a do ponto central (45 °C) e a região da fração mássica do etanol próxima ao ponto central (25%) correspondem às condições onde se tem a maior eficiência na extração de compostos antioxidante, e o gráfico C da Figura 5 confirma as afirmações anteriores ao demonstrar que quanto menor o percentual de acetona maior a atividade antioxidante na região de temperatura próxima ao ponto central de 45 °C.

Para a polpa de romã observa-se no gráfico D da Figura 5 que misturas da fração mássica do etanol e água e menor percentual de fração mássica da acetona aumentam a atividade antioxidante. Sendo que, na ausência de ambos os solventes, há melhor atividade antioxidante. No gráfico E da Figura 5 observam-se que maiores rendimentos da extração de antioxidantes estão na região de temperaturas mais elevadas em menores concentração de etanol ocorre a melhor atividade antioxidante, e no gráfico (F) da Figura 5 podemos observar que em maiores temperaturas e menor fração mássica de acetona há maior atividade antioxidante.

Ao analisar o ponto crítico pelo *software* Statistica em relação às variáveis para a casca de romã, identificamos a condição 25% de etanol, 25% de acetona, 50% de água e temperatura de 45 °C como melhor rendimento para atividade antioxidante por EC_{50} , valor de EC_{50} mínimo. E para a polpa o ponto crítico identificado foi com 20,26% de etanol, 23,14% de acetona e 43,40% de água a 42,29 °C.

Os resultados indicam uma diferença no efeito das variáveis independentes entre as amostras. Para a casca de romã o ponto crítico de mínimo corresponde à condição de obtenção do extrato com maior atividade antioxidante. Para a polpa de romã, percentuais menores de

etanol e acetona, tendendo a extração com maior concentração de água e temperaturas mais elevadas, há uma maior atividade antioxidante. Luis *et al.* (2012), ao extraírem compostos bioativos de folha de *Ailanthus altissima*, utilizando extratos brutos etanólico, metanólico, acetona e hidroalcoólico, concluíram que a mistura de água e etanol é o melhor solvente para extrair substâncias com atividade antioxidante. Felix *et al.* (2018), ao extraírem compostos fenólicos totais de resíduos agroindustriais de bagaço de *Spondias mombin L*, a fim de preservar sua atividade antioxidante, utilizando mistura de solventes (água, etanol e acetona) e temperatura (10 – 110 °C), encontraram condição ótima para o maior rendimento de antioxidante com água (60,84%), acetona (30,31%) e etanol (8,85%) a 30 °C, demonstrando que extratos com alto percentual de água são melhores para a extração de compostos antioxidantes, em diferentes tipos de matrizes.

A Tabela 13 apresenta os modelos estatísticos para descrever a influência das variáveis independentes codificadas na variável resposta atividade antioxidante. Com o uso desses modelos foi possível gerar gráficos de superfície de respostas (FIGURAS 5), sendo que as superfícies de respostas foram plotadas fixando a terceira variável no ponto central ($X_i = 0$).

Tabela 13 - Modelo estatístico para resposta atividade antioxidante.

Atividade antioxidante para casca de romã	$AA = 12,80 - 1,95X_1 - 4,04X_1^2 - 6,79X_2 - 1,92X_2^2 - 0,49X_3 - 8,71X_3^2 - 2,43X_1X_2 - 1,83X_1X_3 - 2,76X_2X_3$
Atividade antioxidante para casca de romã	$AA = 27,10 - 3,00X_1 + 4,65X_1^2 - 4,75X_2 + 5,82X_2^2 + 1,06X_3 + 2,29X_3^2 + 0,01X_1X_2 - 0,47X_1X_3 - 2,04X_2X_3$

X_1 ; X_1^2 variável codificada da fração mássica do etanol, X_2 ; X_2^2 variável codificada da fração mássica da acetona, X_3 ; X_3^2 é a temperatura codificada para os termos linear e quadrático, respectivamente.

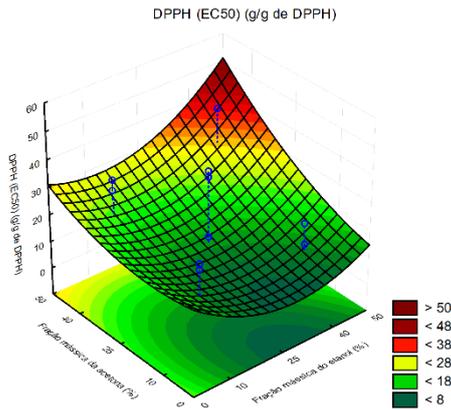
Fonte: Da autora (2022).

Figura 5 - Superfície de resposta para atividade antioxidante por DPPH (EC₅₀) para casca e polpa de romã em função da fração mássica da acetona e fração mássica do etanol, da fração mássica da acetona e temperatura e temperatura e fração mássica do etanol.

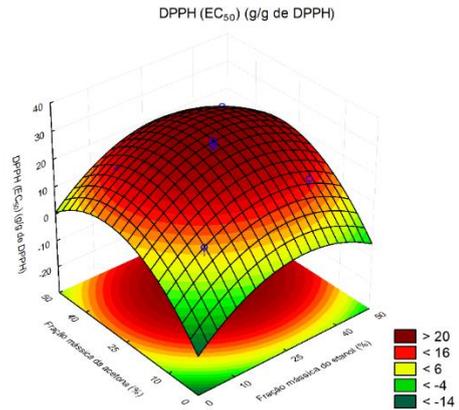
A;B;C para a casca de romã

D;E;F para a polpa de romã

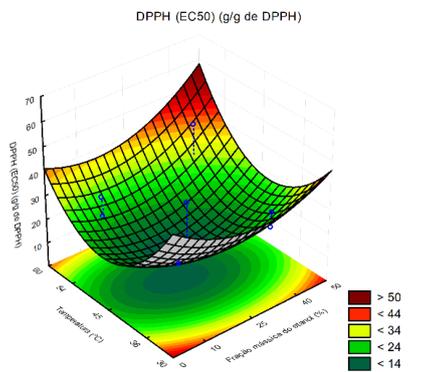
(A)



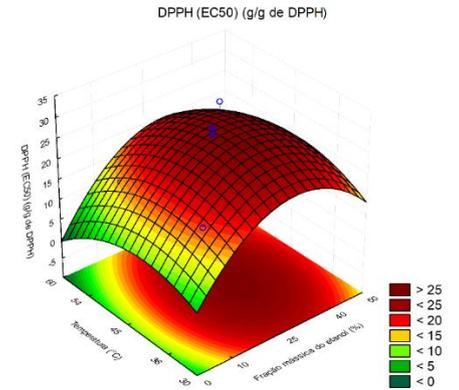
(D)



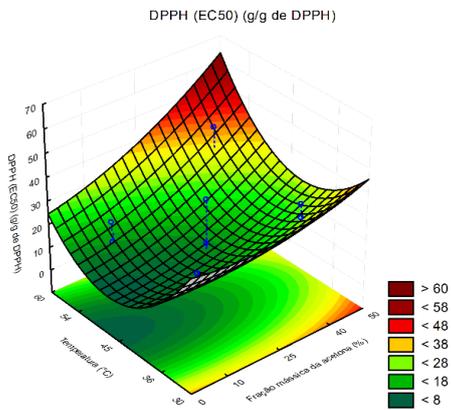
(B)



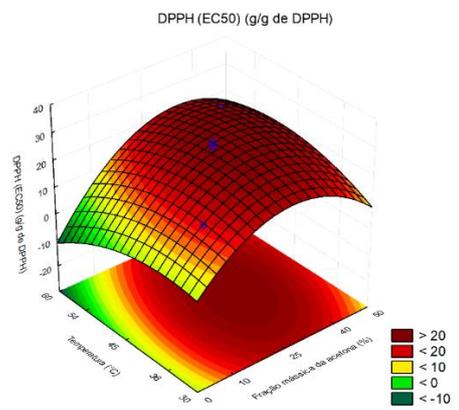
(E)



(C)



(F)



Fonte: Da autora (2022).

5.2.7 Acidez titulável

Para a acidez titulável, nenhum dos efeitos dos parâmetros foi significativo para o nível de significância de 95%, para ambas as amostras. O coeficiente de determinação para o modelo com todos os parâmetros foi de 0,55 para a casca e 0,62 para a polpa de romã, sendo valores baixos para ajuste do modelo. $F_{\text{calculado}}$ menor que o F_{tabelado} em todas as variáveis, vide Tabelas de ANOVA no Apêndice A. Com isso, não foi possível gerar os gráficos e nem o ajuste do modelo, devido à baixa confiabilidade dos dados.

5.2.8 Pectina

Para a variável resposta pectina do resíduo da casca de romã foram significativos os efeitos dos termos lineares da fração mássica do etanol (X_1) e da fração mássica da acetona (X_2). Os coeficientes dos termos lineares significativos são negativos, indicando que o uso de misturas com menores frações mássicas de etanol e de acetona rende resíduos com maior concentração de pectina, ou seja, tem-se uma menor perda de pectina no extrato nessas condições (TABELA 9). Para a polpa de romã (TABELA 10) foram significativos os efeitos dos termos linear (X_1) e quadrático da fração mássica do etanol (X_1^2) e no termo quadrático da fração mássica da acetona (X_2^2). Como os coeficientes dos termos quadráticos significativos foram positivos, indicando tendência de curvas de superfície resposta com ponto de mínimo na região estudada, como observa-se no Gráfico B da Figura 6, sendo as regiões de maiores concentrações de pectina no resíduo se encontram nos extremos da região de mínimo. Na Figura 6 A para casca de romã, os menores percentuais ou a ausência da fração mássica tanto da acetona quanto do etanol apresentam a maior concentração de pectina no resíduo da extração da casca de romã. Ambas as amostras misturas com frações mássicas menores de etanol e acetona apresentam maior concentração de pectina nos resíduos de extração. O que também foi identificado por Monsoor e Proctor (2001) ao extraírem pectina de casca de soja em diferentes proporções de solventes, os quais concluíram que a relação casca/solvente de extração não afetou significativamente o teor de pectina e o grau de esterificação.

O ponto crítico, ponto de mínimo, obtido pelo *software* Statística para a pectina em relação às variáveis para a casca de romã foi 8,36% de etanol, 66,55% de acetona, 25,09% de água e temperatura de 46,67 °C. E para a polpa o ponto crítico identificado foi com 37,77% de etanol, 14,21% de acetona e 48,02% de água a 33,47 °C. Como o ponto obtido é de mínimo e

desejamos o máximo rendimento de extração de pectina, o ponto e a região não são condições de interesse para o processo de extração de pectina do resíduo.

A Tabela 14 apresenta os modelos estatísticos para descrever a influência das variáveis independentes codificadas na variável resposta pectina. Com o uso desses modelos foi possível gerar gráficos de superfície de respostas (FIGURAS 6), sendo que as superfícies de resposta foram plotadas fixando a terceira variável no ponto central ($X_i = 0$).

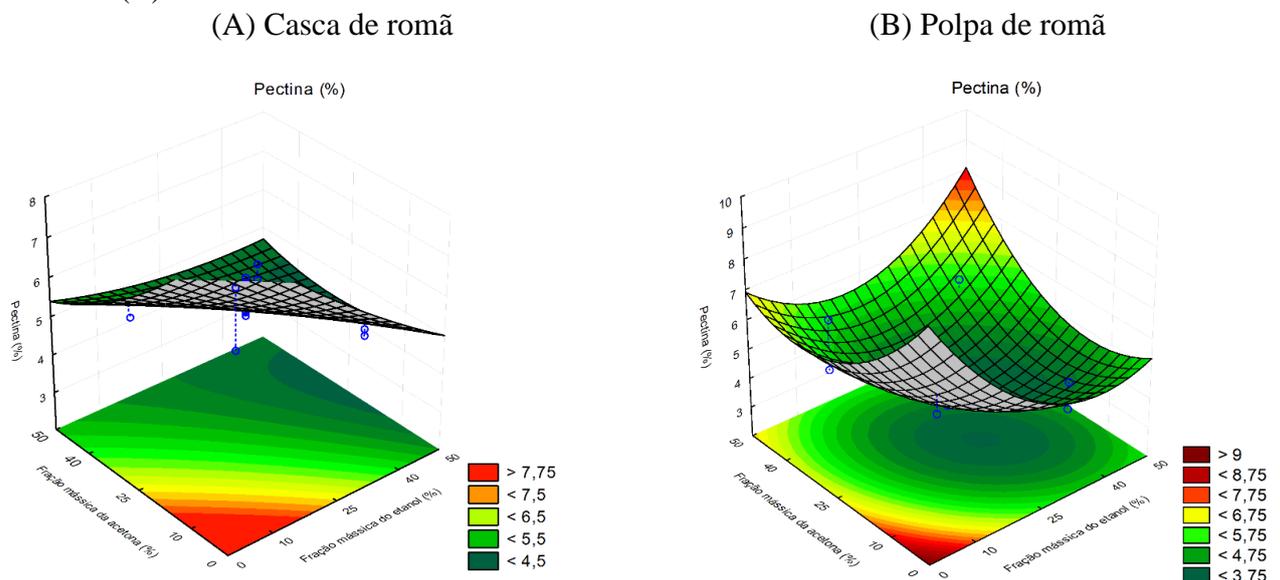
Tabela 14 - Modelo estatístico para resposta pectina.

Pectina para casca de romã	$P = 5,39 - 0,78X_1 + 0,09X_1^2 - 0,67X_2 + 0,18X_2^2 - 0,19X_3 + 0,12X_3^2 + 0,34X_1X_2 + 0,17X_1X_3 + 0,12X_2X_3$
Pectina para casca de romã	$P = 3,81 - 0,47X_1 + 0,70X_1^2 - 0,01X_2 + 0,61X_2^2 + 0,001X_3 + 0,20X_3^2 + 0,49X_1X_2 + 0,28X_1X_3 - 0,37X_2X_3$

X_1 ; X_1^2 variável codificada da fração mássica do etanol, X_2 ; X_2^2 variável codificada da fração mássica da acetona, X_3 ; X_3^2 é a temperatura codificada para os termos linear e quadrático, respectivamente.

Fonte: Da autora (2022).

Figura 6 - Superfície de resposta para e pectina da casca de romã em função da fração mássica do etanol e a fração mássica da acetona (A) e superfície de resposta para pectina da polpa de romã em função da fração mássica do etanol e a fração mássica da acetona (B).



Fonte: Da autora (2022).

5.2.9 Grau de esterificação

Para a variável resposta grau de esterificação da pectina extraída do resíduo da extração da casca de romã nenhum dos efeitos do modelo foi significativo (p-valor maior que 0,05). Para

a polpa de romã, os efeitos dos termos quadráticos da fração mássica da acetona (X_2^2) e temperatura (X_3^2) foram significativos ($p < 0,05$), sendo positivo o coeficiente do termo quadrático da acetona, indicando que os extremos da curva terão maior grau de esterificação e o termo quadrático da temperatura negativo indica pontos de máximo para o efeito da temperatura nas faixas intermediárias com maior grau de esterificação. O grau de esterificação da pectina extraída do resíduo da polpa de romã (FIGURA 7) foi maior nas extrações realizadas em faixas de temperatura próximas do ponto central (45 °C) e em regiões com maior ou menor fração mássica da acetona. Freitas *et al.* (2020), ao revisarem os parâmetros operacionais que envolvem a extração de pectina e sua estrutura, relatam que altas temperaturas têm efeito redutor no grau de esterificação, indicando que temperaturas intermediárias são mais adequadas para manter a estrutura pectínica.

O ponto crítico, ponto de máximo, obtido para grau de esterificação da pectina em relação à polpa de romã foi 25,15% de etanol, 21,67% de acetona e 53,18% de água a 45,41 °C.

A Tabela 15 apresenta o modelo estatístico para descrever a influência das variáveis independentes codificadas na variável resposta grau de esterificação da pectina extraída do resíduo da polpa de romã. Com o uso desse modelo foi possível gerar gráfico de superfície de respostas (FIGURA 7), sendo que as superfícies de respostas foram plotadas fixando a terceira variável no ponto central ($X_i = 0$).

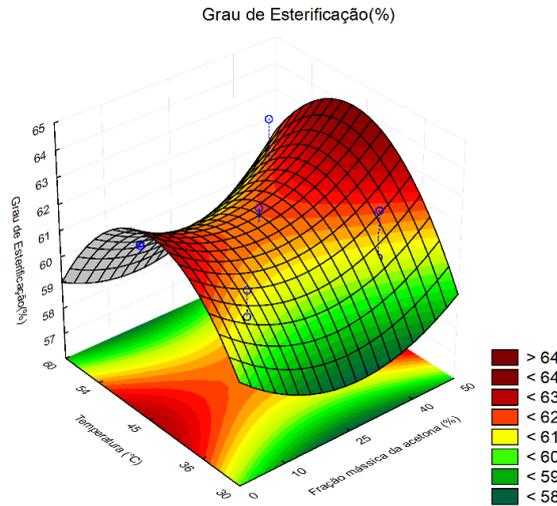
Tabela 15 - Modelo estatístico para resposta grau de esterificação.

Grau de esterificação para polpa de romã	$GE = 61,71 + 0,14X_1 - 0,08X_2^2 + 0,26X_2 + 0,64X_2^2 + 0,17X_3 - 1,27X_3^2 + 0,66X_1X_2 + 0,23X_1X_3 + 0,27X_2X_3$
---	---

X_1 ; X_1^2 variável codificada da fração mássica do etanol, X_2 ; X_2^2 variável codificada da fração mássica da acetona, X_3 ; X_3^2 é a temperatura codificada para os termos linear e quadrático, respectivamente.

Fonte: Da autora (2022).

Figura 7 - Superfície de resposta para grau de esterificação da polpa de romã em função da fração mássica da acetona e temperatura.



5.2.10 Otimização

Ao utilizar o *software* Statistica e a função de ponto crítico, considerando as respostas que foram estatisticamente significativas, foi realizada a otimização da extração de compostos bioativos e pectina do resíduo de extração encontrando os parâmetros que apresentam melhor eficiência para a casca e polpa de romã. Sendo 30,75% de etanol, 0% de acetona e temperatura de 50,86 °C para a casca de romã e 19,98% de etanol, 33,55% de acetona a 57,28 °C de temperatura para a polpa de romã. O que demonstra que para a casca de romã a ausência de acetona, maior percentual de água e temperatura elevada favorecem a extração e para a polpa a mistura de solvente, com a água também em maior concentração e temperatura elevada seria a melhor opção para a extração de compostos bioativos e pectina do resíduo.

6 CONCLUSÃO

A casca e polpa de romã apresentam alta concentração de compostos fenólicos, taninos e capacidade antioxidante na matéria-prima após a secagem. A concentração de compostos fenólicos na casca de romã foi de 112,41 mg de GAE/g de amostra e para a polpa 207,37 mg de GAE/g de amostra, teor de taninos na casca de romã foi de 42,22 mg de catequina/g de amostra e para a polpa 23,62 mg de catequina/g de amostra, para atividade antioxidante a casca de romã apresentou um resultado de EC_{50} de 30,10 g de amostra/g de DPPH e a polpa 15,96 g de amostra/g de DPPH, demonstrando que a polpa apresenta maior teor de compostos fenólicos e capacidade antioxidante, no entanto, menor teor de taninos. E a pectina da casca de romã seca teve um percentual de 9,41%, acima do valor da polpa de romã (6,61%), demonstrando seu maior potencial para a extração do polissacarídeo.

Em relação aos ensaios do planejamento experimental por DCCR, podemos identificar que menores percentuais de etanol e acetona são melhores para a extração de compostos fenólicos para ambas as amostras. Para taninos a extração com concentração intermediária (25%) de etanol e acetona e temperatura intermediária (45 °C) para a casca e para a polpa de romã maior percentual de etanol e acetona melhor extrai o composto. A atividade antioxidante para a casca é obtida em faixas intermediárias de fração mássica de etanol e acetona (25%), assim como temperatura (45 °C). Para a polpa, menores percentuais de ambos os solventes apresentam maior atividade antioxidante. Em relação à pectina obtida do resíduo de extração para casca e polpa de romã, percentuais menores de etanol e acetona e/ou a ausência de ambos propiciam sua maior concentração. E para a polpa de romã o grau de esterificação encontra-se em maior percentual ao ser utilizada temperatura central de 45 °C.

E, por fim, ao otimizar o processo de extração para a casca e polpa de romã, encontramos como parâmetros que melhor extraem os compostos bioativos e a pectina do resíduo 30,8% de etanol, 0% de acetona e temperatura de 51 °C para a casca e 20% de etanol, 33,6% de acetona a 57,3 °C de temperatura para a polpa de romã.

REFERÊNCIAS

- ABID, M. *et al.* Characterization of pectins extracted from pomegranate peel and their gelling properties. **Food Chemistry**, [Oxford], v. 215, p. 318–325, Jan. 2017. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27542481/>. Acesso em: 11 jan. 2022.
- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Suplementos Alimentares**. Brasília: ANVISA, 2018. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/suplementos-alimentares>. Acesso em: 10 jan. 2022.
- AL-RAWAHI, A. S. *et al.* Chemical composition, water sorption isotherm, and phenolic contents in fresh and dried pomegranate peels. **Drying Technology**, [Philadelphia], v. 31, n. 3, p. 257-263, Feb. 2013. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/07373937.2012.710695>. Acesso em: 11 jan. 2022.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official Methods of analysis of AOAC International**. 18. ed. Washington: AOAC, 2005.
- BECKMAM, K. R. L. **Caracterização físico-química e extração de pectina da farinha da casca de banana verde tipo Cavendish (*Musa AAA*)**. 2019. 44 f. Monografia (Bacharel em Engenharia de Alimentos) - Universidade Federal do Tocantins, Palmas, 2019.
- BEN-ALI, S. *et al.* Optimization of extraction process and chemical characterization of pomegranate peel extract. **Chemical Papers**, [Poland], v. 72, p. 2087-2100, Feb. 2018. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11696-018-0427-5>. Acesso em: 15 jan. 2022.
- BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT - Food Science and Technology**, [Amsterdam], v. 28, n. 1, p. 25-30, 1995. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0023643895800085>. Acesso em: 14 fev. 2021.
- ÇAM, M.; HIŞİL, Y. Pressurised water extraction of polyphenols from pomegranate peels. **Food Chemistry**, [Oxford], v. 123, n. 3, p. 878-885, Dec. 2010. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0308814610005716>. Acesso em: 15 jan. 2022.
- CANTERI-SCHEMIN, M. H. *et al.* Extraction of pectin from apple pomace. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v. 48, n. 2, p. 259-266, Mar. 2005. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/babt/a/xS3NhspJ4CDv3Vbswc5zRRC/?lang=en>. Acesso em: 14 fev. 2021.
- CECCHI, H. M. **Fundamentos teóricos e práticos em análise de alimentos**. Campinas: Editora da Unicamp, 2003. 207 p.

CHEN, J. *et al.* Antimicrobial activity of pomegranate peel and its applications on food preservation. **Journal of Food Quality**, [Malden], v. 2020, p. 1-8, Nov. 2020. Disponível em: <https://www.hindawi.com/journals/jfq/2020/8850339/>. Acesso em: 16 fev. 2021.

CONDEZO-HOYOS, L.; PEREZ-LÓPEZ, E.; RUPÉREZ, P. Improved evaporative light scattering detection for carbohydrate analysis. **Food Chemistry**, [Oxford], v. 180, p. 265-271, Aug. 2015. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0308814615002095>. Acesso em: 14 fev. 2021.

CRUZ, T. M. *et al.* Extraction optimization of bioactive compounds from ora-pro-nobis (*Pereskia aculeata* Miller) leaves and their in vitro antioxidant and antihemolytic activities. **Food Chemistry**, [Oxford], v. 361, p. 1-12, Nov. 2021. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34023692/>. Acesso em: 20 jan. 2022.

DA SILVEIRA, T. F. F. *et al.* Effect of solvent composition on the extraction of phenolic compounds and antioxidant capacity of Bacaba Juice (*Oenocarpus bacaba* Mart.). **Food Analytical Methods**, [New York], v. 13, p. 1119-1128, Feb. 2020. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s12161-020-01726-2>. Acesso em: 20 jan. 2022.

DERAKHSHAN, Z. *et al.* Antioxidant activity and total phenolic content of ethanolic extract of pomegranate peels, juice and seeds. **Food and Chemical Toxicology**, [Oxford], v. 114, p. 108-111, Apr. 2018. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29448088/>. Acesso em: 15 jan. 2022.

DIAS, R. A. de L. *et al.* **Efeito da secagem em leito de jorro sobre a extração de fenóis e taninos totais da casca da romã (*Punica granatum* L.)**. 2015. 130 f. Tese (Doutorado em Engenharia Química) – Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande, 2015.

DIKMEN, M.; OZTURK, N.; OZTURK, N. The antioxidant potency of *Punica granatum* L. Fruit peel reduces cell proliferation and induces apoptosis on breast cancer. **Journal of Medicinal Food**, New York, v. 14, n. 12, p. 1638-1646, Dec. 2011. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21861726/>. Acesso em: 15 fev. 2021.

FARIAS, M. M. **Estudo da adição de polpa e farinha da casca de romã (*Punica granatum* L.) na qualidade de pães tipo forma**. 2018. 66 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2018.

FELIX, A. C. S. *et al.* Mixture design and doehlert matrix for the optimization of the extraction of phenolic compounds from *Spondias mombin* L apple bagasse agroindustrial residues. **Frontiers in Chemistry**, [Lausanne], v. 5, n. 116, Jan. 2018. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29354632/>. Acesso em: 16 jan. 2022.

FERTONANI, H. C. R. *et al.* Influência da concentração de ácidos no processo de extração e na qualidade de pectina de bagaço de maçã. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 27, n. 4, p. 599-612, out./dez. 2006. Disponível em: http://ri.uepg.br:8080/riuepg/bitstream/handle/123456789/250/ARTIGO_InfluenciaConcentra%C3%A7%C3%A3oAcidos.pdf?sequence=1. Acesso em: 10 mar. 2021.

FREITAS, C. M. P. *et al.* Extraction of pectin from passion fruit peel. **Food Engineering Reviews**, [New York], v. 12, n. 4, p. 460-472, Dec. 2020. Disponível em: <https://pubag.nal.usda.gov/catalog/7175647>. Acesso em: 20 jan. 2022.

FURTUNATO, T. C. de S. **Propriedades físicas, químicas e capacidade antioxidante da romã (cv. molar) durante o desenvolvimento do fruto**. 2016. 68 f. Dissertação (Mestrado em Horticultura Tropical) - Universidade Federal de Campina Grande, Pombal, 2016.

GRASSINO, A. N. *et al.* Analytical tools used for the identification and quantification of pectin extracted from plant food matrices, wastes and by-products: A review. **Food Chemistry**, [Oxford], v. 266, p. 47-55, Nov. 2018. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0308814618309178>. Acesso em: 10 mar. 2021.

GULLON, B. *et al.* Assessment of polyphenolic profile and antibacterial activity of pomegranate peel (*Punica granatum*) flour obtained from co-product of juice extraction. **Food Control**, [England], v. 59, p. 94-98, Jan. 2016. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0956713515002844>. Acesso em: 11 mar. 2021.

GULLÓN, P. *et al.* Pomegranate peel as suitable source of high-added value bioactives: Tailored functionalized meat products. **Molecules**, [Basel], v. 25, n. 12, June 2020. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1420-3049/25/12/2859>. Acesso em: 11 mar. 2021.

GÜZEL, M.; AKPINAR, O. Valorisation of fruit by-products: Production characterization of pectins from fruit peels. **Food and Bioprocess Processing**, [Rugby], v. 115, p. 126-133, May 2019. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0960308518308927>. Acesso em: 11 jan. 2022.

HUERTA, M. da M. *et al.* **Bagaço de uva: aproveitamento, avaliação e aplicação em pré-mistura para bolo**. 2018. 86 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia dos Alimentos) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2018.

IBRAHIM, A.; AWAD, S.; EL-SAYED, M. Impact of pomegranate peel as prebiotic in bio-yoghurt. **British Food Journal**, [Bingley], v. 122, n. 9, p. 2911-2926, July 2020. Disponível em: <https://www.emerald.com/insight/content/doi/10.1108/BFJ-04-2019-0296/full/html>. Acesso em: 20 jan. 2022.

ISMAIL, H. A. *et al.* Rheological, physio-chemical and organoleptic characteristics of ice cream enriched with Doum syrup and pomegranate peel. **Arabian Journal of Chemistry**, [Amsterdam], v. 13, n. 10, p. 7346-7356, Oct. 2020. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1878535220302926>. Acesso em: 15 jan. 2022.

JAFARI, T. *et al.* Effects of pomegranate peel extract and vitamin E on oxidative stress and antioxidative capacity of hemodialysis patients: A randomized controlled clinical trial. **Journal of Functional Foods**, [Amsterdam], v. 72, n. 6, Sept. 2020. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1756464620302930>. Acesso em: 14 fev. 2021.

JARDINI, F. A.; MANCINI FILHO, J. Avaliação da atividade antioxidante em diferentes extratos da polpa e sementes da romã (*Punica granatum*, L.). **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, São Paulo, v. 43, n. 1, p. 137-147, mar. 2007. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbcf/a/yBfs6kQWJXDqMj3Vx68xDSq/?lang=pt>. Acesso em: 10 jan. 2022.

KANDI, S.; CHARLES, A. L. Measurement, correlation, and thermodynamic properties for solubilities of bioactive compound (-) epicatechin in different pure solvents at 298.15 K to 338.15 K. **Journal of Molecular Liquids**, [Amsterdam], v. 264, p. 269-274, Aug. 2018. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0167732218317811>. Acesso em: 20 jan. 2022.

KHAMSUCHARIT, P. *et al.* Characterization of pectin extracted from banana peels of different varieties. **Food Science and Biotechnology**, [New York], v. 27, p. 623-629, Jan. 2018. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10068-017-0302-0>. Acesso em: 10 mar. 2021.

KLIEMANN, E. **Extração e caracterização da pectina da casca do maracujá amarelo (*Passiflora edulis flavicarpa*)**. 2006. 75 p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2006. 75 p.

KOTOVICZ, V. **Extração rápida de compostos solúveis de erva-mate (*Ilex paraguariensis*) por ciclos de compressão e descompressão hidrostática: experimentos, modelagem e simulação**. 2014. 115 p. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2014.

KULKARNI, S. G.; VIJAYANAND, P. Effect of extraction conditions on the quality characteristics of pectin from passion fruit peel (*Passiflora edulis f. flavicarpa* L.). **LWT - Food Science and Technology**, [Amsterdam], v. 43, n. 7, p. 1026-1031, Sept. 2010. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0023643809003120>. Acesso em: 16 fev. 2021.

KUSKOSKI, E. M. *et al.* Frutos tropicais silvestres e polpas de frutas congeladas: atividade antioxidante, polifenóis e antocianinas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 36, n. 4, p. 1283-1287, ago. 2006. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/cr/a/hmBRx5NbvGcpVbryVDhMBDL/?lang=pt>. Acesso em: 14 fev. 2021.

LANSKY, E. P.; NEWMAN, R. A. *Punica granatum* (Pomegranate) and its potential for prevention and treatment of inflammation and câncer. **Journal of Ethnopharmacology**, [Clare], v. 109, n. 2, p. 177-206, Jan. 2007. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17157465/>. Acesso em: 14 fev. 2021.

LI, Y. *et al.* Evaluation of antioxidant properties of pomegranate peel extract in comparison with pomegranate pulp extract. **Food Chemistry**, [Oxford], v. 96, n. 2, p. 254-260, May 2006. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0308814605001780>. Acesso em: 16 fev. 2021.

LUIS, Â. *et al.* *Ailanthus altissima* (Miller) swingle: a source of bioactive compounds with antioxidant activity. **BioResources**, [Raleigh], v. 7, n. 2, p. 2105-2120, 2012. Disponível em: <https://bioresources.cnr.ncsu.edu/resources/ailanthus-altissima-miller-swingle-a-source-of-bioactive-compounds-with-antioxidant-activity/>. Acesso em: 20 jan. 2022.

MARTINS, D. R. dos S. *et al.* Production and characterization of Hibiscus sabdariffa by spray dryer using different sprinkler nozzles and carrier agents. **Journal of Food Processing and Preservation**, [Malden], v. 44, n. 7, p. e14493, Apr. 2020. Disponível em: <https://pubag.nal.usda.gov/catalog/7017260>. Acesso em: 20 fev. 2021.

MARTOS, M. V. *et al.* Antioxidant properties of pomegranate (*Punica granatum* L.) bagasses obtained as co-product in the juice extraction. **Food Research International**, [Amsterdam], v. 44, n. 5, p. 1217-1223, June 2011. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0963996910004321>. Acesso em: 10 jun. 2021.

MASTROGIOVANNI, F. *et al.* Antioxidant and anti-inflammatory effects of pomegranate peel extracts on bovine mammary epithelial cells BME-UV1. **Natural Product Research**, [Abingdon], v. 34, n. 10, p. 1465-1469, May 2020. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30278781/>. Acesso em: 16 fev. 2021.

MASTROGIOVANNI, F. *et al.* Anti-inflammatory effects of pomegranate peel extracts on in vitro human intestinal Caco-2 cells and ex vivo porcine colonic tissue explants. **Nutrients**, [Basel], v. 11, n. 3, p. 548, Mar. 2019. 2019. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30841512/>. Acesso em: 16 fev. 2021.

MELGAREJO, P. *et al.* Pomegranate (*Punica granatum* L.) a dry pericarp fruit with fleshy seeds. **Trends in Food Science & Technology**, [London], v. 102, p. 232-236, Aug. 2020. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0924224419310349>. Acesso em: 11 mar. 2021.

MONSOOR, M. A.; PROCTOR, A. Preparation and functional properties of soy hull pectin. **Journal of the American Oil Chemists Society**, [New York], v. 78, p. 709-713, July 2001. Disponível em: <https://www.semanticscholar.org/paper/Preparation-and-functional-properties-of-soy-hull-Monsoor-Proctor/eea377876e1b22de6be6b9a004760051deff5a88>. Acesso em: 20 jan. 2022.

MORZELLE, M. C. **Resíduo de romã (*Punica granatum*) na prevenção da doença de Alzheimer**. 2012. 72 p. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Escola Superior de Agricultura “Luiz Queiroz”, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2012.

MOTIKAR, P. D.; MORE, P. R.; ARYA, S. S. A novel, green environment-friendly cloud point extraction of polyphenols from pomegranate peels: a comparative assessment with ultrasound and microwave-assisted extraction. **Separation Science and Technology**, [Philadelphia], v. 56, n. 6, p. 1014-1025, Apr. 2020. 12 p. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/01496395.2020.1746969>. Acesso em: 13 jun. 2021.

NEGI, P. S.; JAYAPRAKASHA, G. K.; JENA, B. S. Antioxidant and antimutagenic activities of pomegranate peel extracts. **Food Chemistry**, [Oxford], v. 80, n. 3, p. 393-397, Mar. 2003. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0308814602002790>. Acesso em: 16 fev. 2021.

NEYRINCK, A. M. *et al.* Polyphenol-rich extract of pomegranate peel alleviates tissue inflammation and hypercholesterolaemia in high-fat diet-induced obese mice: potential implication of the gut microbiota. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 109, n. 5, p. 802-809, Mar. 2013. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22676910/>. Acesso em: 02 mar. 2021.

PACHÚ, C. O. **Processamento de plantas medicinais para obtenção de extratos secos e líquidos**. 2007. 150 p. Tese (Doutorado em Engenharia de Processos) - Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande, 2007.

PAGÁN, J. *et al.* Extraction and characterization of pectin from stored peach pomace. **Food Research International**, [Amsterdam], v. 34, n. 7, p. 605-612, 2001. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0963996901000783>. Acesso em: 02 mar. 2021.

PAINE, A.; DAVAN, A. D. Defining a tolerable concentration of methanol in alcoholic drinks. **Human & Experimental Toxicology**, [London], v. 20, p. 563-568, 2001. Disponível em: <https://journals.sagepub.com/doi/pdf/10.1191/096032701718620864>. Acesso em: 05 mar. 2021.

PEREIRA, P. H. F. *et al.* Pectin extraction from pomegranate peels with citric acid. **International Journal of Biological Macromolecules**, [Amsterdam], v. 88, p. 373-379, July 2016. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0141813016303087>. Acesso em: 20 fev. 2021.

PRICE, M. L.; BUTLER, L. G. Rapid visual estimation and spectrophotometric determination of tannin content of sorghum grain. **Journal of Agriculture Food Chemistry**, Washington, v. 25, n. 6, p. 1268-1273, Nov. 1977. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/jf60214a034>. Acesso em: 16 fev. 2021.

RAKSHIT, M.; SRIVASTAV, P. P. Optimization of pulsed ultrasonic-assisted extraction of punicalagin from pomegranate (*Punica granatum*) peel: A comparison between response surface methodology and artificial neural network-multiobjective genetic algorithm. **Journal of Food Processing and Preservation**, [Malden], v. 45, n. 2, Jan. 2021. 14 p. Disponível em: <https://www.sciencegate.app/document/10.1111/jfpp.15078>. Acesso em: 20 mar. 2021.

RANGANNA, S. **Manual of analysis of fruit and vegetable products**. New Delhi: Tata McGraw Hill Publishing Company Ltd, 1977. 634 p.

ROCHA, W. S. *et al.* Compostos fenólicos totais e taninos condensados em frutas nativas do cerrado. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 33, n. 4, p. 1215-1221, dez. 2011. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbf/a/RTcwy89hndbJmPySv3NV5jp/abstract/?lang=pt>. Acesso em: 17 fev. 2021.

RODRIGUES, M. I.; IEMMA, A. F. **Experimental Design and Process Optimization**. 1. ed. Boca Raton: CRC Press, 2014. 336 p.

SAAD, H. *et al.* Characterization of pomegranate peels tannin extractives. **Industrial Crops and Products**, [Amsterdam], v. 40, p. 239-246, Nov. 2012. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0926669012001318>. Acesso em: 15 jan. 2022.

SALAMA, A. A.; ISMAEL, N. M.; BEDEWY, M. The anti-inflammatory and antiatherogenic in vivo effects of pomegranate peel powder: from waste to medicinal food. **Journal of Medicinal Food**, [New Rochelle], v. 24, n. 2, p. 145-150, Feb. 2020. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32316851/>. Acesso em: 16 fev. 2021.

SALINAS, J. G.; GARCIA, R. **Métodos químicos para el analisis de suelos acidos y plantas forrajeras**. Cali: Centro Internacional de Agricultura Tropical, 1985. 83 p.

SAMSURI, S. *et al.* Antioxidant recovery from pomegranate peel waste by integrating maceration and freeze concentration technology. **International Journal of Food Engineering**, [Berkeley], v. 16, n. 10, Feb. 2020. Disponível em: <https://www.degruyter.com/document/doi/10.1515/ijfe-2019-0232/html>. Acesso em: 15 mar. 2021.

SANTOS, E. H. de B. *et al.* **Composição físico-química dos frutos da romã (*Punica granatum L.*)**. 2010. 7 p. Disponível em: <http://connepi.ifal.edu.br/ocs/index.php/connepi/CONNepi2010/paper/viewFile/462/22>. Acesso em: 16 jan. 2022.

ŞEN, E.; ÖZDEMİR, S.; UĞUZDOĞAN, E. Extraction and characterization of pectin from waste of fruit peels. **Pamukkale University Journal of Engineering Sciences**, [Turkey], v. 27, n. 7, p. 863-872, 2021. Disponível em: <http://pajes.pau.edu.tr/en/jvi.aspx?un=PAJES-91033&volume=27&issue=7>. Acesso em: 20 jan. 2022.

SHINDE, P. N.; MANDAVGANE, S. A.; KARADBHAJANE, V. Process development and life cycle assessment of pomegranate biorefinery. **Environmental Science and Pollution Research**, [Heidelberg], v. 27, p. 25785-25793, Apr. 2020. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11356-020-08957-0>. Acesso em: 20 mar. 2021.

SOUSA, N. C. F. *et al.* Propriedades farmacológicas de *Punica granatum L* (romã): uma revisão de literatura. **Revista Ceuma Perspectivas**, [São Luís], v. 31, n. 1, p. 57-67, 2018. Disponível em: <http://www.ceuma.br/portalderevistas/index.php/RCCP/article/view/181>. Acesso em: 10 mar. 2021.

STATISTICA ANALYSIS. Data Analysis Software System 10.0. **Stat-Soft**. Tulsa, 2010.

SUN, H.-Y. *et al.* Punicagranine, a new pyrrolizine alkaloid with anti-inflammatory activity from the peels of *Punica granatum*. **Tetrahedron Letters**, [Oxford], v. 60, n. 18, p. 1231-1233, May 2019. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0040403919302850>. Acesso em: 12 mar. 2021.

TABARAKI, R.; HEIDARIZADI, E.; BENVIDI, A. Optimization of ultrasonic-assisted extraction of pomegranate (*Punica granatum* L.) peel antioxidants by response surface methodology. **Separation and Purification Technology**, [Amsterdam], v. 98, p. 16-23, Sept. 2012. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1383586612003693>. Acesso em: 25 mar. 2021.

TALEKAR, S. *et al.* An integrated green biorefinery approach towards simultaneous recovery of pectin and polyphenols coupled with bioethanol production from waste pomegranate peels. **Bioresource Technology**, [Oxford], v. 266, p. 322-334, Oct. 2018. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0960852418308514>. Acesso em: 21 jan. 2022.

TEHRANIFAR, A. *et al.* Investigation of physico-chemical properties and antioxidant activity of twenty Iranian pomegranate (*Punica granatum* L.) cultivars. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 126, n. 2, p. 180-185, Sept. 2010. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S030442381000302X>. Acesso em: 25 fev. 2021.

THOMA, M. *et al.* Investigation of the effects of ultrasound on vegetal tissues during solvent extraction. **Ultrasonics Sonochemistry**, [Amsterdam], v. 8, n. 2, p. 137-142, Apr. 2001.

Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S135041770000033X>. Acesso em: 05 mar. 2021.

TOPALOVIC, A. *et al.* Detailed chemical composition of juice from autochthonous pomegranate genotypes (*Punica granatum* L.) grown in different locations in Montenegro. **Food Chemistry**, [Oxford], v. 330, Nov. 2020. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0308814620311237>. Acesso em: 16 fev. 2021.

TURKPLRNAZ, M.; OZKAN, M. Effects of condensed tannins on anthocyanins and colour of authentic pomegranate (*Punica granatum* L.) juices. **Food Chemistry**, [Oxford], v. 164, p. 324-331, Dec. 2014. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24996341/>. Acesso em:

21 jan. 2022.

VIEIRA, G. S. **Estudo dos processos de extração de antocianinas da polpa de juçara (*Euterpe edulis* Mart.) e da concentração do extrato por nanofiltração**. 2015. 249 p. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2015.

WAFI, B. A. *et al.* Antimicrobial effect of the Tunisian Nana variety *Punica granatum* L. extracts against *Salmonella enterica* (serovars Kentucky and Enteritidis) isolated from chicken meat and phenolic composition of its peel extract. **International Journal of Food Microbiology**, [Amsterdam], v. 241, p. 123-131, Jan. 2017. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27776287/>. Acesso em: 15 fev. 2021.

WATERHOUSE, A. L. Polyphenolics: Determination of total phenolics. *In*: WROLSTAD, R. E. (ed.). **Current Protocols in Food Analytical Chemistry**. New York: John Wiley & Sons, 2002.

WERKMAN, C. *et al.* Aplicações terapêuticas da *Punica granatum* L. (romã). **Revista Brasileira Planta Médica**, Botucatu, v. 10, n. 3, p. 104-111, mar. 2008. Disponível em: https://www1.ibb.unesp.br/Home/Departamentos/Botanica/RBPM-RevistaBrasileiradePlantasMedicinais/revisao_v10n3.pdf. Acesso em: 04 mar. 2021.

WU, C.-N. *et al.* Bioactive compounds with anti-oxidative and anti-inflammatory activities of hop extracts. **Food Chemistry**, [Oxford], v. 330, Nov. 2020. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0308814620311067>. Acesso em: 18 jan. 2022.

WU, X. *et al.* Process development for antioxidant extraction from wet pomegranate peel. **Transactions of the Asabe**, [United States], v. 64, n. 1, p. 191-202, 2021. Disponível em: <https://elibrary.asabe.org/abstract.asp?aid=52016&t=2&redir=&redirType=>. Acesso em: 18 jan. 2022.

XI, J.; HE, L.; YAN, L.-G. Continuous extraction of phenolic compounds from pomegranate peel using high voltage electrical discharge. **Food Chemistry**, [Oxford], v. 230, p. 354-361, Sept. 2017. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S030881461730451X>. Acesso em: 20 jan. 2022.

YANG, X. *et al.* Pomegranate peel pectin can be used as an effective emulsifier. **Food Hydrocolloids**, [Oxford], v. 85, p. 30-38, Dec. 2018. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0268005X18305976>. Acesso em: 16 jan. 2022.

YAPO, B. M. Biochemical characteristics and gelling capacity of pectin from yellow passion fruit rind as affected by acid extractant nature. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [Washington], v. 57, n. 4, p. 1572-1578, Feb. 2009. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19199593/>. Acesso em: 04 mar. 2021.

ZITHA, E. Z. M. *et al.* Impact of processing and packages on bioactive compounds and antioxidant activity of Mangaba Jelly. **Food Science and Technology**, Campinas, v. 42, May 2021. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/cta/a/Hrxg7D4RFghgSRmhT33ZR4S/?lang=en>. Acesso em: 18 jan. 2022.

APÊNDICE

APÊNDICE A - Tabelas de ANOVA para as variáveis respostas do DCCR

Casca de romã

Tabela 1 – ANOVA para a resposta de compostos fenólicos.

Fonte de variação	Soma dos quadrados	Graus de liberdade	Quadrado médio	F _{calc}	p-valor
X ₁ (L)	537,77	1	537,77	18,06	0,003
X ₁ (Q)	46,79	1	46,79	1,57	0,250
X ₂ (L)	285,68	1	285,68	9,59	0,017
X ₂ (Q)	13,33	1	13,33	0,45	0,525
X ₃ (L)	5,45	1	5,45	0,18	0,681
X ₃ (Q)	26,43	1	26,43	0,89	0,377
X ₁ X ₂	64,35	1	64,35	2,16	0,185
X ₁ X ₃	12,73	1	12,73	0,43	0,534
X ₂ X ₃	22,61	1	22,61	0,76	0,412
Resíduo	208,43	7	29,77		
Total	1258,78	16			

% de variação explicada (R²) = 83,44% F_{9; 7; 0,05} = 3,68

Tabela 2 – ANOVA para a resposta de taninos.

Fonte de variação	Soma dos quadrados	Graus de liberdade	Quadrado médio	F _{calc}	p-valor
X ₁ (L)	173,22	1	173,22	11,51	0,011
X ₁ (Q)	403,44	1	403,44	26,81	0,001
X ₂ (L)	264,14	1	264,14	17,55	0,004
X ₂ (Q)	112,31	1	112,31	7,46	0,029
X ₃ (L)	17,09	1	17,09	1,13	0,322
X ₃ (Q)	666,44	1	666,44	44,28	0,000
X ₁ X ₂	5,26	1	5,26	0,35	0,573
X ₁ X ₃	0,76	1	0,76	0,05	0,828
X ₂ X ₃	3,39	1	3,39	0,22	0,649
Resíduo	105,35	7	15,05		
Total	1406,06	16			

% de variação explicada (R²) = 92,51% F_{9; 7; 0,05} = 3,68

Tabela 3 – ANOVA para a resposta de atividade antioxidante.

Fonte de variação	Soma dos quadrados	Graus de liberdade	Quadrado médio	F _{calc}	p-valor
X ₁ (L)	51,95	1	51,95	1,73	0,230
X ₁ (Q)	183,40	1	183,40	6,11	0,043
X ₂ (L)	628,97	1	628,97	20,96	0,002
X ₂ (Q)	41,65	1	41,65	1,39	0,277
X ₃ (L)	3,24	1	3,24	0,11	0,752
X ₃ (Q)	853,66	1	853,66	28,45	0,001
X ₁ X ₂	47,43	1	47,43	1,58	0,249
X ₁ X ₃	26,94	1	26,94	0,90	0,375
X ₂ X ₃	60,83	1	60,83	2,03	0,197
Resíduo	210,05	7	30,01		
Total	1922,13	16			

% de variação explicada (R^2) = 89,07% $F_{9; 7; 0,05} = 3,68$

Tabela 4 – ANOVA para a resposta de acidez titulável.

Fonte de variação	Soma dos quadrados	Graus de liberdade	Quadrado médio	F _{calc}	p-valor
X ₁ (L)	0,004	1	0,004	1,497	0,261
X ₁ (Q)	0,004	1	0,004	1,603	0,246
X ₂ (L)	0,002	1	0,002	0,974	0,356
X ₂ (Q)	0,005	1	0,005	1,916	0,209
X ₃ (L)	0,001	1	0,001	0,283	0,611
X ₃ (Q)	0,001	1	0,001	0,252	0,631
X ₁ X ₂	0,002	1	0,002	0,833	0,392
X ₁ X ₃	0,000	1	0,000	0,123	0,736
X ₂ X ₃	0,001	1	0,001	0,597	0,465
Resíduo	0,018	7	0,002		
Total	0,039	16			

% de variação explicada (R^2) = 54,68% $F_{9; 7; 0,05} = 3,68$

Tabela 5 – ANOVA para a resposta de pectina.

Fonte de variação	Soma dos quadrados	Graus de liberdade	Quadrado médio	F _{calc}	p-valor
X ₁ (L)	8,35	1	8,35	12,23	0,010
X ₁ (Q)	0,09	1	0,09	0,13	0,732
X ₂ (L)	6,10	1	6,10	8,93	0,020
X ₂ (Q)	0,38	1	0,38	0,56	0,477
X ₃ (L)	0,51	1	0,51	0,74	0,417
X ₃ (Q)	0,16	1	0,16	0,23	0,642
X ₁ X ₂	0,93	1	0,93	1,36	0,281
X ₁ X ₃	0,23	1	0,23	0,33	0,582
X ₂ X ₃	0,12	1	0,12	0,17	0,690
Resíduo	4,78	7	0,68		
Total	21,46	16			

% de variação explicada (R^2) = 77,72% $F_{9; 7; 0,05} = 3,68$

Tabela 6 – ANOVA para a resposta grau de esterificação.

Fonte de variação	Soma dos quadrados	Graus de liberdade	Quadrado médio	F _{calc}	p-valor
X ₁ (L)	23,91	1	23,91	2,80	0,138
X ₁ (Q)	9,24	1	9,24	1,08	0,333
X ₂ (L)	7,87	1	7,87	0,92	0,369
X ₂ (Q)	27,55	1	27,55	3,22	0,116
X ₃ (L)	21,10	1	21,10	2,47	0,160
X ₃ (Q)	6,64	1	6,64	0,78	0,407
X ₁ X ₂	16,79	1	16,79	1,96	0,204
X ₁ X ₃	7,31	1	7,31	0,85	0,386
X ₂ X ₃	3,31	1	3,31	0,39	0,553
Resíduo	59,82	7	8,55		
Total	193,15	16			

% de variação explicada (R^2) = 69,03% $F_{9; 7; 0,05} = 3,68$

Polpa de romã

Tabela 7 – ANOVA para a resposta compostos fenólicos.

Fonte de variação	Soma dos quadrados	Graus de liberdade	Quadrado médio	F _{calc}	p-valor
X ₁ (L)	789,85	1	789,85	41,19	0,000
X ₁ (Q)	183,90	1	183,90	9,59	0,017
X ₂ (L)	378,91	1	378,91	19,76	0,003
X ₂ (Q)	49,42	1	49,42	2,58	0,152
X ₃ (L)	22,63	1	22,63	1,18	0,313
X ₃ (Q)	24,99	1	24,99	1,30	0,291
X ₁ X ₂	139,86	1	139,86	7,29	0,031
X ₁ X ₃	31,64	1	31,64	1,65	0,240
X ₂ X ₃	58,59	1	58,59	3,05	0,124
Resíduo	134,23	7	19,17		
Total	1858,12	16			

% de variação explicada (R²) = 92,78% F_{9; 7; 0,05} = 3,68

Tabela 8 – ANOVA para a resposta taninos.

Fonte de variação	Soma dos quadrados	Graus de liberdade	Quadrado médio	F _{calc}	p-valor
X ₁ (L)	77,12	1	77,12	43,30	0,000
X ₁ (Q)	3,35	1	3,35	1,88	0,213
X ₂ (L)	81,56	1	81,56	45,80	0,000
X ₂ (Q)	5,87	1	5,87	3,30	0,112
X ₃ (L)	0,17	1	0,17	0,09	0,768
X ₃ (Q)	0,71	1	0,71	0,40	0,548
X ₁ X ₂	12,32	1	12,32	6,92	0,034
X ₁ X ₃	0,06	1	0,06	0,03	0,864
X ₂ X ₃	0,01	1	0,01	0,00	0,949
Resíduo	12,47	7	1,78		
Total	194,73	16			

% de variação explicada (R²) = 93,60% F_{9; 7; 0,05} = 3,68

Tabela 9 – ANOVA para a resposta atividade antioxidante.

Fonte de variação	Soma dos quadrados	Graus de liberdade	Quadrado médio	F _{calc}	p-valor
X ₁ (L)	123,10	1	123,10	29,80	0,001
X ₁ (Q)	244,06	1	244,06	59,09	0,000
X ₂ (L)	308,01	1	308,01	74,57	0,000
X ₂ (Q)	381,86	1	381,86	92,45	0,000
X ₃ (L)	15,45	1	15,45	3,74	0,094
X ₃ (Q)	59,32	1	59,32	14,36	0,007
X ₁ X ₂	0,00	1	0,00	0,00	0,991
X ₁ X ₃	1,76	1	1,76	0,42	0,535
X ₂ X ₃	33,25	1	33,25	8,05	0,025
Resíduo	28,91	7	4,13		
Total	998,93	16			

% de variação explicada (R^2) = 97,11% $F_{9; 7; 0,05} = 3,68$

Tabela 10 – ANOVA para a resposta acidez titulável.

Fonte de variação	Soma dos quadrados	Graus de liberdade	Quadrado médio	F _{calc}	p-valor
X ₁ (L)	0,01	1	0,01	5,37	0,054
X ₁ (Q)	0,00	1	0,00	0,26	0,625
X ₂ (L)	0,00	1	0,00	1,30	0,292
X ₂ (Q)	0,00	1	0,00	0,26	0,625
X ₃ (L)	0,00	1	0,00	0,24	0,635
X ₃ (Q)	0,00	1	0,00	0,14	0,722
X ₁ X ₂	0,01	1	0,01	3,62	0,099
X ₁ X ₃	0,00	1	0,00	0,11	0,752
X ₂ X ₃	0,00	1	0,00	0,21	0,660
Resíduo	0,02	7	0,00		
Total	0,05	16			

% de variação explicada (R^2) = 62,52% $F_{9; 7; 0,05} = 3,68$

Tabela 11 – ANOVA para a resposta pectina.

Fonte de variação	Soma dos quadrados	Graus de liberdade	Quadrado médio	F _{calc}	p-valor
X ₁ (L)	3,09	1	3,09	6,93	0,034
X ₁ (Q)	5,50	1	5,50	12,35	0,010
X ₂ (L)	0,00	1	0,00	0,00	0,948
X ₂ (Q)	4,17	1	4,17	9,36	0,018
X ₃ (L)	0,00	1	0,00	0,00	0,996
X ₃ (Q)	0,44	1	0,44	0,99	0,352
X ₁ X ₂	1,91	1	1,91	4,29	0,077
X ₁ X ₃	0,64	1	0,64	1,44	0,268
X ₂ X ₃	1,09	1	1,09	2,44	0,162
Resíduo	3,12	7	0,44		
Total	17,48	16			

% de variação explicada (R^2) = 82,16% $F_{9; 7; 0,05} = 3,68$

Tabela 12 – ANOVA para a resposta grau de esterificação.

Fonte de variação	Soma dos quadrados	Graus de liberdade	Quadrado médio	F _{calc}	p-valor
X ₁ (L)	0,25	1	0,25	0,37	0,561
X ₁ (Q)	0,06	1	0,06	0,09	0,766
X ₂ (L)	0,96	1	0,96	1,41	0,274
X ₂ (Q)	4,64	1	4,64	6,81	0,035
X ₃ (L)	0,41	1	0,41	0,61	0,461
X ₃ (Q)	18,33	1	18,33	26,87	0,001
X ₁ X ₂	3,44	1	3,44	5,05	0,059
X ₁ X ₃	0,42	1	0,42	0,61	0,459
X ₂ X ₃	0,58	1	0,58	0,85	0,388
Resíduo	4,77	7	0,68		
Total	42,03	16			

% de variação explicada (R^2) = 88,64% $F_{9; 7; 0,05} = 3,68$