



**INSTITUTO LATINO-AMERICANO DE  
TECNOLOGIA, INFRAESTRUTURA E  
TERRITORIO (ILATIT)**

**ENGENHARIA QUÍMICA**

**PRODUÇÃO DE BIOIOGURTE UTILIZANDO O EXTRATO DA CASCA DA ROMÃ  
COMO ANTIOXIDANTE NATURAL**

**SARA BELÉN CENTURIÓN BARRIOS**

Foz do Iguaçu  
Ano 2022

**PRODUÇÃO DE BIOIOGURTE UTILIZANDO O EXTRATO DA CASCA DA ROMÃ  
COMO ANTIOXIDANTE NATURAL**

**SARA BELÉN CENTURIÓN BARRIOS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Instituto Latino-Americano de Tecnologia, Infraestrutura E Território (ILATIT) da Universidade Federal da Integração Latino-Americana, como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Engenharia Química.

Orientador: Prof. Dr. Álvaro Barcellos Onofrio.  
Coorientadora: Prof. Dra. Ana Carolina de Aguiar.

Foz do Iguaçu  
Ano 2022

SARA BELÉN CENTURIÓN BARRIOS

**PRODUÇÃO DE BIOIURTE UTILIZANDO O EXTRATO DA CASCA DA ROMÃ  
COMO ANTIOXIDANTE NATURAL**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Instituto Latino-Americano de Tecnologia, Infraestrutura E Território (ILATIT) da Universidade Federal da Integração Latino-Americana, como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Engenharia Química.

**BANCA EXAMINADORA**

---

Orientador: Prof. Dr. Álvaro Barcellos Onofrio.  
UNILA

---

Co-orientadora: Prof. Dra. Ana Carolina de Aguiar.  
UNICAMP

---

Prof. Dra. Andreia Cristina Furtado  
UNILA

Foz do Iguaçu, 03 de agosto de 2022.

## TERMO DE SUBMISSÃO DE TRABALHOS ACADÊMICOS

Nome completo do autor(a): Sara Belén Centurión Barrios.

Curso: Engenharia Química.

		Tipo de Documento
(..x..) graduação	(.....) artigo	
(.....) especialização	(..x..) trabalho de conclusão de curso	
(.....) mestrado	(.....) monografia	
(.....) doutorado	(.....) dissertação	
	(.....) tese	
	(.....) CD/DVD – obras audiovisuais	
	(.....) _____	

Título do trabalho acadêmico: Produção de Bioiogurte Utilizando o Extrato da Casca da Romã como Antioxidante Natural.

Nome do orientador(a): Prof. Dr. Álvaro Barcellos Onofrio.

Nome do coorientador(a): Prof. Dra. Ana Carolina de Aguiar.

Data da Defesa: 03/08/2022

### Licença não-exclusiva de Distribuição

O referido autor(a):

a) Declara que o documento entregue é seu trabalho original, e que o detém o direito de conceder os direitos contidos nesta licença. Declara também que a entrega do documento não infringe, tanto quanto lhe é possível saber, os direitos de qualquer outra pessoa ou entidade.

b) Se o documento entregue contém material do qual não detém os direitos de autor, declara que obteve autorização do detentor dos direitos de autor para conceder à UNILA – Universidade Federal da Integração Latino-Americana os direitos requeridos por esta licença, e que esse material cujos direitos são de terceiros está claramente identificado e reconhecido no texto ou conteúdo do documento entregue.

Se o documento entregue é baseado em trabalho financiado ou apoiado por outra instituição que não a Universidade Federal da Integração Latino-Americana, declara que cumpriu quaisquer obrigações exigidas pelo respectivo contrato ou acordo.

Na qualidade de titular dos direitos do conteúdo supracitado, o autor autoriza a Biblioteca Latino-Americana – BIUNILA a disponibilizar a obra, gratuitamente e de acordo com a licença pública *Creative Commons Licença 3.0 Unported*.

Foz do Iguaçu, 03 de agosto de 2022.

---

Assinatura do Responsável

Dedico este trabalho a meus pais e a minha irmã, por me brindar o seu apoio e sua confiança incondicional, por incentivar-me a cumprir os meus objetivos e inculcar-me os valores para ser uma melhor pessoa.

## AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar agradeço a Deus por toda a fortaleza e a sabedoria.

A meus pais José e Sunilda e a minha irmã Talia pela confiança, apoio e motivação constante para atingir esta meta tão apreciada.

Ao meu orientador o Prof. Dr. Álvaro Barcellos Onofrio e a minha co-orientadora a Prof. Dra. Ana Carolina de Aguiar, agradeço pela excelente orientação no desenvolvimento deste trabalho, por brindar com paciência os seus valiosos conhecimentos científicos, pelas sugestões, esclarecimentos das dúvidas e a total disponibilidade oferecida no desenvolvimento experimental e teórico deste trabalho.

A Prof. Dr. Andreia Cristina Furtado por todo o apoio brindado desde o começo do curso.

Aos técnicos do Departamento de Laboratório de Ensino da Universidade Federal da Integração Latino Americana, em especial a Paula Regina dos Santos por brindar o seu apoio, conselhos e conhecimentos na pesquisa realizada.

A Prof. Dra. Marcela Boroski pela oportunidade de realizar as análises de compostos fenólicos totais e a Daniela de Quadros Pedroso por auxiliar nas mesmas.

A minhas amigas com as quais compartilhei a vida universitária, por toda ajuda, suporte, ânimos para seguir adiante.

A Universidade Federal da Integração Latino Americana por abrir as portas do conhecimento para min e me permitir formar profissionalmente como também crescer pessoalmente.

*Ciência e a vida cotidiana não pode e não deve ser  
separado*  
**Rosalind Franklin**

## RESUMO

A legislação brasileira define o iogurte como um produto onde as bactérias *Streptococcus salivarius* subsp. thermophilus e *Lactobacillus delbrueckii* subsp. Bulgaricus são cultivadas de forma protossimbiótica com objetivo de realizar uma fermentação. O iogurte é considerado um dos alimentos mais completos, no entanto, como fonte de compostos fenólicos é considerada deficiente devido a escassa concentração presente no mesmo. Razão pela qual se realizam diversos estudos em torno da sua suplementação. Uma das formas mais estudadas é por meio da utilização de extratos de resíduos agroindustriais que a maioria das vezes tem uma composição bioativa similar ou superior ao produto do qual são retirados, isto considerando a alta demanda por parte dos consumidores por alimentos de origem natural e isentos no maior possível de aditivos sintéticos ou conservantes. A romã (*Punica granatum* L.) desperta o interesse da população, produtores e pesquisadores por conter compostos fenólicos que atuam como antioxidantes. Muitos estudos demonstraram que as maiores quantidades destes compostos se encontram na casca, que ainda é tratada como resíduos. Por tudo isso, este trabalho tem como objetivo avaliar a presença dos compostos fenólicos presentes na casca de romã e estudar o seu uso como potencial aditivo natural para o enriquecimento de iogurtes. Para isso se analisou a composição bioativa da casca da romã por meio da cromatografia de camada delgada e da espectrometria de ultravioleta visível. Além disso, se avaliou a melhor condição de extração dos compostos fenólicos, como também se determinou o teor de umidade e a partir dos mesmos se elaborou um extrato adicionado aos iogurtes preparados a partir de leite ultrapasteurizado e iogurte natural. Também, se realizou a determinação da composição fenólica bem como do pH tanto do iogurte com extrato quando sem extrato. Por meio da cromatografia de camada delgada se comprovou a presença de um subgrupo dos compostos fenólicos, os taninos hidrolisáveis, a espectrometria de ultravioleta visível aliado aos dados da literatura deu indícios da presença da punicalagina na casca da romã, o teor de umidade da mesma encontrado foi bastante elevado equivalente a 75,17% bu. A melhor condição de extração dos compostos fenólicos resultou a partir de utilização da casca de romã úmida (195461,50 µg EAG/g amostra) já que a secagem desencadeou uma diminuição da concentração de compostos fenólicos (15324,82 µg EAG/g amostra). Enquanto aos iogurtes, se observou um aumento importante dos fenólicos quando adicionado o extrato da casca da romã, o teor de compostos fenólicos do iogurte sem extrato foi de 207,095 µg EAG/g amostra, enquanto, para o iogurte com extrato foi de 2534,060 µg EAG/g amostra. Quanto a análise de pH, observou-se que a incorporação do extrato não ocasionou uma alteração significativa. O estudo realizado mostrou que a casca da *Punica granatum* L. apresenta compostos bioativos que podem ser utilizados como aditivo natural no iogurte, sem alterar de maneira significativa o seu pH.

**Palavras-chave:** aditivo; taninos hidrolisáveis; punicalagina; compostos fenólicos; pH.



## RESUMEN

La legislación brasileira define al yogur como siendo un producto donde las bacterias *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* y *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *Bulgaricus* son cultivadas de forma protosimbiótica con el objetivo de realizar una fermentación, es considerado uno de los alimentos más completos, sin embargo, como fuente de compuestos fenólicos es considerado deficiente debido a la escasa concentración presente en el mismo. Razón por la cual se realizan diversos estudios en torno a su suplementación, una de las formas más estudiadas es por medio de la utilización de extractos de residuos agroindustriales que en la mayoría de las veces poseen una composición bioactiva similar e inclusive superior al producto del cual es retirado, esto considerando la alta demanda por parte de los consumidores por alimentos de origen natural o exentos en su mayoría de aditivos sintéticos o conservantes. La granada (*Punica Granatum* L.) despierta el interés de la población, productores e investigadores por ser fuente de compuestos fenólicos que actúan como antioxidantes, diversos estudios demostraron que las mayores cantidades de estos compuestos se encuentran presentes en la cáscara, que son aún consideradas como residuos. Por todo esto, este trabajo tiene como objetivo evaluar la presencia de los compuestos fenólicos presentes en la cáscara de la granada y estudiar su uso como potencial aditivo natural para el enriquecimiento de yogures. Por lo cual se analizó la composición bioactiva de la cáscara de la granada por medio la cromatografía en capa fina y de la espectrometría de ultravioleta visible, además, se evaluó la mejor condición de extracción de los compuestos fenólicos, como también se determinó el tenor de humedad y a partir de los mismos se elaboró un extracto que fue adicionado a los yogures preparados a partir de leche ultrapasteurizada y yogur natural, además se realizó la determinación de la composición fenólica como también del pH tanto del yogur con extracto como del yogur con el extracto. Por medio de la cromatografía de capa fina se comprobó la presencia de un subgrupo de los compuestos fenólicos, los taninos hidrolizables, la espectrometría de ultravioleta visible, aliado a los datos de la literatura, dieron indicios de la presencia de la punicalagina en la cáscara de la granada, el porcentaje de humedad fue de 75,17% bu. La mejor condición de extracción de los compuestos fenólicos resulto a partir de la utilización de la cáscara de la granada húmeda (195461,50 µg EAG/g muestra), ya que el secado desencadenó la pérdida de la composición fenólica (15324,82 µg EAG/g muestra). En cuanto a los yogures, se observó un aumento importante de la misma cuando fue adicionado el extracto de la cáscara de la granada, la composición fenólica del yogur sin extracto fue de 207,095 µg EAG/g muestra, mientras que para el yogur con extracto fue de 2534,060 µg EAG/g muestra. El análisis de pH mostró que la incorporación del extracto no ocasiono una alteración significativa de la misma. El estudio realizado mostró que la cáscara de la *Punica Granatum* L. presenta compuestos bioactivos que pueden ser utilizados como aditivo natural en el yogur para enriquecerlo, sin alterar de manera significativa su pH.

**Palabras clave:** aditivo; taninos hidrolizables; punicalagina; compuestos fenólicos; pH.

## ABSTRACT

Brazilian legislation defines yogurt as being a product where the bacteria *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* and *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* are cultivated in a protosymbiotic way with the aim of carrying out a fermentation. It is considered one of the most complete foods, however, as a source of phenolic compounds it is considered deficient due to the low concentration present in it. For this reason, several studies are carried out on its supplementation, one of the most studied forms is through the use of extracts from agro-industrial residues that in most cases have a bioactive composition similar to and even superior to the product from which it is withdrawn. The pomegranate (*Punica Granatum* L.) arouses the interest of the population, producers and researchers for being a source of phenolic compounds that act as antioxidants, various studies have shown that the largest amounts of these compounds are present in the peel, which are still considered as waste. For all these reasons, this work aims to evaluate the presence of phenolic compounds present in the pomegranate peel and study its use as a potential natural additive for the enrichment of yogurts. Therefore, the bioactive composition of the pomegranate peel was analyzed by means of thin layer chromatography and visible ultraviolet spectrometry, in addition, the best extraction condition of the phenolic compounds was evaluated, as well as the content of humidity and from them an extract was elaborated that was added to the yogurts prepared from ultrapasteurized milk and natural yogurt, in addition, the determination of the phenolic composition as well as the pH of both the yogurt with extract and the yogurt with the extract. Through thin-layer chromatography, the presence of a subgroup of phenolic compounds, hydrolyzable tannins, was verified. Visible ultraviolet spectrometry, together with data from the literature, gave indications of the presence of punicalagin in the shell of the pomegranate, the humidity percentage was 75.17% bu. The best extraction condition of the phenolic compounds resulted from the use of the wet pomegranate peel (195461.50 µg EAG/g sample), since the drying triggered the loss of the phenolic composition (15324.82 µg EAG /g sample). Regarding the yogurts, a significant increase was observed when the pomegranate peel extract was added, the phenolic composition of the yogurt without extract was 207.095 µg EAG/g sample, while for the yogurt with extract it was of 2534.060 µg EAG/g sample. The pH analysis showed that the incorporation of the extract did not cause a significant alteration of it. The study carried out showed that the shell of *Punica Granatum* L. has bioactive compounds that can be used as a natural additive in yogurt to enrich it, without significantly altering its pH.

**Key words:** additive; hydrolyzable tannins; punicalagin; phenolic compounds; pH..

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>Figura 1</b> – Classificação dos Compostos Fenólicos .....	23
<b>Figura 2</b> – Estrutura Básica dos Flavonoides .....	24
<b>Figura 3</b> – Constituição da fruta da romã .....	26
<b>Figura 4</b> – Estrutura Química da Punicalagina .....	27
<b>Figura 5</b> – Fluxograma das Etapas de Preparação e Análise da Casca da Romã ...	28
<b>Figura 6</b> – Fluxograma das Etapas de Preparação e Análise do logurte.....	29
<b>Figura 7</b> – Frutas da Romã.....	30
<b>Figura 8</b> – Extrato da Casca de Romã Úmida .....	33
<b>Figura 9</b> – Curva de Calibração obtida com o Padrão Ácido Gálico.....	34
<b>Figura 10</b> – Diluição do Extrato da Casca da Romã Úmida.....	34
<b>Figura 11</b> – Esquema de Preparação das Amostras de logurte .....	36
<b>Figura 12</b> – Produção de logurte (A); logurte Elaborado (B) .....	37
<b>Figura 13</b> – Rotaevaporação do Extrato .....	38
<b>Figura 14</b> – Resultados da Cromatografia de Camada Delgada: (a) Cromatoplaça visualizada sob luz branca; (b) Cromatoplaça revelada em luz UV a 254 nm; (c) Cromatoplaçada revelada com Cloreto Férrico. ....	41
<b>Figura 15</b> – Espectro de Absorção no Ultravioleta Visível do Extrato da Casca da Romã.....	42
<b>Figura 16</b> – Espectro de Absorção no Ultravioleta Visível do Extrato da Casca da Romã (Literatura). ....	43
<b>Figura 17</b> – Espectro de Absorção no Ultravioleta Visível do Extrato da Casca da Romã (Literatura). ....	44
<b>Figura 18</b> – logurte com Extrato (A) e logurte sem Extrato (B).....	49

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> – Fator de Retenção do Extrato da Casca da Romã e do Ácido Gálico.....	40
<b>Tabela 2</b> – Resultados da Secagem da Casca da Romã.....	45
<b>Tabela 3</b> – Condições e Resultados da Análise de Compostos Fenólicos do Extrato da Casca da Romã.....	45
<b>Tabela 4</b> – Compostos Fenólicos Totais do Extrato da Casca da Romã.....	46
<b>Tabela 5</b> – Teor de Umidade da Casca da Romã .....	48
<b>Tabela 6</b> – Condições e Resultados da Análise de Compostos Fenólicos dos logurtes .....	51
<b>Tabela 7</b> – Compostos Fenólicos Totais dos logurtes.....	51

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

FAO	Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura.
ANVISA	Agencia Nacional de Vigilância Sanitária.
OMS	Organização Mundial da Saúde.
RENISUS	Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao Sistema Único de Saúde.
EROs	Espécies Reativas de Oxigênio.
DNA	Ácido Desoxirribonucleico.
ATA	Ácido Tricloro Acético.
CCD	Cromatografia de Camada Delgada.
UV	Ultravioleta.
UV-VIS	Ultravioleta Visível.
AG	Ácido Gálico.
ER	Extrato da Casca da Romã.
Rf	Fator de Retenção.
EAG	Equivalente de Ácido Gálico.
CFT	Compostos Fenólicos Totais.

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>15</b>
<b>2 OBJETIVOS .....</b>	<b>17</b>
2.1 OBJETIVO GERAL .....	17
2.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS.....	17
<b>3 REFERENCIAL TEORICO .....</b>	<b>18</b>
3.1 IOGURTE .....	18
3.2 RESIDUOS AGROINDUSTRIAIS E ALIMENTOS FUNCIONAIS .....	20
3.3 COMPOSTOS FENOLICOS .....	22
3.4 ROMÃ.....	25
<b>4 METODOLOGIA.....</b>	<b>28</b>
4.1 MATERIA PRIMA .....	29
4.1.1 Romã .....	29
4.1.2 Leite .....	30
4.1.3 Iogurte.....	30
4.2 DETECÇÃO DE AGENTES BIOATIVOS .....	30
4.2.1 Preparação dos Extratos .....	30
4.2.2 Cromatografia de Camada Delgada (CCD) .....	31
4.2.3 Análise Por Espectrofotometria De UV-Visível.....	32
4.3 DETERMINAÇÃO DA MELHOR CONDIÇÃO DE EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS DA CASCA DA ROMÃ.....	32
4.3.1 Secagem da Casca da Romã .....	32
4.3.2 Preparação dos Extratos .....	33
4.3.3 Determinação de Compostos Fenólicos dos Extratos da Casca da Romã.....	33
4.3.4 Determinação do Teor de Umidade da Casca da Romã .....	35
4.4 PREPARAÇÃO DOS IOGURTES .....	35
4.4.1 Preparação das Amostras de Iogurte.....	35
4.4.2 Preparação do Extrato da Casca da Romã para a Incorporação no Iogurte. ....	37
4.4.3 Incorporação do Extrato da Casca da Romã no Iogurte .....	38
4.4.4 Determinação do pH dos Iogurtes .....	38
4.4.5 Determinação de Compostos Fenólicos no Iogurte .....	38
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÕES.....</b>	<b>38</b>

5.1 DETECÇÃO DE AGENTES BIOATIVOS .....	40
5.1.1 Cromatografia de Camada Delgada .....	40
5.1.2 Análise por Espectroscopia de UV-visível .....	42
5.2 DETERMINAÇÃO DA MELHOR CONDIÇÃO DE EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS DA CASCA DA ROMÃ .....	44
5.2.1 Secagem da Casca da Romã .....	44
5.2.2 Compostos Fenólicos dos Extratos da Casca da Romã .....	45
5.3 TEOR DE UMIDADE DA CASCA DA ROMÃ .....	48
5.4 IOGURTE .....	48
5.4.1 Compostos Fenólicos dos iogurtes .....	50
5.4.2 pH dos iogurtes .....	53
<b>6 CONSIDERAÇÕES FINAIS .....</b>	<b>54</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>55</b>
<b>APÊNDICE .....</b>	<b>62</b>
<b>APÊNDICE A – CALCULO DA INCORPORAÇÃO MINIMA DE EXTRATO NO IOGURTE .....</b>	<b>63</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A legislação brasileira define o iogurte como um produto no qual as bactérias *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *Bulgaricus* são cultivadas de forma protossimbiótica com objetivo de realizar uma fermentação, ademais, indica que para a formulação do mesmo podem ser adicionadas outros tipos de bactérias ácido lácticas com a finalidade de incorporar propriedades adicionais ao produto final (BRASIL, 2007). O iogurte ostenta um valor nutricional superior ao leite, seu consumo é bastante recomendado, os valores nutricionais do mesmo são devido a presença de proteínas, cálcio, fósforo, zinco e magnésio (PAIVA *et al.*, 2015). No entanto apesar de ser considerado um dos alimentos mais completos, em termos de compostos bioativos é considerada deficiente, já que não apresenta em sua composição fibras, pigmentos ou compostos fenólicos, razão pela qual se realizam diversos estudos em torno a sua suplementação (HERNÁNDEZ-CARRANZA *et al.*, 2019).

O discernimento sobre os alimentos que são consumidos teve um grande aumento nos últimos anos, isto se deve aos consumidores realizarem uma seleção mais oportuna dos mesmos, visando levar um estilo de vida mais saudável (BERDEJA *et al.*, 2018). Além disso, produtos alimentícios de qualidade sensorial e nutricional elevada que estejam isentos no maior possível de aditivos sintéticos ou conservantes fazem parte da tendência e demanda dos consumidores atualmente, assim como também de alimentos em cuja composição estejam presentes compostos bioativos como as vitaminas, minerais e compostos fenólicos (HERNÁNDEZ-CARRANZA *et al.*, 2019)

É de conhecimento geral que as frutas e verduras são as maiores fontes deste tipo de compostos, entretanto no seu processamento para consumo são obtidos diversos subprodutos como as cascas e as sementes que na maioria das vezes possuem composição bioativa similar ou superior ao produto em questão. Desta forma, diversos estudos estão sendo realizados para o aproveitamento de subprodutos do processamento de frutas e verduras na fortificação ou desenvolvimento de novos produtos, como por exemplo, o iogurte (HERNÁNDEZ-CARRANZA *et al.*, 2019).

Entre as frutas que são consideradas grandes fontes de compostos bioativos a romã ganha grande destaque. A romãzeira (*Punica granatum* L.) é um arbusto nativo do Oriente Médio cuja composição dada por compostos fenólicos tem despertado interesse dos produtores, consumidores e pesquisadores devido à capacidade antioxidante, anti-inflamatória e antimicrobiana. Estudos demonstram que os compostos



fenólicos estão presentes em todas as partes da romã (SANTIAGO, 2014), porém, a casca que representa cerca de 50% do peso do fruto, contém grande parte dos compostos fenólicos. Entretanto, a casca ainda é considerada um resíduo e toneladas da mesma acabam sendo descartadas sem serem reutilizadas (FERNANDES *et al.*, 2014).

Assim, este trabalho visa o estudo e a análise das propriedades da casca da romã, empregando técnicas analíticas e comparando com os dados da literatura, como também avaliar a sua utilização como fonte de compostos fenólicos para a incorporação em iogurte.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar o extrato da casca da romã como fonte de compostos fenólicos para a incorporação em iogurte.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Identificar compostos bioativos presentes no extrato da casca da romã pelo método de cromatografia em camada delgada.
- Identificar por Espectrometria de Ultravioleta Visível os picos de absorção máximos do extrato da casca da romã comparando-os com os dados descritos na literatura.
- Determinar a melhor condição de extração de compostos fenólicos da casca da romã.
- Elaborar iogurte com e sem adição de extrato da casca da romã.
- Caracterizar os iogurtes mediante a determinação dos compostos fenólicos e pH.

### 3 REFERENCIAL TEÓRICO

#### 3.1 IOGURTE

A legislação brasileira (Instrução Normativa n.º 46, de 23 de outubro de 2007) define o leite fermentado como sendo um produto formado a partir da diminuição do pH e a coagulação do leite, ou do leite reconstituído, onde podem ou não ser incorporados outros produtos lácteos por meio da fermentação láctica que se dá a partir da ação de cultivos de micro-organismos específicos, onde podem ou não ser acrescentados substâncias alimentícias distintas. Os micro-organismos específicos para a produção do iogurte são *Streptococcus salivarius subsp. thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii subsp. Bulgaricus* cuja fermentação deve se dar mediante cultivos protosimbióticos das mesmas e que a sua vez pode ser ou não complementados com outras bactérias lácticas (BRASIL, 2007).

A seguir a mesma explica que os leites fermentados podem ser classificados dependendo da matéria gorda mínima presente em sua composição como: com creme (6,0 g / 100 g), integrais ou inteiros (3,0 g / 100 g), parcialmente desnatados (2,9 g / 100 g) e desnatados (0,5 g / 100 g). A sua vez, a classificação pode se dar como leite fermentados com adições, caso ingredientes não lácteos sejam acrescentados na formulação, seja antes da fermentação ou depois. A classificação de leites fermentados com açúcar, açucarados ou adoçados e/ou aromatizados/saborizados se dá quando existe uma adição de açúcares que podem estar ou não acompanhados de glicídios, amidos ou amidos modificados, ademais de maltodextrina ou no caso de que se incorporem aromatizantes ou saborizantes (BRASIL, 2007).

Sobre a origem do iogurte, apesar de não ser muito precisa estudos indicam que se monta ao período Neolítico, onde se começou a domesticação de animais mamíferos e a utilização do seu leite como alimento, se presume que os camelos, búfalos, ovelhas, cabras ou vacas foram os primeiros animais mamíferos a serem domesticados. Os pastores desse período acondicionavam o leite destes animais em marmitas de barro que eram mantidas à temperatura ambiente que podia chegar até os 43 °C considerando o clima do deserto, essas condições resultavam ideais para que ocorresse a fermentação do leite (ELVAS, 2016).

Existia uma certa restrição em torno do consumo do iogurte, apenas alguns grupos étnicos faziam uso dele como alimento. Somente a partir do ano 1960 com a adição

de frutas para amenizar o sabor ácido do mesmo que a sua aceitação começou a se expandir (MARAFON, 2010).

Essa expansão da aceitação estava fortemente ligada também ao elevado valor nutricional que o iogurte possui e a uma maior exposição das suas propriedades nutricionais benéficas para a saúde (SIEBRA, 2018). Potássio, zinco, fosforo, vitaminas do complexo B e especialmente o cálcio são só alguns dos nutrientes dos quais o iogurte é fonte. Adicionalmente, brinda uma melhor digestão da lactose e proteínas, como também uma maior absorção dos minerais e um incremento do teor das vitaminas do complexo B, um maior fortalecimento das defesas, regulação da flora intestinal e diminuição dos efeitos de distúrbios gastrointestinais causado por microrganismos patogênicos (ELVAS, 2016). Atualmente o iogurte é considerado um dos alimentos mais consumidos mundialmente, porém é qualificado como deficiente em compostos fenólicos, no entanto, devido a que se trata de um alimento de fácil digestão se converte em uma fonte bioacessível para a fortificação ou incorporação de fontes antioxidantes (GARCIA, 2020).

Por outro lado, o processo de produção do iogurte que a princípio seguia uma técnica bastante simples se propagou mundialmente e hoje em dia são utilizadas técnicas mais sofisticadas de produção (MARAFON, 2010). Em geral essa produção começa por uma seleção de matéria-prima adequada, já que o leite deve ter uma qualidade elevada para não causar problemas na produção. O leite deve ter uma contagem de bactérias baixa para não prejudicar o crescimento das culturas lácticas, além disso, a presença de micro-organismos patogênicos e antibióticos são fatores de rejeição da matéria-prima, considerando que a mínima quantidade de antibiótico consegue inibir a fermentação láctea (SIEBRA, 2018).

Elvas (2016) explica que o tratamento térmico permite a eliminação de possíveis micro-organismos patogênicos que possam atuar como competidores por substrato, também permite a eliminação do oxigênio presente no leite e a desnaturação das proteínas do soro que interagem com a caseína. Por outro lado, Siebra (2018) menciona que o tratamento térmico mais aconselhável é utilização de binômios temperatura/tempo, geralmente realizada em pasteurizadores a placas a temperaturas de 90 a 95 °C durante 3 minutos.

O teor de gordura é um fator importante na característica do iogurte, o mesmo deve estar no padrão (para não influenciar na textura do iogurte) sendo de 3 a 4%. Essa padronização industrial acontece logo após o desnate do leite, o mesmo é misturado

com o creme ou nata para chegar ao teor de gordura necessário (SIEBRA, 2018), enquanto para aumentar o valor proteico são adicionados leite em pó ou proteínas do soro (ELVAS, 2016). Cabe destacar também que nesta etapa podem ser adicionados espessantes e estabilizantes para evitar alguma possível separação do soro e acrescentar viscosidade ao iogurte (SIEBRA, 2018), ademais de edulcorantes para conferir certa doçura ao produto final (ELVAS, 2016).

Na etapa de fermentação é utilizada uma temperatura de 42 a 43 °C considerada ótima para incorporar as culturas de *Streptococcus salivarius subsp. thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii subsp. Bulgaricus*. Por meio da geração do coágulo e da lactose que se encontra presente no leite as bactérias conseguem produzir o ácido láctico. No início do processo, o primeiro grupo de microrganismos, devido a sua alta capacidade de adaptação ao pH neutro, começa a introduzir-se no crescimento exponencial, enquanto o segundo aguarda uma acumulação do ácido láctico para começar o seu crescimento, de forma que por meio do processo de simbioses se possa assegurar a fermentação (SIEBRA, 2018). Geralmente é realizado por 4 a 6 horas desprovido de agitação e com um controle rigoroso (ELVAS, 2016)

Após esse período e atingido um pH que pode variar de 4,5 a 4,7 (SIEBRA, 2018) é realizado um arrefecimento ou resfriamento para suspender o processo fermentativo a uma temperatura não superior à 5 °C, evitando qualquer alteração das propriedades sensoriais, físico-químicas e biológicas do iogurte. Finalmente o mesmo passa para a embalagens correspondentes, podendo ser estas de vidro ou de plástico, seguida do seu armazenamento a uma temperatura de 5 °C (ELVAS, 2016).

### 3.2 RESÍDUOS AGROINDUSTRIAIS E ALIMENTOS FUNCIONAIS

A Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura (FAO) expõe que aproximadamente 1,300 bilhões de toneladas de alimentos são desperdiçados no mundo anualmente, representando cerca de um quarto a um terço dos alimentos fabricados para o abastecimento humano. Adicionalmente, a FAO estima que tal quantidade poderia equivaler à alimentação de cerca de 2 bilhões de pessoas (BENITEZ, 2014).

A produção abundante, o acondicionamento inadequado e principalmente o descarte das partes consideradas pouco nobres dos alimentos são as principais causas do desperdício de alimentos, de fato estes últimos, em sua maioria são descartados sem

nenhum aproveitamento das suas propriedades nutricionais e funcionais, gerando dessa forma problemas tanto ambientais quanto econômicos (SOUSA, 2019).

Morzelle (2012) explica que a diferença entre resíduos sólidos e lixo é que o primeiro tem um interesse econômico associado que pode promover o reaproveitamento, enquanto o segundo não possui nenhum valor agregado. A autora também aponta que o descarte dos resíduos sólidos constitui uma perda não só de matéria-prima, mas também de energia, já que grandes investimentos são feitos no tratamento dos mesmos.

Cabe destacar que os talos, cascas, caules, sementes e folhas, são os que constituem a maioria dos resíduos sólidos (SOUSA, 2019), em alguns casos inclusive superam a quantidade do produto final (FREITAS, 2017). No entanto, diversos estudos estão sendo desenvolvidos em torno dos mesmos para serem reaproveitados, já que foi evidenciado a presença de quantidades significativas de compostos bioativos neles, em sua maioria benéficos para a saúde e com possíveis aplicações tecnológicas (MORZELLE, 2012).

Tanto a produção de novos produtos como a incorporação em produtos já existentes, são alguns dos possíveis usos para os resíduos provenientes de frutas e hortaliças. A utilização de tecnologias modernas como também de referências detalhadas e completas sobre o potencial bioativo dos mesmos permitem uma exploração mais ampla para transformar um subproduto considerado como desperdício em um produto com valor agregado e comercial (OLIVEIRA, 2017). Aplicações descritas na literatura sugerem a utilização destes como aditivos naturais, seja como antioxidante, corante, espessante, aromatizante ou inclusive como antimicrobiano (FREITAS, 2017), uma vez que existe um maior discernimento sobre os alimentos consumidos no dia a dia por parte dos consumidores (BERDEJA *et al.*, 2018) e, portanto, uma maior preocupação sobre as consequências à saúde da ingestão diária de aditivos sintéticos presentes nos alimentos (FREITAS, 2017).

Nesse sentido, visando um maior aproveitamento dos subprodutos e buscando atender as necessidades do consumidor aparece como alternativa a incorporação dos mesmos em produtos consumidos cotidianamente como, por exemplo, as bebidas lácteas e os iogurtes, gerando dessa forma um produto que além de possuir um valor agregado, contribui com o aproveitamento de subprodutos destinados ao descarte direto (OLIVEIRA, 2017).

Cabe destacar que os produtos que possuem em sua composição

substâncias benéficas a saúde e capazes de diminuir o risco de doenças ao corpo humano, além de fornecer nutrientes, são denominados alimentos funcionais. Alimentos funcionais são uma conjunção da tecnologia alimentar com a farmacologia e que procuram a promoção por meio da alimentação da melhoria da qualidade de vida (ELVAS, 2016).

Dois tipos de alegações podem ser dados aos alimentos funcionais de acordo com a legislação brasileira, a primeira é a alegação de propriedade funcional, relacionada ao nutriente ou ao não nutriente e sua função metabólica ou fisiológica no crescimento, desenvolvimento e manutenção do organismo, enquanto a segunda é a alegação de propriedade da saúde, onde o alimento funcional em questão tem uma relação com uma doença ou condição de saúde específica. Cabe destacar que no Brasil a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) é a encarregada de regulamentar os alimentos funcionais, por meio das resoluções ANVISA/MS 16/99, ANVISA/MS 17/99, ANVISA/MS 18/19 e ANVISA/19/99 (FARIAS, 2018).

### 3.3 COMPOSTOS FENOLICOS

Quando uma substância consegue impedir ou paliar a oxidação de substratos, ainda quando a sua presença é dada em concentrações baixas é denominada antioxidante. A reação de um antioxidante com um radical livre faz parte do seu mecanismo de ação e por meio deles conseguem formar um novo radical estável que já não consegue seguir com a propagação da reação (SILVA *et al.*, 2013).

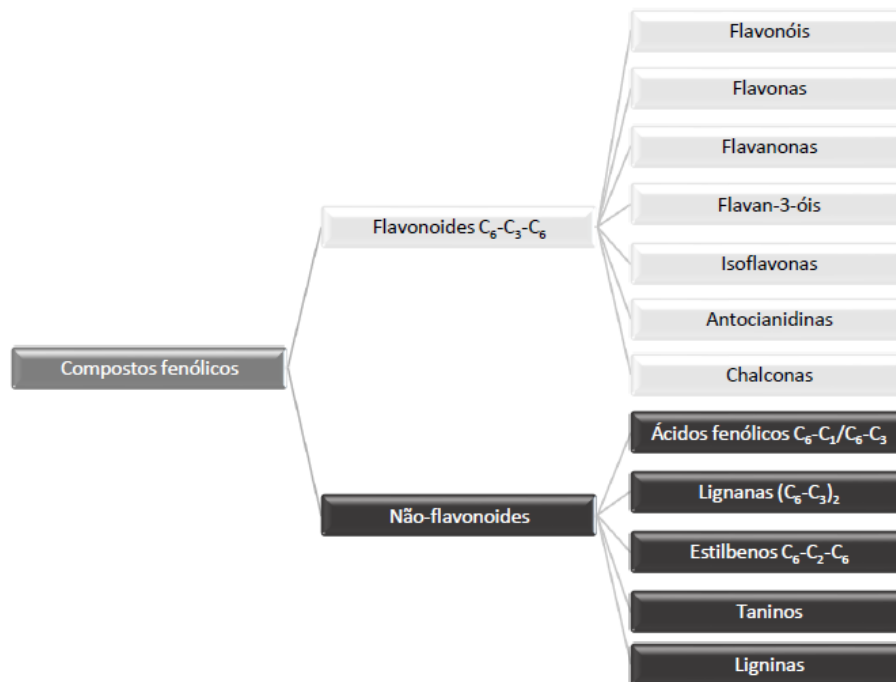
Souza *et al.* (2007) explicam que as doenças associadas ao envelhecimento, como por exemplo as cardiovasculares e as disfunções cerebrais estão amplamente ligadas aos radicais livres e outros agentes oxidantes, a sua vez explicam o processo das mesmas:

Espécies reativas de oxigênio (EROs), tais como radical hidroxila ( $\bullet\text{OH}$ ), ânion radical superóxido ( $\text{O}_2\bullet^-$ ) e hidroperoxila ( $\text{ROO}\bullet$ ), causam danos ao DNA ou podem oxidar lipídios e proteínas. Os EROs atacam as cadeias de ácidos graxos poliinsaturados dos fosfolipídios e do colesterol, abstraindo um hidrogênio do grupo metileno bis-alfílico, iniciando assim o processo de peroxidação lipídica nas membranas celulares. Os radicais de carbono formados podem reagir com oxigênio originando radicais peroxila, que por sua vez podem atacar novas cadeias de ácidos graxos poliinsaturados, propagando a reação. O resultado deste processo é a oxidação de várias moléculas de ácidos graxos 2,3. Os hidroperóxidos formados na

peroxidação lipídica têm vida curta e, quando reagem com metais, formam aldeídos (isto é, malonaldeído, acroleína, crotonaldeído) e epóxidos, os quais são reativos e causam danos de novo ao DNA (SOUZA *et al.*, 2007).

Dentre as substâncias antioxidantes, os compostos fenólicos são os que possuem grande relevância e estão presentes na maior parte do reino vegetal (SILVA *et al.*, 2013). A presença de um anel aromático ligado diretamente ao menos a um grupo hidroxila é a característica principal dos mesmos (PAIS, 2021). Até então foram encontradas mais de 8000 estruturas fenólicas distribuídas de forma abrangente em distintos produtos de origem natural. Em relação a sua classificação, diversos autores concordam em segmentar os mesmos em dois grandes grupos sendo o primeiro os não flavonoides (fenóis simples ou ácidos) e o segundo os flavonoides (polifenóis) (ELVAS, 2016), como pode ser observado na figura 1.

**Figura 1** – Classificação dos Compostos Fenólicos



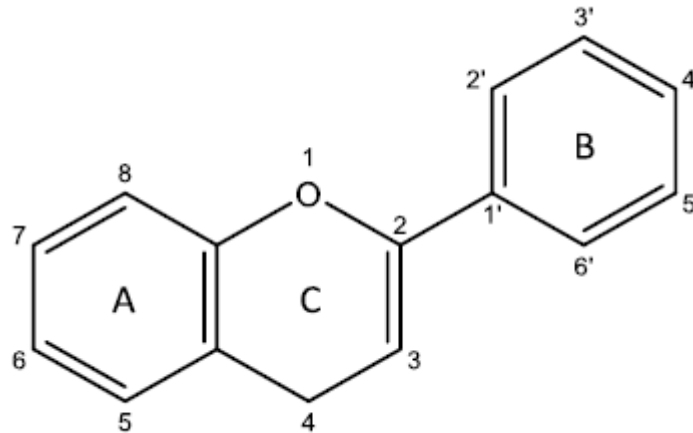
**Fonte:** Veloso, 2019.

Por um lado, estão os flavonoides que são os encarregados de dar a cor como também o aroma das frutas e flores, além de protegê-los de fatores bióticos, abióticos e da radiação UV. São considerados de extrema importância na dieta humana já que a sua sintetização não é realizada pelos mamíferos. A estrutura básica dos mesmos pode ser



observada da figura 2 e consta da conjunção de dois anéis aromáticos unidos por uma ponte de 3 carbonos (VELOSO, 2019).

**Figura 2** – Estrutura Básica dos Flavonoides



**Fonte:** Veloso, 2019.

Quando o anel B encontra-se ligado ao anel C na posição 3, o flavonoide em questão é denominado isoflavona, se o anel B está ligado ao C na posição 4 a denominação genérica é de neoflavonoide, se a ligação do anel B com o C é dado na posição 2 é realizada uma subdivisão dependendo das propriedades estruturais do anel C, nesta subdivisão encontram-se os flavonóis, flavonas, flavanonóis, flavanóis, flavanonas, chalconas, catequinas e as antocianinas (VELOSO, 2019).

Por outro lado, encontra-se o grupo dos não flavonoides, cuja subdivisão está composta pelos ácidos fenólicos, as lignanas, estilbenos, taninos e as ligninas. Desta subdivisão os que tem mais destaque são os ácidos fenólicos cuja função principal está relacionada a reprodução e o desenvolvimento das plantas, mas considerando que aspectos como a temperatura, luz ou poluição podem condicionar a sua síntese, os mesmos podem se subdividir em derivados hidroxibenzoicos e hidroxicinâmicos (VELOSO, 2019).

De acordo com Vital (2014) a capacidade antioxidante dos compostos fenólicos se dá devido a sua ótima condição de doador de hidrogênio ou elétrons, assim como também devido à excelente estabilidade dos radicais intermediários que impossibilitam a continuação da reação e conseqüentemente a oxidação. Souza e colaboradores (2007) afirmam o mesmo e adicionam que tal estabilidade se dá em conseqüência da ressonância do anel que as estruturas deste tipo de compostos possuem.

### 3.4 ROMÃ

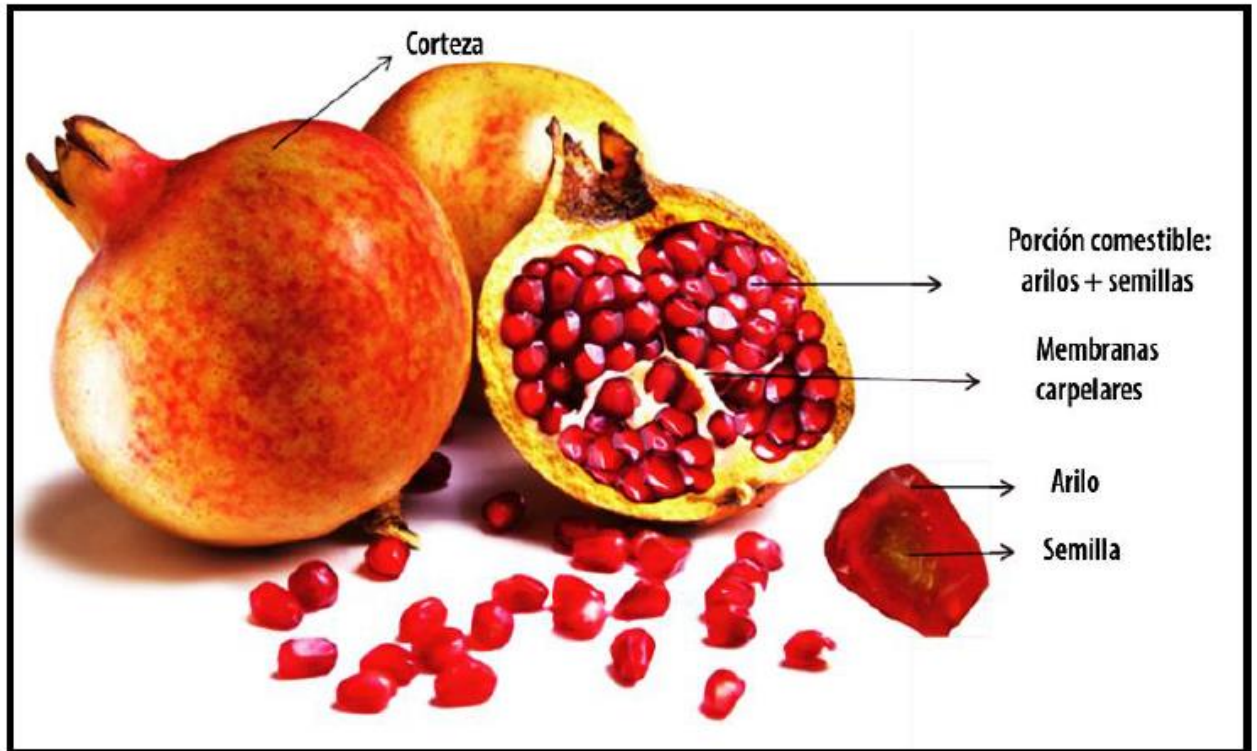
Segundo Desgáspari e Dutra (2011) a Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao Sistema Único de Saúde (RENISUS) procurando mostrar um encaminhamento correto a população sobre a utilização segura e eficaz das plantas medicinais conduziu um estudo sobre os fitoterápicos que estão à disposição para tal fim, na mesma se encontravam em total 71 espécies de plantas medicinais e entre eles achava-se a *Punica granatum L.*

Morzelle (2016) explica que a romã foi caracterizada pela primeira vez no ano 1758 por Linnaeus, quem a classificou como sendo do reino Plantae, da ordem Myrtales, família Lythraceae, gênero punica e da espécie *Punica granatum*. A autora também menciona que foi uma das primeiras frutas a ser domesticadas e que atualmente no Brasil existe um avanço na produção como consequência da alta demanda por parte de indústrias como a de cosméticos, alimentos e a farmacêutica, assim como também pelos consumidores visando seu consumo *in natura*.

Cabe destacar que a família Punicaceae da qual a romã faz parte é a menor família de plantas que abarcam um gênero e duas espécies, a primeira se trata da *Punica granatum L.* (comestível) oriunda de zonas do Irã e de regiões do Mediterrâneo, enquanto a segunda é a *Punica Protopunica* (não comestível) endógena das ilhas do Oceano Indico especificamente do Arquipélago de Socotorá (SANTOS; BORGES; CONSTANT, 2020).

O arbusto da fruta possui uma altura que varia de 3 a 5 metros, suas folhas se elevam de maneira agrupada e são fasciculadas nos extremos (PEREIRA, 2022). A fruta (figura 3) é constituída por uma casca coriácea com um cálice cujo diâmetro varia de 5 a 8 cm, bagas globosas e sementes de contornos prismáticos (BERDEJA *et al.*, 2018). A cor da fruta tem uma variação entre amarelo, verde e vermelho, o teor de sólidos solúveis se encontra entre 14° e 18° Brix e o teor de acidez entre 1,6% a 1,0%, no entanto estes valores podem sofrer alteração de acordo com o tipo de variedade e cultivo (SOLORZANO *et al.*, 2021).

**Figura 3** – Constituição da fruta da romã



Fonte: Merma, 2020.

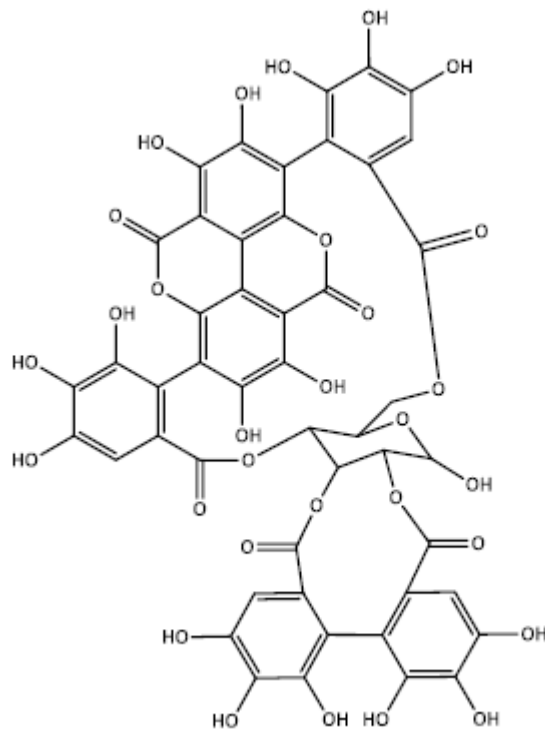
Referente à sua composição bioativa, diversos autores destacam a presença de compostos bioativos em cada parte da constituição da romã (SANTIAGO *et al.*, 2014). Os compostos fenólicos são os fitoquímicos que se encontram em maior quantidade na romã, em conjunto somam mais de 150 detectados na mesma (SOLORZANO *et al.*, 2021). Compostos fenólicos como a antocianinas, antocianidinas, flavonas, flavonoides, o ácido elágico, ácido púnic e os taninos são apenas alguns dos que estão presentes na composição da romã (ARRAES *et al.*, 2022).

Cabe destacar que as antocianinas em sua forma glicosilada, como as delfinidina, cianidina e pelargonidina, são as encarregadas de dar ao suco a cor vermelha característica (VELOSO, 2019), como também de atuar como antioxidante e por conseguinte brindar benefícios a saúde como a diminuição do colesterol LDL (SOLORZANO *et al.*, 2021)

No entanto, estudos demonstraram que os compostos fenólicos se concentram em sua maioria na casca, alcançando até três vezes mais que a composição destes no suco. Do subgrupo das antocianinas, os que tem maior destaque são a cianidina-3-O-rutinósido, pelargonidina-3,5-O-diglucósido, cianidina-3,5-O-diglucósido, cianidina-3-O-glucósido, e a pelargonidina-3-O-glucósido. Além disso os taninos também possuem

grande relevância graças a sua característica fundamental, a propriedade de poder se complexar com as proteínas, o que explica sua capacidade inibidora. Ademais consegue interagir com as paredes celulares das bacterias o que atribui a casca da romã propriedades antimicrobianas. A concentração dos taninos (elagitanino), especificamente da punicalagina (figura 4) é tão elevada na romã até o ponto que o nome científico parte dos mesmos (VELOSO, 2019).

**Figura 4** – Estrutura Química da Punicalagina



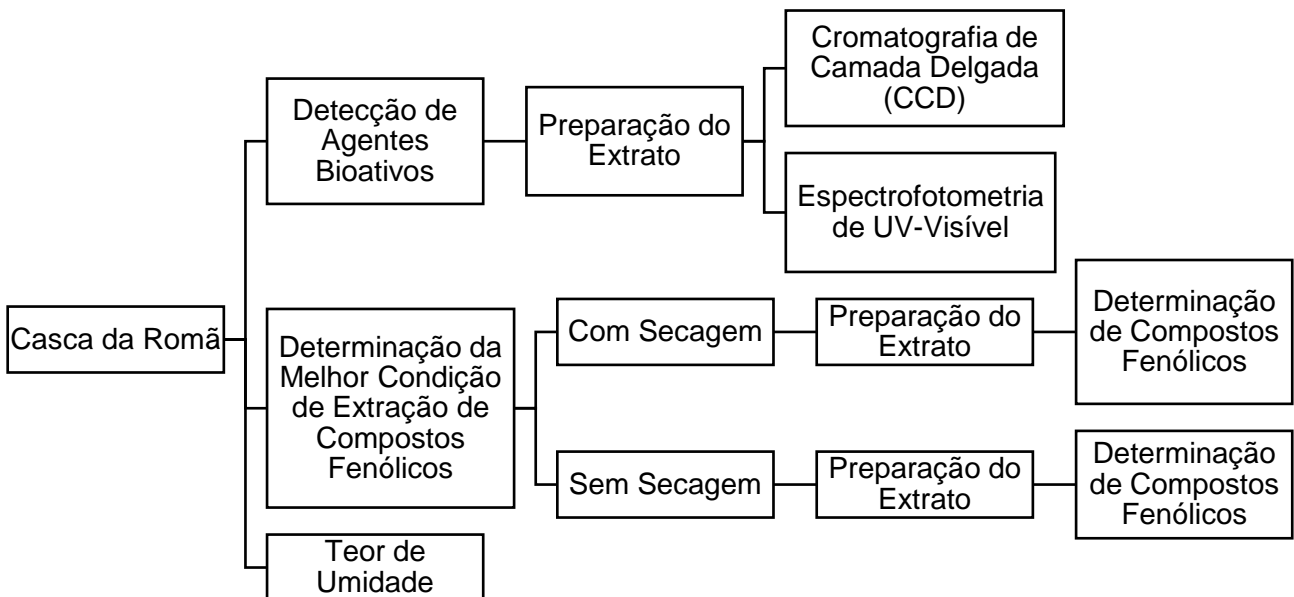
Fonte: Veloso, 2019.

Porém, apesar de representar cerca de 50% do peso do fruto, sendo que grande parte dos compostos fenólicos se encontra nela, a casca ainda é considerada como resíduo na indústria de bebidas e toneladas acabam sendo descartadas sem serem reutilizadas (FERNANDES *et al.*, 2014).

## 4 METODOLOGIA

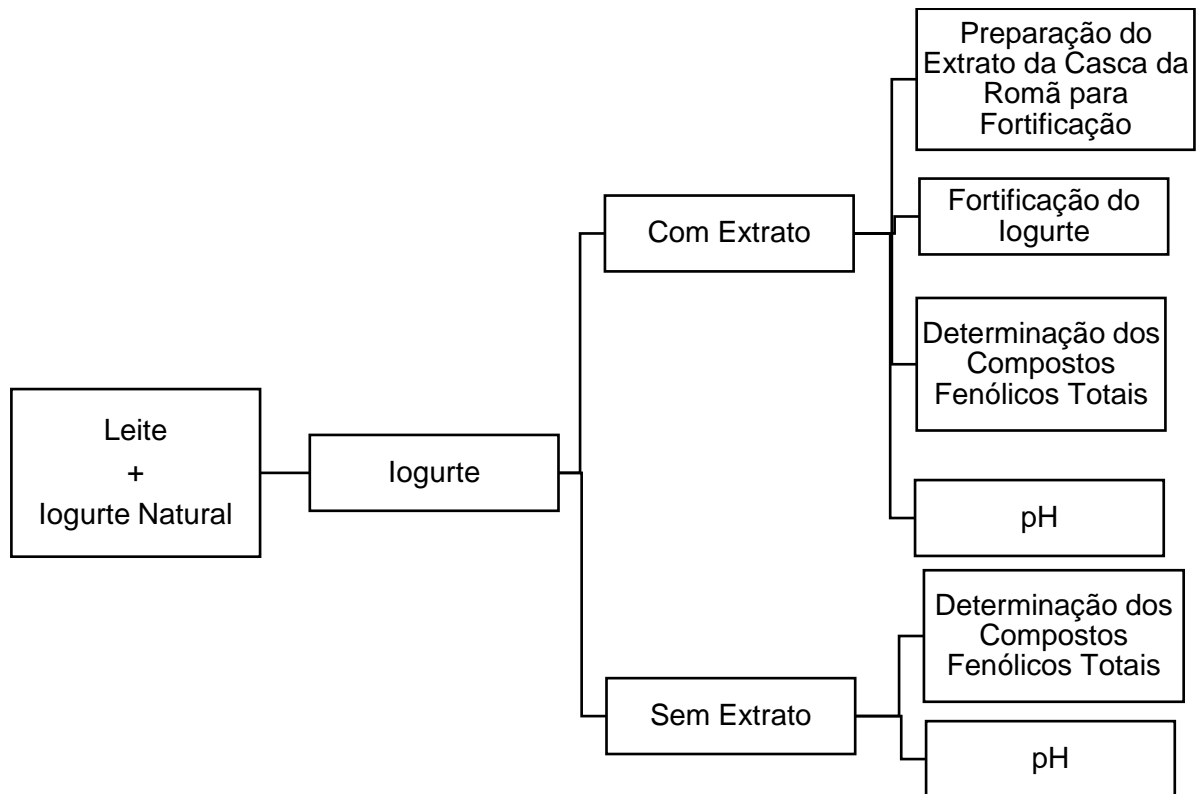
Este trabalho foi desenvolvido nos laboratórios multidisciplinares de química e tecnologia, biocombustíveis, assim como também no laboratório de cromatografia e preparo de amostras da Universidade Federal da Integração Latino Americana, no período compreendido de maio a julho do ano 2022, seguindo os fluxogramas expostos na figura 5 e 6. O primeiro apresenta as etapas da preparação do extrato e análise da casca da romã enquanto o segundo mostra as etapas correspondentes à síntese do iogurte.

**Figura 5** – Fluxograma das Etapas de Preparação e Análise da Casca da Romã



**Fonte:** Autora, 2022.

**Figura 6** – Fluxograma das Etapas de Preparação e Análise do logurte



**Fonte:** Autora, 2022.

## 4.1 MATERIA PRIMA

### 4.1.1 Romã

As frutas da romã foram coletadas na cidade de Presidente Franco, Paraguai e suas proximidades, mantidas sob refrigeração em um recipiente fechado e protegido da luz até o momento das análises (figura 7).

**Figura 7 – Frutas da Romã**



**Fonte:** Autora, 2022.

#### 4.1.2 Leite

Para os testes, foram utilizadas duas marcas de leite, ambas do tipo ultrapasteurizado com 3% de gordura, adquiridos em supermercado local.

#### 4.1.3 Iogurte

Da mesma forma, foram adquiridas duas marcas de iogurte natural que continham a cultura láctica de *Lactobacillus Bulgaricus* e *Streptococcus thermophilus*, ambos também comprados em supermercado local.

### 4.2 DETECÇÃO DE AGENTES BIOATIVOS

#### 4.2.1 Preparação dos Extratos da Casca da Romã

Os arilos foram seccionados, separados da casca da romã, triturados e macerados. 5 g da casca foram transferidos para um recipiente e diluídos com 15 mL de etanol. Esta solução foi mantida sob agitação durante 2 horas à temperatura ambiente,

filtrada, mantido sob refrigeração e protegido da luz até o momento das análises.

Um procedimento análogo foi adotado para a separação do extrato da casca com menor concentração. A diferença decorreu da quantidade de amostra utilizada já que se empregaram 1 g de casca úmida para 15 mL de etanol.

#### 4.2.2 Cromatografia de Camada Delgada (CCD)

Seguindo o método utilizado por Oliveira *et al.* (2017) com modificações, empregou-se placas de sílica gel 60 com indicador fluorescente UV254 (Macherey-Nagel®) como fase estacionária e acetato de etila, ácido fórmico, água, éter de petróleo, éter etílico e butanol como eluentes, os quais foram preparados nas proporções descritas no quadro 1. Como padrão empregou-se o ácido gálico. Como reveladores utilizou-se uma lâmpada de emissão de radiação ultravioleta em 254 nm (Boitton Instrumentos®). Cloreto férrico também foi utilizado como agente revelador.

**Quadro 1** - Eluentes e Proporções

<b>Eluentes</b>	<b>Proporções</b>
Acetato de Etila: Acido Fórmico: Água	90 : 5 : 5
Éter de Petróleo: Éter Etílico	3 : 7 7 : 3
Éter etílico: Acetato de etila	7 : 3 3 : 7
Butanol: Acetato de Etila: Água	1 : 3 : 6 1 : 6 : 3 6 : 3 : 1

**Fonte:** Autora, 2022.

Com auxílio de um capilar aplicou-se uma gota da amostra na placa de sílica gel. A mesma foi colocada em um recipiente, como cuba cromatografica, e observou-se a eluição. Ao final deste processo, a placa foi retirada, seca, e observada a luz natural e em seguida levada a câmara de UV em 254 nm e finalmente aplicou-se o revelador, cloreto férrico.

O mesmo procedimento foi usado para o padrão.

Seguindo o método descrito por Garcia e Maridueña (2019) buscou-se indicativos da presença de grupos cromóforos, que segundo esses autores, são compostos



altamente saturados, identificados pela presença de manchas coloridas observadas nas cromatoplasmas através dos agentes de revelação e comparado com o padrão utilizado. Na sequência determinou-se o fator de retenção ( $R_f$ ) tanto do padrão como do extrato.

$$R_f = \frac{\text{Distancia Percorrida pela Amostra desde a Origem}}{\text{Distancia Percorrida pelo Eluente desde a Origem}} \quad (\text{equação 1})$$

A identificação e detecção dos compostos bioativos presentes no extrato foi realizada comparando o fator de retenção do extrato da casca com o do padrão ácido gálico.

#### 4.2.3 Análise Por Espectrofotometria De UV-Visível

As leituras das absorvâncias do extrato foram realizadas em um espectrofotômetro UV-Visível, modelo Evolution 201-Thermo Scientific no comprimento de onda entre 190 a 1100 nm.

### 4.3 DETERMINAÇÃO DA MELHOR CONDIÇÃO DE EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS DA CASCA DA ROMÃ

#### 4.3.1 Secagem de Casca de Romã

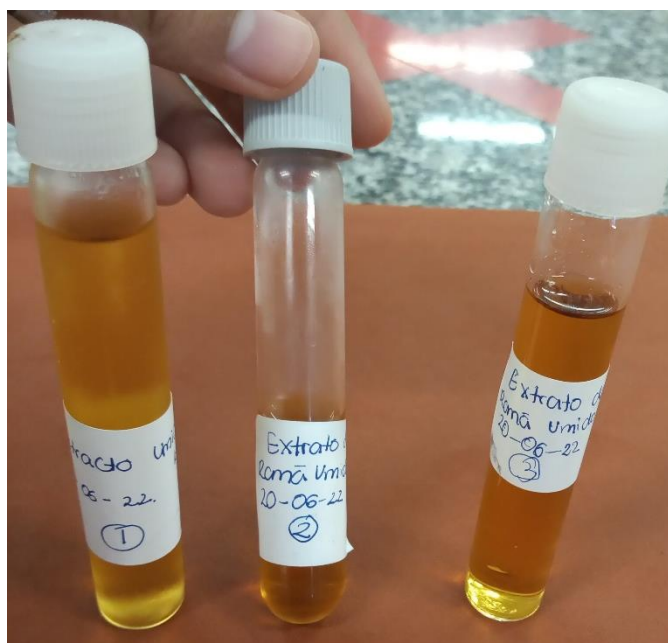
A secagem da casca da romã foi realizada com o intuito de avaliar o impacto que poderia ocasionar na composição fenólica da mesma. Para isso, os arilos foram separados da casca, triturados e macerados. Uma amostra (5 g) foi colocada em uma placa de Petri e transferidos para uma estufa (Lucadema<sup>®</sup>) previamente aquecida e temperatura ajustada a 65°C para evitar possíveis variações da mesma, por um período de 2 horas. O procedimento foi realizado em triplicata. Após este tempo, as amostras foram retiradas da estufa e aguardadas até atingirem a temperatura ambiente para pesagem. Em seguida, as amostras foram guardadas na estufa, mantidas no escuro e sem circulação de ar para evitar a oxidação. Este procedimento se mantém até a preparação do extrato.

Para fins de comparação, a preparação do extrato foi realizada com uma amostra úmida da casca da romã, levando em conta a diferença na estocagem e na ausência de secagem. No que diz respeito a estocagem, as amostras foram envolvidas em papel alumínio e guardadas sob refrigeração até o momento da preparação do extrato.

#### 4.3.2 Preparação dos Extratos

Para a obtenção dos extratos, utilizaram-se 5,0 g das cascas secas em estufa, durante 2 horas, seguindo o procedimento descrito na seção 4.2.1. O mesmo método foi empregado para a preparação do extrato a partir de 5 g de amostras de cascas úmidas. Os procedimentos foram realizados em triplicata. Os extratos preparados se encontram ilustrados na figura 8.

**Figura 8** – Extrato da Casca de Romã Úmida



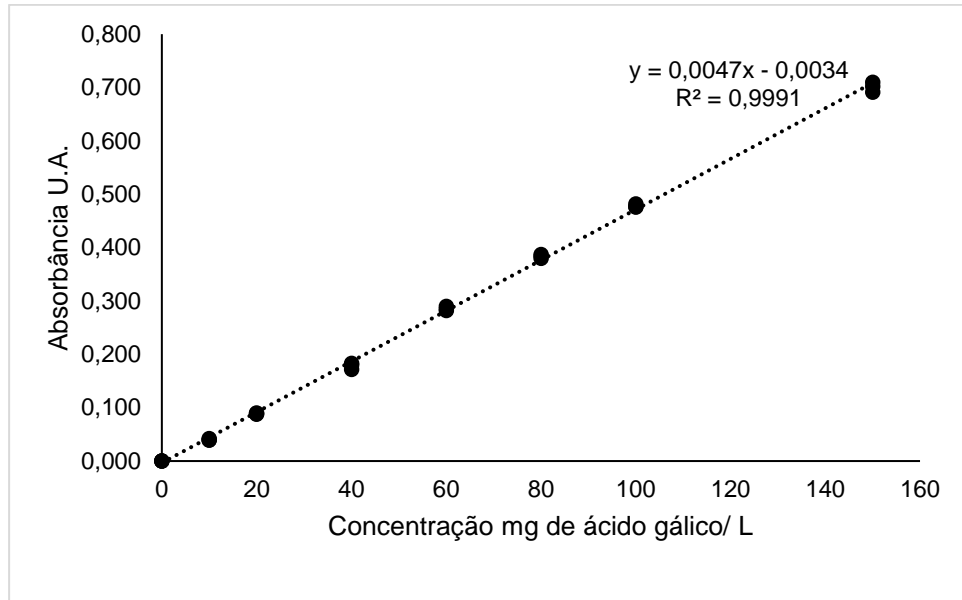
Fonte: Autora, 2022.

#### 4.3.3 Determinação de Compostos Fenólicos dos Extratos da Casca da Romã

A determinação do teor de compostos fenólicos dos extratos da casca da romã foi realizada seguindo o método descrito por Boroski *et al.* (2015). Primeiramente, em um tubo de ensaio foram transferidos 250  $\mu\text{L}$  do extrato de amostra seca e 250  $\mu\text{L}$  do reagente Folin-Ciocalteu (diluído 1:1) seguido de 500  $\mu\text{L}$  de uma solução saturada de carbonato de sódio e finalmente adicionados 4,0 mL de água destilada. Os tubos de ensaio foram agitados, mantidos em repouso e protegidos da luz, mantendo-se a temperatura ambiente durante 25 minutos e centrifugados a 3000 rpm durante 10 minutos. A leitura de absorbância foi feita em espectrofotômetro de UV-visível a 725 nm. Como padrão foi empregado o ácido gálico, cuja solução foi preparada sob proteção da luz diluindo-se

0,010g em 50 mL de água destilada. As diluições foram feitas em concentrações entre 0 até 200 mg L<sup>-1</sup>. A curva de calibração pode ser visualizada na Figura 9.

**Figura 9** – Curva de Calibração obtida com o Padrão Ácido Gálico.



**Fonte:** Boroski *et. al*, 2015.

Para determinação dos compostos fenólicos do extrato da casca de romã úmida, foram necessárias diversas diluições para atingir uma concentração ideal de trabalho. A primeira consistia em uma diluição de 10 % utilizando 0,25 mL do extrato e 9,75 mL de etanol, deste foram utilizados 25  $\mu$ L e diluídos em 225  $\mu$ L de etanol (figura 10). Na sequência, procedeu-se a análise do teor de compostos fenólicos conforme descrito anteriormente.

**Figura 10** – Diluição do Extrato da Casca da Romã Úmida.



**Fonte:** Autora, 2022.

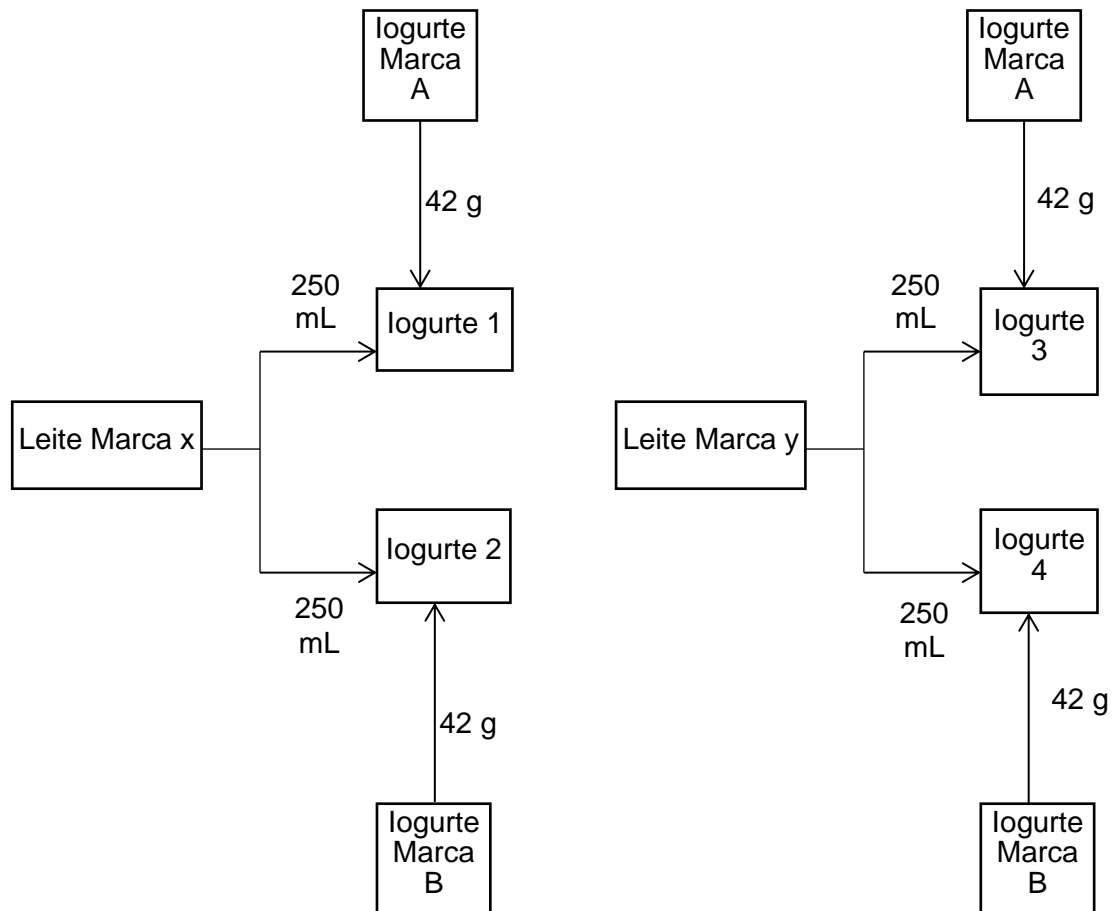
#### 4.3.4 Determinação do Teor de Umidade da Casca da Romã

As amostras foram colocadas em placas de Petri totalmente secas, de tal maneira que a umidade fosse retirada e evitasse possíveis interferências. Pesou-se 5 g da amostra de casca de romã, que foram levadas a estufa por 5 horas a uma temperatura de 105 °C. Após este tempo a mesma foi retirada e transferida para um dessecador até atingir a temperatura ambiente, a fim de se proceder a pesagem. A análise foi realizada em triplicata.

### 4.4 PREPARAÇÃO DOS IOGURTES

#### 4.4.1 Preparação das Amostras de Iogurte

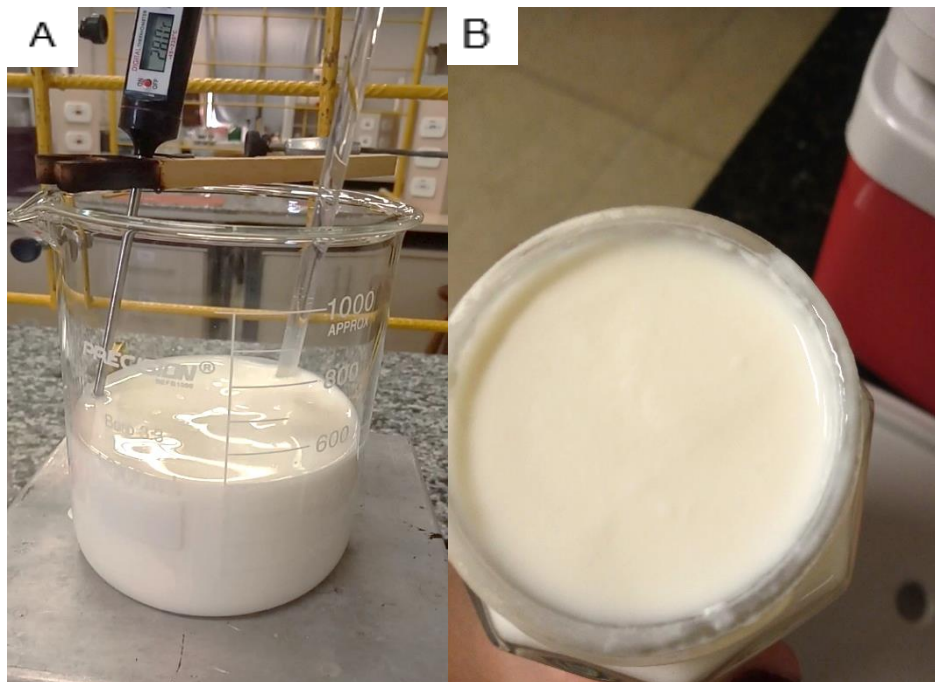
Foram preparadas 4 amostras de iogurte utilizando duas marcas diferentes de leite pasteurizado e duas marcas diferentes de iogurte natural. Cabe destacar que a utilização das diferentes marcas para a preparação das amostras de iogurte foi realizada com o objetivo de verificar qual a combinação é a mais adequada para a produção. O Esquema da figura 11 descreve o processo de produção.

**Figura 11**– Esquema de Preparação das Amostras de iogurte

**Fonte:** Autora, 2022.

A preparação do iogurte seguiu uma receita tradicional que consistia em aquecer 500 mL de leite pasteurizado, mantendo-se agitação lenta e controlando a temperatura. (Figura 12 - A). Uma vez atingida a temperatura de 46 °C, foram transferidos 250 mL de leite para um recipiente de vidro e adicionados 42 g de iogurte natural que continham os cultivos lácticos, os recipientes foram lacrados e acondicionados em estufa a 46° C, durante 8 horas para a incubação. Transcorrido esse período, as amostras foram dispostas imediatamente na geladeira por 2 dias (Figura 12 - B).

**Figura 12** – Produção de iogurte (A); iogurte Elaborado (B)



Fonte: Autora, 2022.

#### 4.4.2 Preparação do Extrato da Casca da Romã para a Incorporação no iogurte.

O extrato foi preparado com 83,33 g de casca de romã úmida e diluída com 250 mL de etanol mantido sob agitação durante 2 horas, filtrado e evaporado para eliminação do solvente (Figura 13).

A evaporação do solvente foi realizada com o fim de evitar que o mesmo ocasionasse algum problema nas características organolépticas do iogurte. Além disso o procedimento se realizou levando em conta o alto teor de umidade da casca da romã e que ao realizar a evaporação do solvente o extrato continuaria líquido, como também apto para ser incorporado no iogurte.

**Figura 13** – Rotaevaporação do Extrato



**Fonte:** Autora, 2022.

#### 4.4.3 Incorporação do Extrato da Casca da Romã no Iogurte

A fortificação do iogurte foi realizada depois da etapa de arrefecimento adicionando 2 mL do extrato da casca de romã evaporada a 40 mL de iogurte.

A preparação se deu com a transferência de 20 mL do iogurte preparado a um recipiente e posteriormente adicionado 2 mL de extrato de casca de romã. Esta mistura foi agitada até atingir uma certa homogeneidade e então acrescentados outros 20 mL restantes do iogurte.

#### 4.4.4 Determinação do pH dos Iogurtes

A leitura de pH foi feita sem extrato e com extrato agregado, com auxílio de pHmetro MS TecnoPON®.

#### 4.4.5 Determinação de Compostos Fenólicos no Iogurte

A preparação do extrato do iogurte para a determinação de compostos fenólicos totais foi realizada seguindo o método de precipitação de proteínas descrito por Boroski *et al.* (2015), em que uma proporção de 1:1 de iogurte foi preparada em ácido tricloro acético (ATA) 20% e água, mantida sob agitação durante 30 segundos e na

sequência as amostras foram transferidas para um banho a 42 °C durante 10 minutos. O sobrenadante foi usado para análise de compostos fenólicos totais, conforme descrito na seção 4.3.3. Por outro lado, para o iogurte fortificado, foi necessária uma diluição de 10% do extrato do iogurte em água destilada como solvente, já que o mesmo se empregou para a construção da curva padrão.



## 5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 5.1 DETECÇÃO DE AGENTES BIOATIVOS

#### 5.1.1 Cromatografia de Camada Delgada

Utilizou-se 20 cromatoplaças decorrentes da análise por cromatografia de camada delgada do extrato da casca da romã. Inicialmente a análise foi realizada com uma concentração do extrato, 5g de amostra para 15 mL de etanol, no entanto os resultados obtidos não apresentaram sensibilidade para realizar um estudo das mesmas, devido à alta concentração do extrato. Razão pela qual se preparou um segundo extrato com 1g de amostra para 15 mL de etanol.

Da mesma forma, com relação aos eluentes e das proporções descritas no Quadro 1 somente a combinação de butanol, acetato de etila e água na proporção (1:6:3) forneceu resultados satisfatórios, tanto o extrato da casca da romã quanto o padrão ácido gálico mostraram uma maior corrida no mesmo em comparação ao demais eluentes testados.

O resultado obtido nas condições descritas acima pode ser observado na figura 14, onde as siglas AG representam ao padrão ácido gálico e ER ao extrato da casca da romã. Na mesma pode-se constatar que sob luz branca não é possível realizar uma análise do perfil cromatográfico do extrato e do padrão (Figura 14a), no entanto em comprimento de onda 254 nm é possível distinguir o comportamento do extrato da casca da romã, expondo a maior afinidade da mesma com solventes polares, além disso ao se realizar a revelação com cloreto férrico se observou a aparição de manchas azuladas tanto para o padrão quanto para o extrato, ambas praticamente a mesma distância da origem (Figura 14c). As distâncias percorridas, tanto do solvente, quanto do extrato e do ácido gálico se encontram descritos na tabela 1, com fator o de retenção (Rf) correspondente.

**Tabela 1** – Fator de Retenção do Extrato da Casca da Romã e do Ácido Gálico

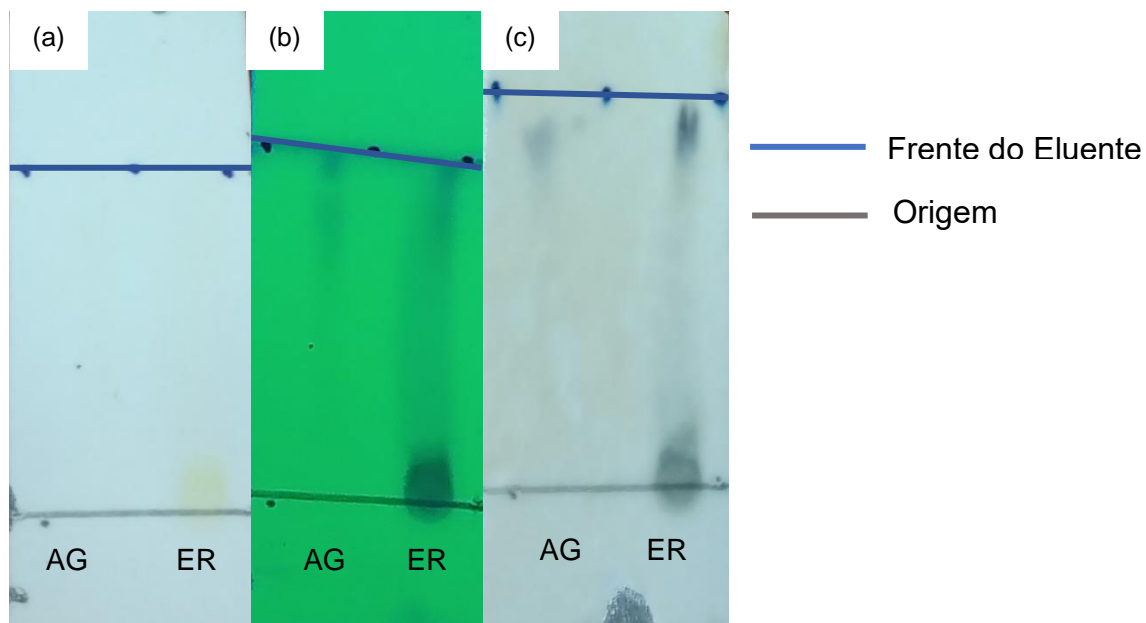
Amostra	Distancia Solvente	Distancia Amostra	Rf
ER	2,8	2,7	0,9642857
AG	2,8	2,5	0,8928571

Fonte: Autora, 2022.

Oliveira *et al.* (2017), destacam que o ácido gálico é geralmente utilizado junto ao ácido elágico como padrão para a detecção de taninos hidrolisáveis em amostras quando revelados com cloreto férrico, comparando inicialmente a coloração obtida dos mesmos com as amostras e posteriormente com fator de retenção de cada um.

Levando em conta a presença das manchas azuladas no extrato e no padrão como também comparando os fatores de retenção obtidos, apesar da pequena diferença é possível observar uma correlação entre ambos, indicando a presença de taninos hidrolisáveis na casca da romã, sendo um deles o ácido gálico.

**Figura 14** – Resultados da Cromatografia de Camada Delgada: (a) Cromatoplaça visualizada sob luz branca; (b) Cromatoplaça revelada em luz UV a 254 nm; (c) Cromatoplaçada revelada com Cloreto Férrico.



**Fonte:** Autora, 2022.

Resultados similares foram obtidos por Torres (2019), na análise por cromatografia de camada delgada para a casca de rambutão, utilizando como eluente n-butanol: ácido acético: água (65:25:10). A revelação com cloreto férrico mostrou o aparecimento de manchas azuladas obscuras, indicando a presença de compostos fenólicos, especificamente aqueles que são derivados do pirogalol, conforme análise da autora que, entretanto, não utilizou nenhum padrão como parâmetro de comparação.

Brêtas (2018) em seu estudo de cascas de romã secas comercializadas em farmácias magistrais, comprovou a presença de taninos hidrolisáveis na casca da romã por cromatografia de camada delgada, utilizando como padrões o ácido elágico e também a

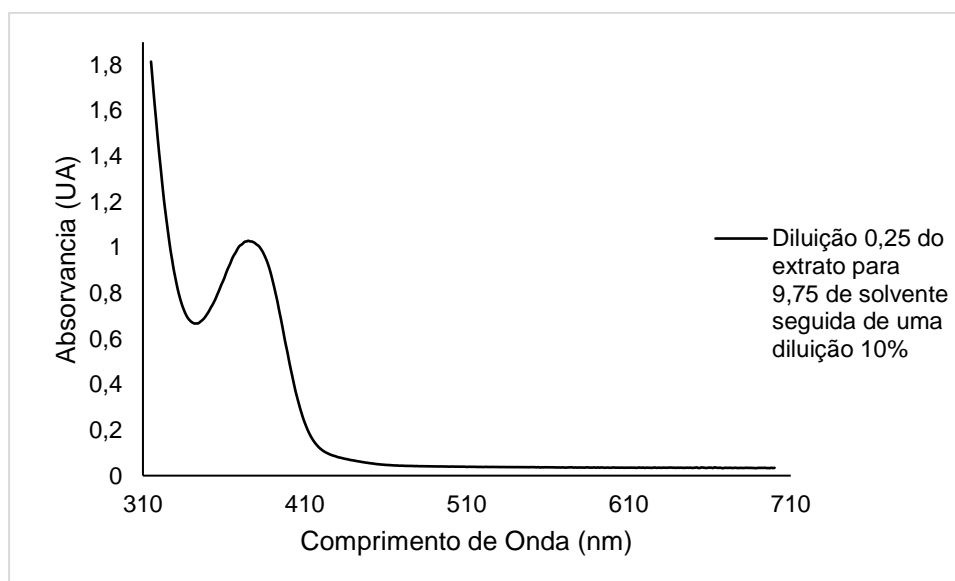
punicalagina. Como revelador foi usado uma solução de  $\text{NaNO}_2$  1% em metanol e como eluente água com pH 2,0 ajustado com ácido acético.

Oliveira *et al.* (2017) destacou a presença de taninos hidrolisáveis também nas folhas da romã, empregando como padrão o ácido elágico e o ácido gálico, como eluentes acetato de etila, ácido fórmico e água (90:5:5) e como revelador cloreto férrico 3%. Os autores mencionaram que a análise para este metabolito em específico e também para outros que incluíram em seu estudo mostraram resultados positivos apresentando bandas de mesma coloração após derivatização.

### 5.1.2 Análise por Espectroscopia de UV-visível

A análise realizada por espectrofotometria de UV-visível revelou que o maior pico de absorção para o extrato da casca da romã diluída ocorre em 376 nm com um pico de absorvância 1,026826 U.A. O espectro de absorção está ilustrado na Figura 15.

**Figura 15** – Espectro de Absorção no Ultravioleta Visível do Extrato da Casca da Romã.

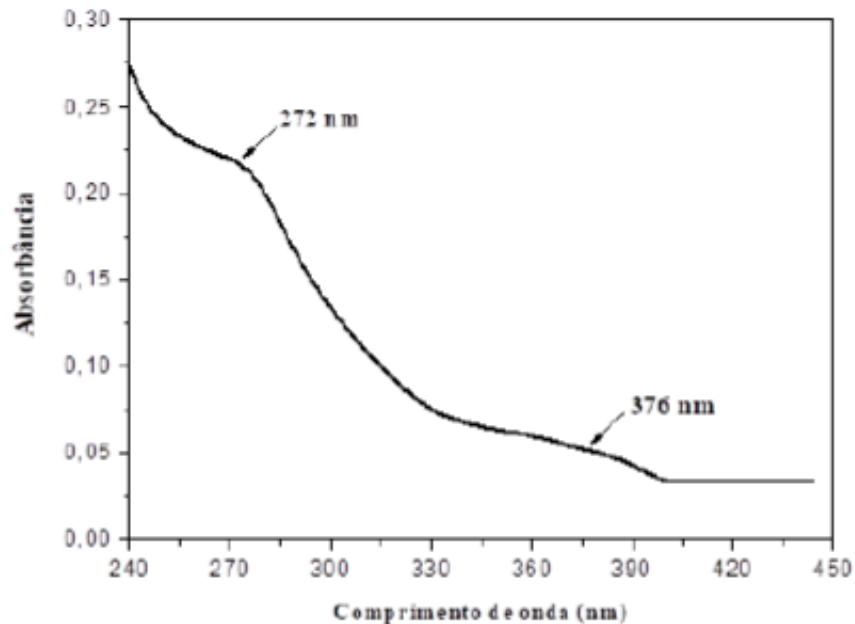


**Fonte:** Autora, 2022.

O resultado obtido coincide com o encontrado por Otaviano (2021) cujo estudo de espectrometria de ultravioleta visível revelou duas principais bandas de absorção, sendo uma delas em 376 nm e outra em 272 nm (Figura 16), a autora explica que a região ultravioleta do espectro é onde os compostos fenólicos absorvem de forma acentuada. Além disso, expõe que entre 250 e 290 nm os fenóis e os ácidos fenólicos

mostram bandas de absorção características, enquanto que os flavonóis e as flavonas apresentam tais bandas por volta de 250 a 350 nm.

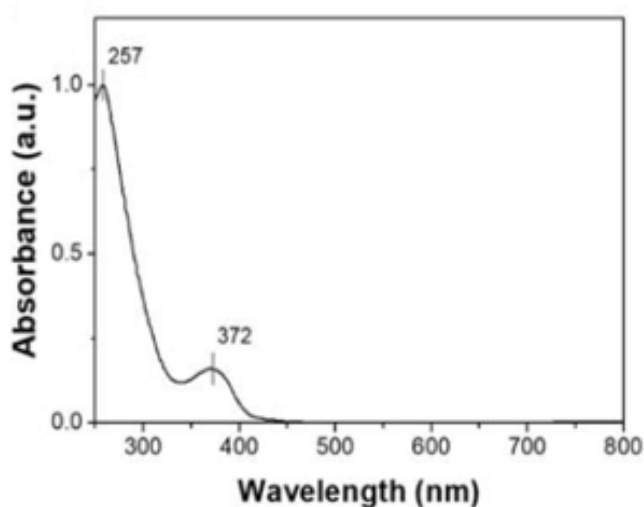
**Figura 16** – Espectro de Absorção no Ultravioleta Visível do Extrato da Casca da Romã (Literatura).



**Fonte:** Otaviano, 2021.

De forma similar, as maiores bandas de absorção encontradas por Barbalinardo *et al.* (2022) para o extrato da casca da romã ocorreram entre 257 e 372 nm (Figura 17). Os autores realizaram uma comparação com o espectro de absorção da punicalgina e explicaram que existe uma grande semelhança entre as mesmas, além disso, descreveram que a mesma é o constituinte principal da romã e sua maior banda de absorção se encontra na região entre 258 a 380 nm. Cabe destacar que esta observação também é mencionada por Otaviano (2021). A autora, ainda, complementa explicando que a punicalagina é um tipo de tanino hidrolisável presente em grandes quantidades na casca da romã.

**Figura 17** – Espectro de Absorção no Ultravioleta Visível do Extrato da Casca da Romã (Literatura).



Fonte: Barbalinardo *et. al*, (2022).

A partir das análises por cromatografia em camada delgada se comprovaram a presença de taninos hidrolisáveis subgrupo dos compostos fenólicos na casca da romã, no entanto, a espectroscopia de ultravioleta visível aliado aos dados da literatura dá indícios de que o pico de absorção observado pode se tratar de uma punicalagina.

## 5.2 DETERMINAÇÃO DA MELHOR CONDIÇÃO DE EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS DA CASCA DA ROMÃ

### 5.2.1 Secagem da Casca da Romã

Diversos autores na literatura implementam a secagem da casca da romã como método de tratamento da amostra para preparação dos extratos, no entanto, é de conhecimento que os compostos fenólicos são altamente termosensíveis, além de fotossensíveis, razão pela qual um procedimento com aplicação de calor poderia resultar na decomposição dos mesmos e prejudicar a obtenção de resultados satisfatórios.

Os resultados sobre a secagem da casca da romã se encontram descritos na tabela 2. Pode se observar que o teor de umidade de 63,68% bu da casca da romã é bastante elevado.

**Tabela 2** – Resultados da Secagem da Casca da Romã

Amostra	Casca de Romã Umida (g)	Casca de Romã Seca (g)	Amostra Seca (%)	Média	Desvio	CV
1	5,03	1,96	38,97	36,31	2,65	7,31
2	5,05	1,7	33,66			

Fonte: Autora, 2022.

Por outro lado, pode se observar que tanto o desvio padrão, quanto o coeficiente de variância não possuem valores elevados, mostrando que os valores obtidos não se encontram muito afastados da média e que o erro na secagem não foi muito significativo. No entanto, a pesar de que o procedimento se realizou em triplicata, uma das amostras apresentou erro na análise de compostos fenólicos totais, razão pela qual se optou por realizar o estudo apenas das duas amostras que apresentaram resultados satisfatórios.

### 5.2.2 Compostos Fenólicos dos Extratos da Casca da Romã

Com o intuito de avaliar o impacto do processo de secagem na composição fenólica da casca da romã, realizou-se a determinação dos compostos fenólicos dos extratos preparados a partir das amostras secas e das amostras úmidas. Na tabela 3, pode se observar as condições em que foram preparadas as amostras para a análise (secagem, massa, diluições) como também a absorbância e a concentração equivalente de ácido gálico calculada a partir da curva de calibração.

**Tabela 3** – Condições e Resultados da Análise de Compostos Fenólicos do Extrato da Casca da Romã

Amostra	Secagem	Absorbância (725 nm)	Concentração (mg/L)	Massa Amostra (g)	Diluição Amostra (g/mL)	Segunda Diluição
1	65 °C / 2	0,865	184,77	1,96	0,013	-
2	hs	0,876	187,11	1,7	0,011	-
3	-	0,67	143,28	5,00	0,0083	0,00083
4	-	0,856	182,85	5,00	0,0083	0,00083

Fonte: Autora, 2022.

Cabe destacar que devido à alta concentração do extrato úmido realizou-se 3 análises nessas amostras, já que a absorvância obtida ultrapassava bastante o valor da absorvância máxima da curva de calibração (em média 2,5083 na primeira análise e 1,9213333 na segunda) e a relação linear para tais valores não era garantida.

Desta forma, optou-se por realizar uma diluição de 0,25 mL do extrato para 9,75 mL do solvente, seguida novamente de uma diluição 10% como explicado na seção 4.3.3. Com a mesma foi possível obter um resultado adequado para a determinação da composição fenólica em equivalentes de ácido gálico nos extratos. Cabe destacar que a mesma diluição foi utilizada para a análise de espectrometria de ultravioleta visível.

A tabela 4 apresenta registra os resultados dos compostos fenólicos totais obtidos em microgramas de equivalente de ácido gálico por grama de amostra (ug EAG/g amostra), como também a média, o desvio e o coeficiente de variação.

**Tabela 4** – Compostos Fenólicos Totais do Extrato da Casca da Romã.

<b>Amostra</b>	<b>CFT (µg EAG/g amostra)</b>	<b>Média</b>	<b>Desvio</b>	<b>CV (%)</b>
1	14140,25	15324,82	1675,23	10,93
2	16509,39			
3	171839,12	195461,50	33407,09	17,09
4	219083,89			

**Fonte:** Autora, 2022.

Comparando a média dos compostos fenólicos totais obtido para ambos extratos, se pode constatar que a exposição ao calor nas condições de secagem avaliadas diminui o teor de fenólicos totais. Por outro lado, se pode observar um desvio padrão e um coeficiente de variação bastante elevado, tanto para o extrato da casca da romã seca quanto para a úmida. Estes valores elevados podem estar relacionados a possíveis erros na determinação de compostos fenólicos totais, seja no momento de realizar as diluições pertinentes ou por uma possível exposição a luz.

No quadro 2 pode-se observar distintos valores de compostos fenólicos totais obtidos por diferentes autores utilizando diversas metodologias, mas tendo em comum a utilização ou não de secagem na etapa inicial da preparação do extrato. Entretanto, tal como explicado por Elvas (2016), o valor de compostos fenólicos totais é bastante dependente das condições de extração, lote, variedades, maturidade da fruta entre outros, por isso se encontram valores distintos do mesmo na literatura.

Observando e comparando os dados da literatura se pode notar que, em geral as metodologias que utilizam secagem no estágio inicial do processo de extração, tendem a experimentar uma redução da composição de fenólicos totais equivalentes ao ácido gálico em comparação a aqueles que não utilizam secagem. Tais resultados estão de acordo como observado neste trabalho e foi exposto também por Pastor (2016), que constatou que a secagem em diversos frutos além da romã afetava de forma significativa o conteúdo fenólico dos mesmos.

Desta forma, optou-se pela preparação do extrato da casca da romã para a fortificação do iogurte sem passar por um processo de secagem prévio, visando ter uma composição fenólica maior no iogurte.

**Quadro 2** – Resultado obtido por distintos autores da composição fenólica da casca da romã.

Preparação do Extrato	Condições de Secagem	CFT ( $\mu\text{g}$ EAG/g amostra)	Referência
Com Secagem	Secagem em forno de convecção a 50 °C por 8 hs	10580 (Fração Solúvel)	Torres <i>et al.</i> (2019)
		9390 (Fração Insolúvel)	
	Secagem em estufa a 40 °C por 48 hs	16000 a 17780 (Extrato Metanolico)	El-Said <i>et al.</i> (2014)
		14230 a 16340 (extrato aquoso)	
	Secagem ao sol a 50 °C por 2 hs	14800 a 15800 (Extrato Metanolico)	
		15800 a 14810 (Extrato Aquoso)	
Sem Secagem	-	27180 (Extração por maceração)	Felchilcher <i>et al.</i> (2021)
		6410 (Extração por Ultrassom)	
		21250	Morzelle (2016)
		67130	Santos <i>et al.</i> (2022)

**Fonte:** Autora, (2022).



### 5.3 TEOR DE UMIDADE DA CASCA DA ROMÃ

Um dado importante de caracterização da casca da romã para a sua implementação é seu o teor de umidade. A análise segue as normas do Instituto Adolfo Lutz para alimentos (2008) e o resultado se encontra exposto na tabela 5.

**Tabela 5** – Teor de Umidade da Casca da Romã

Amostra	Massa Inicial (g)	Massa Final (g)	Porcentagem de Material Seco (%)	Porcentagem de Umidade (%)	Média	Desvio	CV (%)
1	5,02	1,29	25,70	74,30	75,17	1,37	1,82
2	5,03	1,3	25,84	74,16			
3	5,01	1,15	22,95	77,05			

Fonte: Autora, 2022.

Tal como mencionado anteriormente a casca da romã possui um elevado teor de umidade comprovado por esta análise. Em média o teor de umidade foi de 75,17% bu, um valor aproximado ao obtido por Santos *et al.* (2022) de 76,12% bu e também similar ao 66,78% bu que obtiveram Silva *et al.* (2018), além disso estes últimos explicam que o alto teor de umidade da casca da romã é devido a sua espessura e volume elevado.

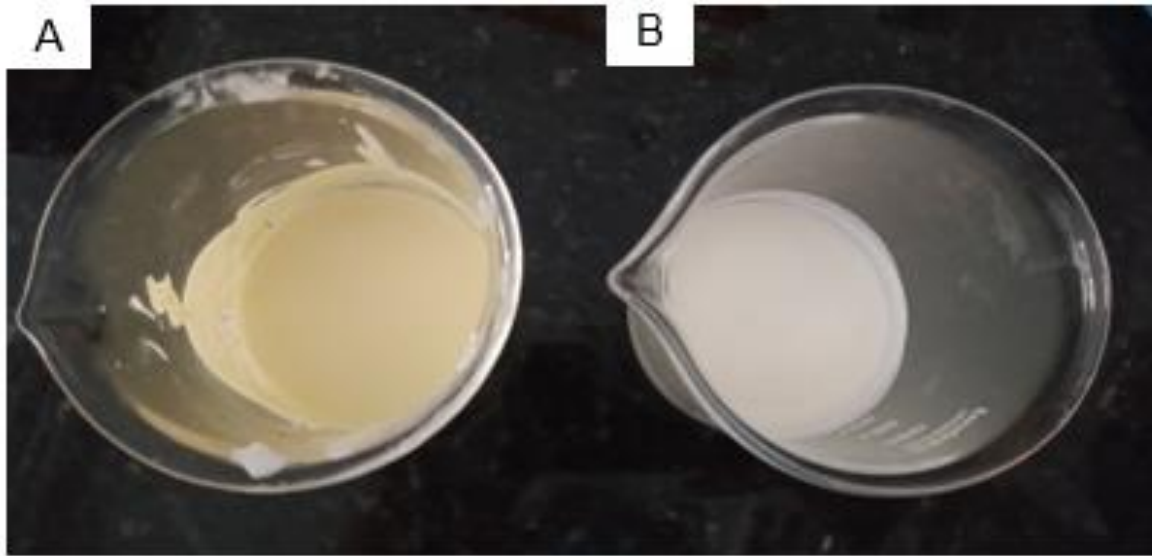
Também pode ser observado que o desvio padrão e o coeficiente de variação para o teor de umidade se mostraram baixos, expondo que os valores obtidos não se encontram muito afastados da média e que o erro na análise não foi elevado.

### 5.4 IOGURTE

Dos iogurtes preparados seguindo o esquema da figura 11, foi escolhido o sistema 1 para a incorporação e análise, a escolha se realizou de forma aleatória devido a que todos os iogurtes elaborados se mostraram similares, já que nenhum apresentou problemas na fermentação láctica.

Na figura 18 pode-se observar os iogurtes elaborados, onde (A) representa ao iogurte adicionado com o extrato da casca da romã e (B) ao iogurte de controle, sem adição de extrato. Em termos de aparência observou-se que o extrato da casca da romã conferiu uma coloração amarelada ao iogurte.

**Figura 18** – Iogurte com Extrato (A) e Iogurte sem Extrato (B).



**Fonte:** Autora, 2022.

Uma revisão da literatura sobre a incorporação de extratos provenientes de fontes naturais ou resíduos agroindustriais como fonte de compostos fenólicos, seja para evitar a oxidação lipídica, bastante comum em produtos lácteos como o iogurte ou para enriquecer o mesmo em substituição dos antioxidantes sintéticos utilizados comumente na indústria, resultou em diversas concentrações e formas de realizar a adição deste tipo de extrato nos iogurtes.

A escolha da metodologia utilizada se baseou nos compostos fenólicos totais determinados na casca da romã úmida que foi de 195,46 mg EAG/g de amostra (195461,50 µg EAG/g de amostra) e se realizou uma comparação com o obtido por autores da literatura que realizaram a incorporação de extratos provenientes de fontes naturais ou resíduos agroindústrias em iogurtes. Da revisão da literatura a composição fenólica mais semelhante encontrada foi de 151,6 mg EAG/g de amostra correspondente a sementes de uva do estudo de Chouchouli *et al.* (2013) para a fortificação de iogurte. Os autores em uma das suas análises utilizaram 100 mg de extrato das sementes para 150 mL de iogurte.

Portanto, com base no descrito pelos autores, se estabeleceu que o valor mínimo a ser adicionado do extrato da casca da romã para atribuir compostos fenólicos ao iogurte é de 0,0775606 mg para 150 mL de iogurte. O cálculo detalhado do mesmo encontra-se descrito no Apêndice A.

Uma vez estabelecido o valor mínimo para a adição do extrato, se realizou a incorporação deste no iogurte, visando aumentar a quantidade de fenólicos totais no mesmo (como descrito na seção 4.4.3) mas levando em conta que as características do iogurte como o pH não fossem amplamente afetadas. Cabe destacar que a incorporação se realizou depois da etapa de arrefecimento ou resfriamento para evitar possíveis perdas dos compostos fenólicos devido a aplicação de calor na produção de iogurte.

Além disso, a escolha também se realizou considerando o teor de umidade da casca da romã, já que o elevado de teor encontrado na seção 5.3 permitiu saber que no momento de realizar a evaporação do solvente o extrato se encontraria aquoso e em condições adequadas de ser incorporado do iogurte.

#### 5.4.1 Compostos Fenólicos dos Iogurtes

Os resultados obtidos da determinação de compostos fenólicos presentes nas amostras de iogurte sem extrato e com extrato estão apresentados nas tabelas 6 e 7.

Da mesma forma que na determinação de compostos fenólicos do extrato da casca da romã úmida, foi necessário a diluição do extrato do iogurte fortificado devido a que absorvância lida (2,73333) superava de sobremaneira o valor de absorvância máxima da curva de calibração. A diluição do extrato do iogurte foi feita adicionando-se 0,25 mL da mesma amostra em 9,75 mL de água destilada que foi o solvente utilizado para elaborar a curva de calibração.

**Tabela 6** – Condições e Resultados da Análise de Compostos Fenólicos dos Iogurtes

Amostra	Iogurte	Absorbância (725 nm)	Concentração mg/L	Volume de Amostra (mL)	Diluição amostra (mL/mL)
1	Sem Extrato	0,1019	22,4043	1	0,1
2		0,097	21,3617	1	0,1
3		0,094	20,7234	1	0,1
4	Com Extrato	0,316	67,9574	1	0,025
5		0,301	64,7660	1	0,025
6		0,3	64,5532	1	0,025

Fonte: Autora, 2022.

Observando os valores dos compostos fenólicos equivalentes ao ácido gálico presentes no iogurte sem extrato e o iogurte com extrato pode-se notar que houve um grande incremento no teor de fenólicos. Além disso, a reduzida concentração encontrada no iogurte sem extrato corrobora com o descrito por Garcia (2020), que explica que os compostos fenólicos presentes no iogurte quase não possuem impacto na saúde humana, razão pela qual é considerado deficiente nos mesmos.

**Tabela 7** – Compostos Fenólicos Totais dos Iogurtes.

Iogurte	CFT ( $\mu\text{g}$ EAG/mL amostra)	CFT ( $\mu\text{g}$ EAG/g amostra)	Media	Desvio	CV (%)
Sem Extrato	224,043	215,841	207,095	8,174	3,947
	213,617	205,797			
	207,234	199,647			
Com Extrato	2718,298	2618,784	2534,060	73,487	2,900
	2590,638	2495,798			
	2582,128	2487,599			

Fonte: Autora, 2022.

Enquanto ao desvio padrão e ao coeficiente de variação pode se observar que para o iogurte sem extrato não se obtiveram valores elevados, enquanto para o iogurte com extrato pode se observar um valor elevado do desvio padrão, isto pode estar relacionado a erros na análise de compostos fenólicos totais em geral ou nas diluições

realizadas.

Por outro lado, existem poucos trabalhos na literatura que descrevem o efeito da adição do extrato da casca da romã em iogurtes, tal como foi mencionado por Farias (2018), que em seu estudo de adição de polpa e farinha de romã em pães encontrou o mesmo impasse. No entanto já são diversos autores os que estudam o efeito da adição de extratos provenientes de resíduos agroindustriais ou de fontes naturais em iogurtes e que avaliam o aumento da composição fenólica dos mesmos.

Elvas (2016) por exemplo encontrou que a adição de bagaço de maçã no iogurte apresentou 12,41 mg EAG/ 100g de iogurte e explicou que o bagaço de maçã mostrou ter características antioxidantes relacionadas aos compostos fenólicos em comparação ao iogurte não enriquecido.

Pais (2021), em sua análise de composição fenólica em iogurtes adicionados de extrato de bagas de sabugueiro, verificou que a composição fenólica do iogurte adicionando de 0,1% do extrato foi de 5,22 mg EAG/g, ao passo que quando incorporado 0,2% encontrou 7,36 mg EAG/g e por fim, quando adicionado 0,4% de extrato foi verificado um valor de 18,41 mg EAG/g.

Dos diversos testes realizados por El-Said *et al.* (2014) a maior quantidade de fenólicos totais equivalentes foi encontrada no iogurte adicionado de 35% de extrato da casca romã antes da fermentação láctica, com um total de 8,23 mg EAG/g e a menor no iogurte adicionado de 5% de extrato depois da fermentação láctica com um total de 3,09 mg EAG/g.

Santos *et al.* (2020) verificaram que os compostos fenólicos encontrados em iogurtes elaborados com extrato de beterraba com limão corresponderam a 3,94 µg EAG /g. Além disso, também explicaram que os benefícios na saúde, como por exemplo, de cardioprotetor estão relacionados à sua atividade redutora de elétrons.

Finalmente Chouchouli *et al.* (2013) estudou iogurtes fortificados com dois tipos de variedade de uvas, sendo que a que apresentou maior composição fenólica equivalente no iogurte foi a da variedade Moschifilero com 14,31 mg EAG/100 g para o iogurte *full-fat*. Observando os valores de compostos fenólicos equivalentes ao ácido gálico obtidos pelos autores, podemos notar que o valor obtido nesta análise se encontra entre os valores mínimos e máximos alcançados por autores descritos anteriormente. Analisando as quantidades encontradas de compostos fenólicos equivalentes pelos autores, como também o encontrado neste trabalho se pode notar uma variação entre as mesmas. O que

pode estar relacionado com a diferença que existe na composição fenólica equivalente de ácido gálico de cada resíduo agroindustrial, como também a eficiência de extração dos mesmos e da forma de adição. No entanto, tanto os trabalhos descritos na literatura quanto o realizado neste projeto confirmam que a incorporação de extratos de resíduos com alta capacidade bioativa como a casca da romã no iogurte consegue aumentar os compostos fenólicos equivalentes de forma considerável.

#### 5.4.2 pH dos iogurtes

As medidas de pH do iogurte sem o extrato resultaram em um valor 4,39 enquanto o iogurte com a incorporação do extrato apresentou um valor de 4,37, indicando que a adição do extrato não ocasionou alterações no pH do iogurte.

O valor de pH nos iogurtes é de grande importância, Santos *et al.* (2020) explicam que a atividade metabólica das bactérias está diretamente relacionada com o pH, dependendo do mesmo pode existir um favorecimento de um grupo em detrimento de outro. Os autores também não encontraram alteração significativa no pH dos iogurtes desenvolvidos, 4,2 para o iogurte sem extrato e 4,03 com extrato.

Elvas (2016) obteve valores de pH de 4,10 e 3,95 para o iogurte sem extrato e com extrato respectivamente, além disso a autora faz também menção a importância do pH nos iogurtes:

O pH é um parâmetro importante, uma vez que o iogurte com baixa acidez (pH <4,6) favorece a separação do soro, porque o gel não foi suficientemente formado. Por outro lado, em pH <4,0 ocorre a contração do coágulo devido à redução da hidratação das proteínas, ocasionando também o dessoramento do produto.

Chouchouli *et al.* (2013) relataram que a incorporação dos extratos das uvas de diferentes variedades também não modificou o pH dos iogurtes.

## 6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A cromatografia por camada delgada revelou que além da presença de taninos hidrolisáveis a casca da romã possui melhor afinidade com solventes polares. Além disso, a análise dos espectros de absorção de ultravioleta visível, aliado aos dados da literatura, nos leva a crer que o pico de absorção observado pode se tratar de uma punicalagina.

Os resultados obtidos na análise da composição fenólica dos extratos preparados a partir das cascas secas e úmidas da romã, constataram que a secagem diminui o teor de compostos fenólicos equivalentes na mesma. Os resultados em média foi de 15324,82 µg EAG/g amostra e 195461,50 µg EAG/g amostra para o extrato da casca seca e úmida, respectivamente.

Por meio da determinação do teor de umidade se encontrou que a casca da romã possui um elevado teor de umidade correspondente a 75,17% bu, corroborando com os resultados obtidos com outros autores da literatura.

A composição fenólica dos iogurtes resultou na obtenção de 207,095 µg EAG/g amostra e 2534,060 µg EAG/g amostra para o iogurte sem extrato e com extrato, respectivamente. A incorporação do extrato da casca da romã elevou consideravelmente o teor de compostos fenólicos equivalentes ao ácido gálico nos iogurtes. Cabe destacar que, apesar de não se obter valores parecidos com os autores da literatura se pode notar uma equivalência em relação ao aumento do teor fenólico ao serem adicionados os extratos de origem agroindustrial.

Em relação ao pH dos iogurtes elaborados, a incorporação do extrato da casca da romã não alterou de forma significativa o pH do iogurte. Sendo que para o iogurte sem extrato se encontrou um valor correspondente a 4,39 e para o iogurte com o extrato um valor de 4,37.

O estudo realizado neste trabalho mostrou que a casca da *Punica granatum* L. apresenta compostos bioativos que podem ser utilizados como aditivo natural no iogurte para enriquecer o mesmo com uma composição fenólica, sem alterar de maneira significativa o seu pH.

## REFERÊNCIAS

ARRAES, M. L. B. de M. *et al.* Influência do método de extração na atividade antioxidante do extrato aquoso de *Punica granatum* (romã). **Revista Cubana de Farmacia**, La Habana, v. 55, n. 1, p. 1-18, 2022. Disponível em: <<http://www.revfarmacia.sld.cu/index.php/far/article/view/582/462>>. Acesso em: 18 jul. 2022.

BARBALINARDO, M. *et al.* Eco-Sustainable Silk Fibroin/Pomegranate Peel Extract Film as an Innovative Green Material for Skin Repair. **International Journal Of Molecular Sciences**, [S.l.], v. 23, n. 12, p. 6805, 18 jun. 2022. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/ijms23126805>. Disponível em: <[https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwjIv2n6H5AhVRH7kGHXw3Ba0QFnoECAMQAQ&url=https%3A%2F%2Fwww.mdpi.com%2F1422-0067%2F23%2F12%2F6805%2Fpdf%3Fversion%3D1655885455&usg=AOvVaw1TPJ\\_89DoF2J3baiGDb5jO](https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwjIv2n6H5AhVRH7kGHXw3Ba0QFnoECAMQAQ&url=https%3A%2F%2Fwww.mdpi.com%2F1422-0067%2F23%2F12%2F6805%2Fpdf%3Fversion%3D1655885455&usg=AOvVaw1TPJ_89DoF2J3baiGDb5jO)>. Acesso em: 24 jul. 2022.

BENÍTEZ, R. O. Organização das Nações Unidas Para a Alimentação e a Agricultura (FAO). **Perdas e desperdícios de alimentos na América Latina e no Caribe**. 2014. Disponível em: <<https://www.fao.org/americas/noticias/ver/pt/c/239394/>>. Acesso em: 10 jul. 2022.

BERDEJA, K. V. M. *et al.* Cáscara de granada (*Punica granatum* L.): potencial uso como fuente de ingredientes funcionales en productos cárnicos emulsionados cocidos. **Nacameh**. Ciudad de México. vol. 12, n. 2, p. 30-41, 2018. Disponible en: <[http://nacameh.cbsuami.org/volumenes/v12n2/Nacameh\\_v12n2p30\\_MaillardBerdeja\\_ycol.pdf](http://nacameh.cbsuami.org/volumenes/v12n2/Nacameh_v12n2p30_MaillardBerdeja_ycol.pdf)>. Acesso em: 16 jul. 2022.

BOROSKI, M. *et al.* **Antioxidantes: princípios e métodos analíticos**. Appris, 2015. 141 p. (Ambientalismo e Ecologia).

BRASIL. Ministério Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal. Instrução Normativa nº 46, de 23 de outubro de 2007. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leites Fermentados. **Diário Oficial da União**: Seção 1, Brasília, DF, nº 205, p. 4, 24 de outubro de 2007. Disponível em: <<https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/suasa/regulamentos-tecnicos-de-identidade-e-qualidade-de-produtos-de-origem-animal-1/rtiq-leite-e-seus-derivados>>. Acesso em: 06 jul. 2022.

BRÊTAS, J. M. **Controle de Qualidade Físico-Químico e Biológico de Extratos Secos da Casca do Fruto de Romã (*Punica Granatum* L.) Comercializados em Farmácias Magistrais**. 2018. 219 f. Tese (Doutorado) - Doutorado em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2018. Disponível em: <[https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&ved=2ahUKEwiw3PanmqH5AhVggpUCHcEQCRwQFnoECAsQAQ&url=https%3A%2F%2Frepositorio.ufmg.br%2Fbitstream%2F1843%2FBUOS-BB5J5W%2F1%2Ftese\\_juliana\\_machado\\_br\\_tas.pdf&usg=AOvVaw0ynTvZvPo8C\\_0WrKM-Dz5E](https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&ved=2ahUKEwiw3PanmqH5AhVggpUCHcEQCRwQFnoECAsQAQ&url=https%3A%2F%2Frepositorio.ufmg.br%2Fbitstream%2F1843%2FBUOS-BB5J5W%2F1%2Ftese_juliana_machado_br_tas.pdf&usg=AOvVaw0ynTvZvPo8C_0WrKM-Dz5E)>. Acesso em: 23 jul. 2022.



CHOUCHOULI, V. *et al.* Fortification of yoghurts with grape (*Vitis vinifera*) seed extracts. **Lwt - Food Science And Technology**, [S.l.], v. 53, n. 2, p. 522-529, out. 2013. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2013.03.008>. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S002364381300100X>>. Acesso em: 26 jul. 2022.

D'ANGELO, S. ROSA, R. The Impact of Supplementation with Pomegranate Fruit (*Punica Granatum L.*) on Sport Performance. **Sport Science**. Italia. vol 13. n 1. p. 29-37, 2020. Disponível em: <[https://www.researchgate.net/publication/342047226\\_The\\_impact\\_of\\_supplementation\\_with\\_Pomegranate\\_fruit\\_Punica\\_Granatum\\_L\\_on\\_sport\\_performance](https://www.researchgate.net/publication/342047226_The_impact_of_supplementation_with_Pomegranate_fruit_Punica_Granatum_L_on_sport_performance)>. Acesso em: 25 jun. 2022.

DEGASPARI, C. H.; DUTRA, A. P. C. Propriedades fitoterápicas da romã (*Punica granatum L.*). **Visão Acadêmica**, [S.l.], v. 12, n. 1, junho 2011. Disponível em: <<https://revistas.ufpr.br/academica/article/view/27237>>. Acesso em: 13 jun. 2022.

EL-SAID, M. M. *et al.* Antioxidant activities and physical properties of stirred yoghurt fortified with pomegranate peel extracts. **Annals Of Agricultural Sciences**, [S.l.], v. 59, n. 2, p. 207-212, dez. 2014. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aoas.2014.11.007>. Disponível em: <<https://reader.elsevier.com/reader/sd/pii/S0570178314000451?token=AC9C9302B3F7C43FFBB6A592524DE8EEC79CDA66E0B2698590936213647D91839BF5265F640F9445F8DE10C621C9EB31&originRegion=us-east-1&originCreation=20220730183649>>. Acesso em: 26 jul. 2022.

ELVAS, A. B. C. **Utilização de bagaço de maçã como ingrediente alimentar em iogurte com potencial efeito benéfico para a saúde**. 2016. 104 f. Dissertação (Mestrado) - Mestrado em Qualidade e Tecnologia Alimentar, Instituto Politécnico de Viseu, Viseu, Portugal, 2016. Disponível em: <<https://repositorio.ipv.pt/handle/10400.19/3316>>. Acesso em: 06 jul. 2022.

FARIAS, M. M. **Estudo da adição de polpa e farinha de casca de romã (*Punica granatum L.*) na qualidade de pães tipo forma**. 2018. 66 f. Dissertação (Mestrado) - Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2018. Disponível em: <<https://repositorio.ufc.br/handle/riufc/41414>>. Acesso em: 16 jul. 2022.

FELCHILCHER, L. *et al.* Determinação de Compostos Fenólicos em Extrato da Casca de Romã Obtido por Diferentes Tratamentos. **Seminário de Iniciação Científica e Seminário Integrado de Ensino, Pesquisa e Extensão**, [S. l.], 2020. Disponível em: <<https://portalperiodicos.unoesc.edu.br/siepe/article/view/25117>>. Acesso em: 26 jul. 2022.

FERNANDES, L. *et al.* Caracterização físico-química e atividade antioxidante da casca de diferentes cultivares de romã produzidas em Espanha. In: SIMPÓSIO NACIONAL DE FRUTICULTURA, 3., 2014, Vila Real. Atas. Lisboa: Associação portuguesa de horticultura, 2014. p. 516-522. Disponível em: <<https://bibliotecadigital.ipb.pt/handle/10198/11438>>. Acesso em: 26 jun. 2022.

FREITAS, T. L. de. **Subprodutos de Acerola como Fonte de Compostos Fenólicos em Leites Fermentados Probióticos**. 2017. 77 f. Dissertação (Mestrado) - Mestrado em Ciências, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo,

2017. Disponível em: <<https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/9/9131/tde-29012018-154023/pt-br.php>>. Acesso em: 16 jul. 2022.

GARCIA, K. A. B.; MARIDUEÑA, M. F. L. **Estudio Farmacognostico y Químico de la Corteza de los Frutos Dulce y Amargos de Nepphelium Lappaceum L.** 2019. 81 f. TCC (Graduação) - Curso de Químicos y Farmacéuticos, Universidad de Guayaquil, Guayaquil, 2019. Disponível em: <<https://www.google.com/url?sa=t&source=web&cd=&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwiP4f-hgaH5AhXaBrkGHajuABgQFnoECAMQAQ&url=http%3A%2F%2F repositorio.ug.edu.ec%2Fhandle%2F Fredug%2F40719&usg=AOvVaw15mcjCFtvbWD6zuoxsfHX4>>. Acesso em: 20 jul. 2022.

GARCÍA, L. C. **Uso de subproductos de frutos rojos en la elaboración de diferentes alimentos.** 2020. 23 f. Dissertação (Mestrado) - Máster Universitario en Ciencia e Ingeniería de los Alimentos, Departamento de Tecnología de los Alimentos, Universidad Politécnica de Valencia, Valencia, 2020. Disponível em: <<https://riunet.upv.es/handle/10251/157900>>. Acesso em: 17 jul. 2022.

HERNÁNDEZ-CARRANZA, P. *et al.* Antioxidant fortification of yogurt with red cactus pear peel and its mucilage. **Cyta - Journal Of Food**, [S.l.], v. 17, n. 1, p. 824-833, 1 jan. 2019. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1080/19476337.2019.1654548>. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/epub/10.1080/19476337.2019.1654548?needAccess=true>. Acesso em: 26 jul. 2022.

ITL. INSTITUTO ADOLFO LUTZ. Métodos físico-químicos para análise de alimentos. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008. 1020p. Disponível em: <<https://wp.ufpel.edu.br/nutricaoobromatologia/files/2013/07/NormasADOLFOLUTZ.pdf>>. Acesso em: 07 jul. 2022.

MARAFON, A. P. **Otimização das propriedades reológicas e sensoriais de iogurtes probióticos enriquecidos com proteínas lácteas.** 2010. 84 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Tecnologia de Alimentos, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2011. Disponível em: <<https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/9/9133/tde-20012011-102926/pt-br.php>>. Acesso em: 07 jul. 2022.

MERMA, P. R. T. **Aprovechamiento de los Residuos de la Granada (*Punica granatum*) Variedad Wonderful para la Obtención de Compuestos Fenólicos Mediante la Aplicación de Tecnologías Limpias.** 2020. 146 f. TCC (Graduação) - Curso de Ingeniería En Industrias Alimentarias, Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann, Tacna, 2020. Disponível em: [https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwiK-cjky9H5AhVXuJUCHfvFA\\_0QFnoECAMQAQ&url=http%3A%2F%2F repositorio.unjbg.edu.pe%2Fhandle%2F FUNJBG%2F4120&usg=AOvVaw361C42y2z82UM6iLZq-pHn](https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwiK-cjky9H5AhVXuJUCHfvFA_0QFnoECAMQAQ&url=http%3A%2F%2F repositorio.unjbg.edu.pe%2Fhandle%2F FUNJBG%2F4120&usg=AOvVaw361C42y2z82UM6iLZq-pHn). Acesso em: 26 jul. 2022.

MORZELLE, M. C. **Resíduos de romã (*Punica Granatum*) na prevenção da doença de Alzheimer.** 2012. 72 f. Dissertação (Mestrado) – Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2012. Disponível em:

<<https://teses.usp.br/teses/disponiveis/11/11141/tde-21022013-104731/pt-br.php>>. Acesso em: 10 jul. 2022.

OLIVEIRA, A. S. de *et al.* Análise Fitoquímica Das Folhas De Punica Granatum Linn (Punicaceae) Por Cromatografia Em Camada Delgada. In: Anais Do 5º Encontro Brasileiro Para Inovação Terapêutica, 2017, Recife. **Anais eletrônicos...** Campinas, Galoá, 2017. Disponível em: <<https://proceedings.science/ebit/ebit-2017/papers/analise-fitoquimica-das-folhas-de-punica-granatum-linn--punicaceae--por-cromatografia-em-camada-delgada>>. Acesso em: 14 jun. 2022.

OLIVEIRA, L. C. P. de. **Utilização de Polpa e Resíduos de Beterraba para Aproveitamento Tecnológico na Formulação de Iogurte Concentrado.** 2017. 82 f. Dissertação (Mestrado) – Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Programa de Pós-Graduação, Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia de Mato Grosso, Cuiabá, 2017. Disponível em: <<https://vdocuments.pub/utilizafo-de-polpa-e-resduos-de-beterraba-para-para-o-iogurte-adicionado.html?page=1>>. Acesso em: 15 jul. 2022.

OTAVIANO, B. T. H. **Estudo das propriedades de tingimento, ação antibacteriana e fotoprotetora do extrato das cascas de romã (Punica granatum L.) aplicado em tecido de algodão.** 2021. 166 f. Dissertação (Mestrado) - Mestrado em Ciências, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2021. Disponível em: <<https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/100/100133/tde-03052021-110900/pt-br.php>>. Acesso em: 23 jul. 2022.

PAIS, S. C. **Bagas de Sabugueiro: Extração e aplicação no iogurte.** 2021. 85 f. Dissertação (Mestrado) - Mestrado em Qualidade e Segurança Alimentar, Escola Superior Agrária de Bragança, Instituto Politécnico de Bragança, Bragança, 2021. Disponível em: <<https://bibliotecadigital.ipb.pt/handle/10198/24772>>. Acesso em: 17 jul. 2022.

PAIVA Y. F. *et al.* Iogurte adicionado de polpa de abacaxi, base mel: Elaboração, perfil microbiológico e físico-químico. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável.** Pombal, v. 10, p. 22-26. dic. 2015. Disponível em: <<https://www.gvaa.com.br/revista/index.php/RVADS/article/view/3908>>. Acesso em: 06 oct. 2020.

PASTOR, M. E. G. **Contenido en antocianos y compuestos fenólicos en diferentes frescos y deshidratados.** 2016. 65 f. Dissertação (Mestrado) – Máster oficial en técnicas avanzadas para la investigación y la producción en fruticultura – Universidad Miguel Hernández de Elche, Orihuela, 2016. Disponível em: <<http://dspace.umh.es/bitstream/11000/2914/1/TFM%20Garc%C3%ADa%20Pastor%2C%20Mar%C3%ADa%20Emma.pdf>>. Acesso em: 07 jul. 2022.

PEREIRA, J. P. R. **Análise Quantitativa de Flavonoides no Extrato da espécie Punica granatum L. (romã).** 2022. 36 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Licenciatura em Química) - Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Goiás: Câmpus Anápolis, 2022. Disponível em: <<http://repositorio.ifg.edu.br:8080/handle/prefix/904>>. Acesso em: 22 jun. 2022.

SANTIAGO, M. C. P. **Avaliação de processos para obtenção de produtos ricos em**

**antocianinas utilizando suco de romã (*Punica granatum* L.).** Rio de Janeiro. Tese (Doutorado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos) – Escola de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2014. Disponível em: <<http://objdig.ufrj.br/61/teses/815327.pdf>>. Acesso em: 26 jul. 2022.

SANTOS, J. A. dos *et al.* Caracterização físico-química, nutricional e compostos bioativos de romã. **Research, Society And Development**, [S.l.], v. 11, n. 2, 22 jan. 2022. Research, Society and Development. <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v11i2.22777>. Disponível em: <<https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwiG35ylpqH5AhUMrZUCHWmpDkwQFnoECAMQAQ&url=https%3A%2F%2Frsdjournal.org%2Findex.php%2Frsd%2Farticle%2Fdownload%2F22777%2F22442%2F299440&usg=AOvVaw3e35jpH4MwmEyGwWizZmuJ>>. Acesso em: 07 jul. 2022.

SANTOS, J. *et al.* Avaliação dos compostos bioativos e ação antioxidante do iogurte de beterraba com limão. **Brazilian Journal Of Development**, [S.l.], v. 6, n. 5, p. 29301-29311, 2020. Brazilian Journal of Development. <http://dx.doi.org/10.34117/bjdv6n5-398>. Disponível em: <[https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwi1hO6G46P5AhVJr5UCHc8kDu4QFnoECAIQAQ&url=https%3A%2F%2Fbrasilianjournals.com%2Findex.php%2FBRJD%2Farticle%2Fview%2F10320&usg=AOvVaw1hytMXwm\\_zlr5rE6fr7Zkn](https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwi1hO6G46P5AhVJr5UCHc8kDu4QFnoECAIQAQ&url=https%3A%2F%2Fbrasilianjournals.com%2Findex.php%2FBRJD%2Farticle%2Fview%2F10320&usg=AOvVaw1hytMXwm_zlr5rE6fr7Zkn)>. Acesso em: 26 jul. 2022.

SANTOS, J. M.; BORGES, Â. da S.; CONSTANT, P. B. L. Estabilidade oxidativa em hambúrguer de frango adicionado de antioxidantes extraídos da polpa e semente da romã (*Punica granatum*, L.). **Scientia Plena**, [S. l.], v. 16, n. 10, 2020. Disponível em: <<https://www.scientiaplena.org.br/sp/article/view/5764>>. Acesso em: 22 jun. 2022.

SIEBRA, B. C. **Aumento Da Eficiência Em Uma Linha De Produção De Iogurtes**. 2018. 48 f. TCC (Graduação) - Curso de Engenharia Química, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2018. Disponível em: <[https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwj8w967k5\\_5AhUdQ7gEHQkXCcoQFnoECBAQAQ&url=https%3A%2F%2Frepositorio.ufc.br%2Fbitstream%2Friufc%2F35186%2F2%2F2018\\_tcc\\_bcsiebra.pdf&usg=AOvVaw1jAwVlBVSSgZgUmDxzLr6U](https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwj8w967k5_5AhUdQ7gEHQkXCcoQFnoECBAQAQ&url=https%3A%2F%2Frepositorio.ufc.br%2Fbitstream%2Friufc%2F35186%2F2%2F2018_tcc_bcsiebra.pdf&usg=AOvVaw1jAwVlBVSSgZgUmDxzLr6U)>. Acesso em: 26 jul. 2022.

SIEBRA, B. C. **Aumento da Eficiência em uma Linha de Produção de Iogurtes**. 2018. 48 f. TCC (Graduação) - Curso de Engenharia Química, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2018. Disponível em: <<https://repositorio.ufc.br/handle/riufc/35186>>. Acesso em: 07 jul. 2022.

SILVA, G. M. Da *et al.* Estudo da secagem natural e armazenamento da farinha da casca da romã (*punica granatum*.l). In: III Congresso Nacional de Pesquisa e Ensino em Ciências CONAPESC. **Anais eletrônicos [...]** Campina Grande: Realize Editora, 2018. Disponível em: <<https://www.editorarealize.com.br/index.php/artigo/visualizar/43136>>. Acesso em: 26 jul. 2022.

SILVA, M. T. da. *et al.* Avaliação de Bioativos e Atividade Antioxidante de Iogurte Adicionado de Frutos de Jambolão. In: VIII SIMPOSIO DE ALIMENTOS PARA A REGIÃO SUL, 8. 2013, Passo Fundo. **Anais eletrônicos [...]** Passo Fundo. Disponível em: <<https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&cad=rja&uact>

=8&ved=2ahUKEwii5e3924D5AhV0F7kGHbh9CTcQFnoECAMQAQ&url=https%3A%2F%2Fwww.upf.br%2F\_uploads%2FConteudo%2Fsimposio-sial-anais%2F2013%2Fciencia%2Fc103.pdf&usg=AOvVaw3IN6nGFXgs\_OIR\_RryQY7N>. Acesso em: 17 jul. 2022.

SOLORZANO, C. A. F. *et al.* **Actividad Antioxidante y Polifenoles Totales de una Bebida Funcional a Base se Zumo y Cáscara de Punica Granatum**. 2021. 156 f. TCC (Graduação) - Curso de Ingeniería Agroindustrial, Universidad Nacional del Santa, Nuevo Chimbote, 2021. Disponível em: <[https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwiL9vDp\\_aD5AhXaBrkGHajuABgQFnoECAIQAQ&url=http%3A%2F%2Frepoitorio.uns.edu.pe%2Fhandle%2FUNS%2F3822&usg=AOvVaw0wh5w1yaMzZqqt5QbP5wOM](https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwiL9vDp_aD5AhXaBrkGHajuABgQFnoECAIQAQ&url=http%3A%2F%2Frepoitorio.uns.edu.pe%2Fhandle%2FUNS%2F3822&usg=AOvVaw0wh5w1yaMzZqqt5QbP5wOM)>. Acesso em: 19 jul. 2022.

SOUSA, C. M. de M. *et al.* Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Química Nova**, [S.l.], v. 30, n. 2, p. 351-355, abr. 2007. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0100-40422007000200021>. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/qn/a/4d6yvCyDmhHyfP9ZJqV6nDy/#>>. Acesso em: 18 jul. 2022.

SOUSA, C. R. V. de. **Extração Assistida por Ultrassom e Encapsulamento de Corante da Casca de Beterraba com Potencial para Aplicação em logurte**. 2019. 82 f. Dissertação (Mestrado) - Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Departamento de Engenharia de Alimentos, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2019. Disponível em: <<https://repositorio.ufc.br/handle/riufc/49921>>. Acesso em: 10 jul. 2022.

SOUZA-MOREIRA, T. M. *et. al.* O Brasil no contexto de controle de qualidade de plantas medicinais. **Rev. bras. farmacogn.**, Curitiba, v. 20, n. 3, p. 435-440, julho 2010. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0102-695X2010000300023&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-695X2010000300023&lng=en&nrm=iso)>. Acesso em: 13 jun. 2022.

TORRES, E. T. M. **Extracción y Cuantificación de Compuestos Fenólicos en Cáscara de Rambután (Nephelium Lappaceum L.) de dos Variedades (Dulce y Amarga)**. 2019. 69 f. TCC (Graduação) - Curso de Química y Farmacia, Universidad de Guayaquil, Guayaquil, 2019. Disponível em: <<https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwjB84W0maH5AhWMrpUCHXtSDHMqFnoECAMQAQ&url=http%3A%2F%2Frepoitorio.ug.edu.ec%2Fhandle%2Fredug%2F39960&usg=AOvVaw1xWdGsW5n1MuKqp9fC-Obl>>. Acesso em: 23 jul. 2022.

VELOSO, F. da S. **Biorresíduos de Punica granatum L. como potencial fonte de compostos fenólicos com aplicação alimentar**. 2019. 99 f. Dissertação (Mestrado) - Mestrado em Qualidade e Segurança Alimentar, Instituto Politécnico de Bragança, Bragança, 2019. Disponível em: <[https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwjW2uaknJ\\_5AhWclZUCHcqdBlcQFnoECAoQAQ&url=https%3A%2F%2Fbiotecadigital.ipb.pt%2Fbitstream%2F10198%2F24565%2F1%2FFelipe\\_Veloso.pdf&usg=AOvVaw3Ef\\_rypaXI6VPUEZPVYTWs](https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwjW2uaknJ_5AhWclZUCHcqdBlcQFnoECAoQAQ&url=https%3A%2F%2Fbiotecadigital.ipb.pt%2Fbitstream%2F10198%2F24565%2F1%2FFelipe_Veloso.pdf&usg=AOvVaw3Ef_rypaXI6VPUEZPVYTWs)>. Acesso em: 19 jul. 2022.

VITAL, K. L. **Extração e Quantificação dos Compostos Fenólicos da Romã**. 2014. 44 f.

TCC (Graduação) - Curso de Química Industrial, Instituto Municipal de Ensino Superior de Assis, Assis, 2014. Disponível em: <[https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&ved=2ahUKEwjWyJGXnZ\\_5AhXupZUCHT29CboQFnoECAQQAQ&url=https%3A%2F%2Fcepein.femanet.com.br%2FBDigital%2FarqTccs%2F1311430572.pdf&usg=AOvVaw2ldySs35CU9cuQ3IHuCglU](https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&ved=2ahUKEwjWyJGXnZ_5AhXupZUCHT29CboQFnoECAQQAQ&url=https%3A%2F%2Fcepein.femanet.com.br%2FBDigital%2FarqTccs%2F1311430572.pdf&usg=AOvVaw2ldySs35CU9cuQ3IHuCglU)>. Acesso em: 19 jul. 2022.

## APÊNDICE

**APÊNDICE A – CALCULO DA INCORPORAÇÃO MINIMA DE EXTRATO NO IOGURTE**

151,6 mg EAG → 1 g de extrato das sementes de uva

151,6 mg EAG → 1000 mg de extrato das sementes de uva

X → 100 mg de extrato

X= 15, 16 mg EAG para 150 mL de iogurte

195,46 mg EAG → 1 g de extrato da casca da romã

15, 16 mg EAG → Y

Y= 0,0775606 g de extrato da casca da romã para 150 mL de iogurte.