



MARIA LUIZA BIANCHETTI FURTADO

**EXTRAÇÃO DE SÓLIDOS SOLÚVEIS DA SEMENTE DE
ROMÃ (*Punica Granatum* L.) UTILIZANDO SOLVENTES
ALTERNATIVOS E MISTURAS**

**LAVRAS-MG
2022**

MARIA LUIZA BIANCHETTI FURTADO

**EXTRAÇÃO DE SÓLIDOS SOLÚVEIS DA SEMENTE DE ROMÃ
(*Punica granatum* L.) UTILIZANDO SOLVENTES ALTERNATIVOS E
MISTURAS**

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

Profa. Dra. Fabiana Queiroz
Orientadora

**LAVRAS-MG
2022**

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

Furtado, Maria Luiza Luiza Bianchetti.
EXTRAÇÃO DE SÓLIDOS SOLÚVEIS DA SEMENTE DE
ROMÃ (*Punica granatum* L.) UTILIZANDO SOLVENTES
ALTERNATIVOS E MISTURAS / Maria Luiza Luiza Bianchetti
Furtado. - 2022.
80 p.

Orientador(a): Fabiana Queiroz.

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

Bibliografia.

1. Extração sólido-líquido. 2. Solventes alternativos. 3.
Semente de romã. I. Queiroz, Fabiana. II. Título.

MARIA LUIZA BIANCHETTI FURTADO

**EXTRAÇÃO DE SÓLIDOS SOLÚVEIS DA SEMENTE DE ROMÃ (*Punica granatum*
L.) UTILIZANDO SOLVENTES ALTERNATIVOS E MISTURAS**

**EXTRACTION OF SOLUBLE SOLIDS FROM POMEGRANATE SEED (*Punica*
granatum L.) USING ALTERNATIVE SOLVENTS AND MIXTURES**

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

APROVADA em 16 de janeiro de 2022.

Profa. Dra. Kamilla Soares de Mendonça

IFMG

Prof. Dra. Bruna de Souza Nascimento

UFLA

Profa. Dra. Fabiana Queiroz
Orientadora

LAVRAS-MG
2022

AGRADECIMENTOS

A Deus, por me sustentar nos momentos difíceis, dando-me força para superar todos os desafios.

A minha Vó Leda, pelo apoio e incentivo. Obrigada por ter acreditado em mim!

Ao meus pais, Ary e Valéria, pelo amor incondicional aos seus filhos.

Ao Phelipe, que esteve ao meu lado nos momentos mais difíceis, apoiando-me e incentivando a continuar.

A Jhenifer, Mariana e Tainah, por toda amizade, tornando o caminho mais alegre e descontraído.

À Universidade Federal de Lavras, que me proporcionou a oportunidade de fazer o Mestrado.

Aos professores do Departamento de Ciência de Alimentos da UFLA, em especial os professores do Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, por toda colaboração para o desenvolvimento desta pesquisa.

À professora Fabiana Queiroz, que com toda paciência foi mais que uma orientadora. Obrigada pelas palavras nos momentos em que mais precisei.

Ao professor Cleiton Antônio Nunes, pela ajuda e paciência durante o desenvolvimento desta pesquisa.

Às professoras Kamilla e Bruna, por terem aceitado o convite para participarem da defesa da dissertação. Vocês são o meu exemplo de docência!

RESUMO

Este trabalho foi realizado com o objetivo de avaliar a extração de óleo de semente de romã e compostos bioativos utilizando diferentes solventes. A primeira parte deste estudo foi direcionada à caracterização das sementes, cujos resultados mostram que as sementes apresentam elevadas concentrações de óleos e compostos fenólicos. Na segunda parte, as sementes, após serem caracterizadas, foram submetidas a processos de extrações utilizando solventes puros (etanol, isopropanol, acetona e acetato de etila) em três diferentes temperaturas (35 °C, 45 °C e 55 °C), com a finalidade de calcular os parâmetros termodinâmicos da extração. O solvente etanol obteve o maior rendimento na extração de sólidos solúveis utilizando soxhlet. As análises termodinâmicas dos dados mostram que as ΔH foram positivas para o etanol, acetona e acetato de etila, e negativa para o isopropanol; as ΔS foram positivas para o etanol, acetona e acetato de etila, e negativo para o isopropanol; e ΔG foram negativas para todos as extrações realizadas com todos os solventes, indicando que os processos são espontâneos, endotérmicos, utilizando etanol, acetona e acetato de etila, e o processo é exotérmico quando utilizado o isopropanol. A terceira parte do estudo abordou a otimização dos processos de extração da semente utilizando misturas com etanol, e para esse fim foi realizado um delineamento composto central rotacional (DCCR) avaliando os efeitos das variáveis independentes fração mássica da acetona e do acetato de etila na mistura com etanol e temperatura nas variáveis respostas rendimento, índice de retenção, conteúdo fenólico total e atividade antioxidante pelo método ABTS e DPPH EC₅₀. O resultado mostrou que a adição dos solventes acetona e acetato de etila e o aumento da temperatura não tiveram efeito significativo a 5% no rendimento de extrações de sólidos solúveis e no conteúdo fenólico. Para compostos antioxidantes e índice de retenção, a adição de acetato de etila, acetona e a temperatura tiveram influência significativa no processo de extração. A extração ótima se encontra na faixa entre 0 a 20% de acetato de etila, 25 a 50% de acetona e temperaturas superiores. Por meio dos resultados obtidos, pode-se demonstrar que as sementes de romã possuem um conteúdo de óleo significativamente elevados, sendo necessários estudos utilizando de extrações alternativas e diferentes solventes, com a finalidade de agregar valor a esse resíduo agroindustrial.

Palavras-chave: Semente de romã. Extração sólido-líquido. Solventes alternativos verdes. Exploração de resíduos.

ABSTRACT

This evaluation work was carried out with the objective of editing pomegranate seeds and bioactives using different solvents. The first part was characterized by the characterization of the hypotheses of this study, determined results that were presented as presented in a form and presented phenolic components. With the use of solvents, solvent mixtures and solvent solvents (35°C and 55°C), for the purpose of the thermodynamic parameters of trading. Solvent obtained or higher yield obtained from solids obtained soxhlet. The thermodynamic alternatives of the data show how ΔH were positive for ethanol, acetone and ethyl acetate, and negative for isopropane; ΔS were positive for ethanol, acetone and ethyl acetate, and negative for isopropanol; and ΔG were negative for all extractions performed with all solvents, indicating that the processes are spontaneous, endothermic, using ethanol, acetone and ethyl acetate, and the process is exothermic when using isopropanol. A third part addressed the optimization of seed processing processes using mixtures with, and for this purpose a composite rotational design (DCCR) was carried out to study the effects of independent variables available for studies of classification and ethyl acetate in the mixture with the ethanol index and variable yield variables, the ethanol index in the responses, the phenolic acid content and the antioxidant activity by the ABTS method and DPPH EC50. The result showed that the addition of acetone and ethyl satin solvents and the increase in temperature did not have a significant 5% effect on the yield of extractions of soluble and non-phenolic solids. For antioxidants and acceptance rates, the addition of ethyl acetate and temperature significantly influence the receiving process. The optimum is in the range between 0 to 20% ethyl acetate, 25 to 50% acetone and higher temperatures. Through the results obtained, it can be demonstrated that the pomegranate seeds contain a significantly relevant content of addition studies, being the introduction of the use of alternative extractions and different solvents, in order to add value to this agro-industrial oil.

Keywords: Pomegranate seed. Solid-liquid extraction. Green alternative solvents. Exploitation of waste

SUMÁRIO

	PRIMEIRA PARTE	10
1	INTRODUÇÃO	10
2	REFERENCIAL TEÓRICO	12
2.1	Romã	12
2.2	Semente de romã	15
2.3	Extração de óleo de semente de romã	15
	SEGUNDA PARTE – ARTIGOS	24
	ARTIGO 1 - CARACTERIZAÇÃO DAS SEMENTES DE ROMÃ (<i>Punica granatum L.</i>)	24
1	INTRODUÇÃO	26
2	MATERIAIS E MÉTODOS	26
2.1	Obtenção e preparo da matéria-prima	26
2.2	Caracterização das sementes	27
2.2.1	Composição química	27
2.2.2	Minerais	27
2.2.3	Obtenção dos extratos	28
2.2.4	Fenólicos totais	28
2.2.5	DPPH	28
2.2.6	ABTS	29
2.2.7	FRAP	29
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	30
4	CONCLUSÃO	33
	REFERÊNCIAS	33
	ARTIGO 2 - TERMODINÂMICA DA EXTRAÇÃO DE SÓLIDOS SOLÚVEIS DE SEMENTE DE ROMÃ (<i>Punica granatum L.</i>)	36
1	INTRODUÇÃO	38
2	MATERIAIS E MÉTODOS	39
2.1	Processo de extração	40
2.3	Análise termodinâmica do processo de extração com diferentes solventes	42
2.4	Análise estatística	43
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	43
4	CONCLUSÃO	50
	REFERÊNCIAS	51
	ARTIGO 3 – ANÁLISE DO USO DE SOLVENTES ALTERNATIVOS E MISTURAS NA EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS DA SEMENTE DE ROMÃ (<i>Punica granatum L.</i>)	55
1	INTRODUÇÃO	57

2	MATERIAIS E MÉTODOS	58
2.1	Processo de extração	58
2.2	Definição dos solventes	59
2.3	Delineamento composto central rotacional (DCCR)	59
2.4	Análise da fase extrato	60
2.4.1	Rendimento e índice de retenção	60
2.4.2	Fenólicos Totais	62
2.4.3	Atividade antioxidante	62
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	62
3.1	Rendimento	65
3.2	Índice de retenção (IR)	66
3.3	Fenólicos totais	67
3.4	Atividade antioxidante	68
3.5	Eficiência (<i>Ef</i>)	73
4	CONCLUSÃO	75
	REFERÊNCIAS	75
	APÊNDICE A – BALANÇO DE MASSA	78

PRIMEIRA PARTE

1 INTRODUÇÃO

A Romã (*Punica granatum* L.) é uma fruta antiga com uma história medicinal de milhares de anos. A romã se originou no Irã, norte da Índia, há milhares de anos, e tem sido cultivada em toda a região do Mediterrâneo (FADAVI; BARZEGAR; AZIZI, 2005). O fruto possui diversas substâncias bioativas, que incluem taninos hidrolisáveis, ácido elágico e seus derivados, ácido gálico, antocianinas, proantocianidinas, flavonoides, vitaminas, bem como esteróis, lignanas, sacarídeos, ácidos graxos, terpenos, entre outros. Elagitaninos e galotaninos, juntamente com ácido elágico e seus derivados, são compostos bioativos cruciais da romã (BRIGHENTI *et al.*, 2017; WANG *et al.*, 2018). Os usos terapêuticos potenciais da romã são de uma grande diversidade. A romã possui atividade antioxidante (DERAKHSHAN *et al.*, 2018) e propriedades antimicrobianas (ZEKRY *et al.*, 2020; DOOSTKAM *et al.*, 2020), anti-inflamatória e antiaterogênica (SALAMA *et al.*, 2020) e vasculoprotetora (WANG *et al.*, 2018), com potencial interesse à saúde. Além disso, a romã e seus compostos apresentam efeito protetor contra a toxicidade induzida por químicos ou drogas alopáticas (WANG *et al.*, 2018).

O benefício da romã não se limita à parte comestível dos frutos. Suas sementes, bem como flores e folhas, são ricas em inúmeros compostos bioativos e, portanto, o interesse científico por essa planta tem crescido nos últimos anos (WANG *et al.*, 2018).

Dentre os resíduos da romã na indústria alimentícia, encontram-se principalmente as suas sementes. As sementes apresentam cerca de 12 a 20% de óleo (LANSKY; NEWMAN, 2007). As propriedades do óleo de semente de romã são atribuídas, principalmente, à presença de grande quantidade de ácido púnico, um isômero do ácido linolênico (KHAJEBISHAK *et al.*, 2018). Entre os benefícios do ácido púnico estão a melhora da função do sistema imunológico, além das suas propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias (KOSTOGRYS *et al.*, 2017).

Existem diversos métodos utilizados para a extração de óleo de semente de romã, sendo os principais a extração por prensagem e a extração por solvente (DRINIĆ *et al.*, 2020). A extração por solvente é um método que se difundiu para extração de óleo devido ao alto rendimento de óleo (JAHIRUL *et al.*, 2013).

Muitos são os solventes e misturas de solventes empregados nos processos de extração. O hexano é o solvente mais amplamente utilizado na extração de óleos devido à sua natureza apolar, seu baixo ponto de ebulição (69 °C) e ao baixo efeito corrosivo no equipamento (JOHNSON, LUSAS, 1983). Apesar das vantagens da utilização do hexano, existem algumas desvantagens, entre elas sua origem fóssil não-renovável, inflamabilidade e elevada emissão de

materiais orgânicos voláteis (BHUIYA *et al.*, 2020), além de ser considerado uma neurotoxina (ICHIHARA *et al.*, 2019). Suas perdas durante o processo de extração e recuperação foram identificadas como poluentes do ar, uma vez que o hexano pode reagir com outros poluentes para produzir ozônio e oxidantes fotoquímicos (WAN *et al.*, 1995; HANMOUNGJAI; PYLE; NIRANJAN, 2000).

Dados os riscos potenciais da utilização do hexano como solvente na extração de compostos apolares, outros solventes vêm sendo estudados para substituí-lo. Dentre os solventes que aliados à tecnologia podem ser uma alternativa viável de substituição para extração de óleo estão os solventes verdes (JEEVAN KUMAR *et al.*, 2017). Os solventes verdes visam desenvolver um processo ambientalmente amigável com redução ou eliminação simultânea de poluentes (ANASTAS; WARNER, 1998; WAN *et al.*, 1995; WELTON, 2015). Solventes, como etanol, acetona, acetato de etila e isopropanol, apresentam grande potencial de substituição do n-hexano sem comprometer a recuperação de óleo do processo, conforme relatado por uma série de autores em seus estudos (CASTRO *et al.*, 2018; MAZZAFERA *et al.*, 1998; PELLEGRINI *et al.*, 2003; SOMNUK *et al.*, 2017; TSUKUI *et al.*, 2014).

Buscando avaliar a viabilidade da utilização de solventes alternativos na extração de compostos, o objetivo deste trabalho é avaliar a influência do uso de etanol, isopropanol, acetona e acetato de etila na extração de compostos da semente de romã (*Punica granatum* L.). Além disso, será apresentada a caracterização da matéria-prima e o estudo termodinâmico do processo de extração utilizando tais solventes.

Para atingir esse objetivo foram redigidos 3 artigos, sendo estes:

Artigo 1: Caracterização das sementes de Romã (*Punica granatum* L.). É apresentada a caracterização das sementes de romã quanto à composição e à presença de compostos bioativos.

Artigo 2: Termodinâmica da extração de sólidos solúveis de semente de romã (*Punica Granatum* L.). É realizado um estudo termodinâmico utilizando os diferentes solventes (etanol, isopropanol, acetona e acetato de etila) nas temperaturas de 35, 45 e 55 °C.

Artigo 3: Análise do uso de solventes alternativos e misturas na extração de compostos bioativos da semente de romã (*Punica granatum* L.) É realizado um delineamento composto central rotacional (DCCR) para potencializar as extrações de óleo/compostos presentes nas sementes de romã utilizando solventes (acetona e acetato de etila) numa mistura com etanol e temperatura.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Romã

A romã (*Punica granatum* L.) é uma árvore frutífera que é cultivada em uma ampla variedade de localizações geográficas subtropicais e tropicais (HOLLAND; HATIB; BAR-YA'AKOV, 2009). A romã não é considerada uma das frutas mais consumidas do mundo, no entanto, é um dos frutos mais interessantes em termos de uso terapêutico cultural, tradicional e científico.

Atualmente, o mundo produz cerca de 310.000 hectares de romãzeiras, que são cultivadas principalmente em países como Irã, Índia, Estados Unidos, Espanha, Egito, Israel, Turquia, Marrocos, China, Argentina e Chile. Cerca de 95% da produção mundial da romã estão concentrados no hemisfério norte. Nos países do hemisfério sul, como Chile, Peru, Austrália e Argentina, a produção vem aumentando significativamente nos últimos anos, mas em nenhum desses países a área de cultivo excede 1.000 hectares (MELGAREJO-SÁNCHEZ *et al.*, 2015). No Brasil, algumas variedades de romã estão sendo cultivadas, e em 2017 esse cultivo totalizava uma área de produção de 66 hectares (IBGE, 2017).

No contexto nacional, a romã apresenta um aumento na taxa de produção. Ao contrário dos diversos produtos hortícolas, a demanda pela fruta tem tendência a aumentar em ritmo muito mais acelerado. As plantações comerciais incentivadas têm como meta inserir essa fruta no mercado nacional visando, principalmente, a extração de compostos nutracêuticos e elaboração de novos produtos com alta atividade antioxidante, a partir do aproveitamento integral do fruto (EMBRAPA, 2011). No último Censo realizado pelo IBGE, no ano de 2010, o Brasil produziu 279 toneladas de romã, até então em 101 unidades produtoras do fruto, gerando um valor de produção de 1,16 milhões de reais (IBGE, 2017). De acordo com os dados obtidos pelo Censo em 2010, os estados produtores são São Paulo, Minas Gerais, Bahia, Pernambuco, Paraná e Rio Grande do Sul, sendo os maiores produtores São Paulo, Pernambuco e Paraná, respectivamente (FIGURA 1).

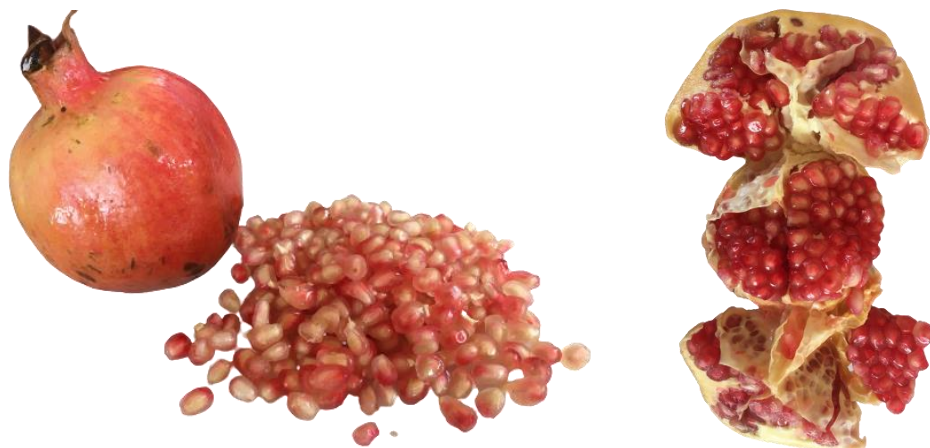
Figura 1 – Estados brasileiros produtores de romã – Valor de produção (mil reais).



Fonte: IBGE (2017).

A fruta da romã é uma balaústa com uma forma arredondada que possui um cálice proeminente. A parte comestível do fruto da romã, os arilos, contêm sementes e uma camada especial de células (células de suco) que são de origem epidérmica e projetam-se das células epidérmicas externas da semente, conforme mostrado na Figura 2 (HOLLAND; HATIB; BAR-YA'AKOV, 2009).

Figura 2 – Estrutura da romã (*Punica granatum L.*)



Fonte: Da autora (2020).

A cor da fruta externa varia de amarelo, verde ou rosa coberto com rosa a vermelho escuro ou roxo profundo. A cor da camada succulenta pode variar de branco a vermelho escuro (HOLLAND; HATIB; BAR-YA'AKOV, 2009). Os estágios de maturação da romã são mostrados na Figura 3.

Figura 3 – Estágios de maturação da romã (*Punica granatum L.*)



Fonte: Da autora (2020).

Em geral, o fruto da romã consiste em 50% de casca e polpa branca, 50% de arilos e destes 10% de sementes (por peso). Os arilos contêm 85% de água, 10% de açúcares totais, 1,5% de metabólitos e compostos bioativos, como ácidos orgânicos, fenólicos e flavonoides (TEZCAN *et al.*, 2009).

A romã é uma fruta rica em antocianidinas, flavonoides e compostos fenólicos, e sua composição fitoquímica varia em diferentes partes da fruta, de acordo com fatores geográficos e ambientais. A variação na composição dos fitoquímicos pode alterar o nível de bioatividade dos metabólitos secundários (JURENKA, 2008; RUMM *et al.*, 2013). A romã possui vários micronutrientes e macronutrientes e compostos bioativos, cuja composição propicia à romã diversas propriedades antioxidantes excepcionais, além de fornecer propriedades antiateroscleróticas, anti-hipertensivas, anti-inflamatórias e antimutagênicas, e tem um efeito positivo na cicatrização de feridas (GUERRERO-SOLANO *et al.*, 2020).

2.2 Semente de romã

As sementes de romã podem ser consideradas fonte de compostos bioativos e possuem alto teor e qualidade de óleo. A romã possui cerca de 3,7 a 14,3% de sementes. As sementes, ricas em lipídios, possuem uma quantidade de óleo que varia de 14 a 20% na matéria seca (MELGAREJO-SÁNCHEZ *et al.*, 1995; AL-MAIMAN; AHMAD, 2002).

O óleo de semente de romã (*Punica granatum* L.) é rico em ácidos graxos poli-insaturados bioativos, dentre os quais se destaca o ácido linolênico conjugado. O ácido linolênico conjugado é um conjunto de isômeros posicionais e geométricos do ácido linolênico (18:3), caracterizado por três ligações duplas conjugadas, que ocorrem em produtos de origem vegetal, como óleos de sementes de frutos, em concentrações < 0,2% dos ácidos graxos totais (KHODDAMI; MAN; ROBERTS, 2014). O óleo de semente de romã contém em média 80% de ácido linolênico conjugado com distribuição isomérica variada, como o ácido púnico (C18:3- cis 9, trans 11, cis 13), ácido α -eleosteárico (18:3- 9 cis, 11 trans, 13 trans), ácido calêndico (18:3- 8 trans, 10 trans, 12cis), ácido jacárico (18:3- 8 cis, 10 trans, 12 cis) e ácido catálpico (18:3- 9 trans, 11 trans, 13cis). Além dos ácidos graxos, o óleo de semente possui compostos fenólicos, juntamente com flavonoides, antocianinas e taninos, cujos grupos de fitoquímicos antioxidantes são importantes devido às suas atividades biológicas e são responsáveis pela eliminação de radicais livres (HOLIC *et al.*, 2018)

Eikani, Golmohammad e Homami (2012) relataram que o óleo de romã extraído por hexano superaquecido, extração por soxhlet e prensagem a frio continha 4,85, 3,10 e 4,94% de ácido palmítico; 2,94, 1,91 e 3,19% de ácido esteárico; 9,80, 5,80 e 10,50% de ácido oleico; 9,02, 5,70 e 8,95% de ácido linoleico; e 70,73, 81,69 e 69,79% de ácido púnico; respectivamente.

2.3 Extração de óleo de semente de romã

A extração sólido-líquido é definida como operação de transferência de massa de uma matriz sólida para o solvente. No caso das extrações de sementes oleaginosas, o óleo bruto é separado pelo solvente de uma torta composta de proteínas e carboidratos, até que um estado de equilíbrio seja atingindo. Existem três etapas principais nesse processo de extração: (1) a penetração do solvente na célula, (2) a formação de micela intracelular, e (3) a difusão do material extraído ao meio externo.

Segundo Liauw *et al.* (2008), o rendimento da extração de óleo de romã com solventes orgânicos mostrou-se dependente da temperatura, natureza do solvente, tamanho das partículas do material de extração, da relação entre massa da semente por volume do solvente e o tempo de extração. Estudos com grão de café verde investigam a influência desses parâmetros no processo de extração dos compostos solúveis (OLIVEIRA *et al.*, 2018).

A temperatura é um parâmetro importante nos processos de extração. Em geral, o aumento da temperatura faz com que a solubilidade do óleo no solvente aumente e a viscosidade da solução diminua, o que facilita a transferência de massa no processo (AMARANTE *et al.*, 2014). Além disso, o aumento da temperatura pode aumentar a energia cinética das moléculas, o que proporciona uma maior extração (JAVED *et al.*, 2015). No entanto, o aumento excessivo da temperatura provoca a perda de qualidade do óleo extraído, por levar à degradação de alguns compostos de extração.

A razão mássica solvente-sólido é um dos parâmetros importantes na extração, em que uma diluição mais elevada proporciona aumento no coeficiente de transferência de massa, produzindo maior extração dos compostos de interesse (VOROBIEV; LEOVKA, 2020).

A agitação favorece o movimento convectivo no solvente, assim compensando a gradual diminuição do gradiente causada pelo aumento da concentração do soluto na fase extrato (KRISHNAN *et al.*, 2013).

O teor de água presente nas sementes destinadas à extração é outro fator que influencia no rendimento final. A presença de água nas partículas afeta negativamente a cinética e o rendimento de extração de óleo extraído durante o processo de lavagem e de difusão, isso porque a água afeta a polaridade do solvente (SANTOS *et al.*, 2015).

O efeito do tamanho da partícula no rendimento de extrações está associado ao aumento dos danos celulares e área superficial com a diminuição do tamanho das partículas. Isso favorece a extração do óleo presente na semente, no entanto, partículas excessivamente pequenas podem causar problemas operacionais, como uma difícil separação das partículas que muitas vezes permanecem em suspensão (PATRICELLI *et al.*, 1979), e elevação da quantidade de solução aderida à torta.

Riscos de segurança, como a toxicidade de solventes e presença de resíduos de solventes nos extratos e perdas para a atmosfera, juntamente com rendimento, estimularam o desenvolvimento de tecnologias limpas ou verdes, que podem minimizar ou eliminar o uso de solventes tóxicos (TIWARI, 2015).

Diversos solventes têm sido estudados como alternativas para substituição do hexano na extração de compostos apolares, tais como: água, água adicionada de enzimas, acetona,

isopropanol, metanol, etanol, entre outros. Alcoóis de cadeia curta, especialmente etanol e isopropanol, têm sido propostos como solventes de extração alternativos devido à sua maior segurança, produzir tortas de melhores qualidades (resíduo de solvente menos tóxico) e a obtenção de óleos com maiores quantidades de compostos antioxidantes e estabilidade (devido a extrações de antioxidantes) (RODRIGUES *et al.*, 2011; RUSSIN *et al.*, 2011; TIR *et al.*, 2012).

Segundo Johnson e Lusas (1983), nenhum solvente é totalmente adequado para o processo de extração, pois devem ser consideradas características como não apresentar toxicidade, seletividade, baixa inflamabilidade, estabilidade, pureza e preço acessível.

O emprego da acetona, etanol e isopropanol é alternativa promissora, devido aos menores riscos de contaminação ambiental e à saúde humana (OLIVEIRA *et al.*, 2012). São polares, obtendo-se maior rendimento de compostos fenólicos em relação ao hexano (KRISHNAN *et al.*, 2013).

O processo de separação pode ser realizado por abaixamento de temperatura, situação em que os óleos apresentam baixa solubilidade no solvente. Essa característica facilita o processo de separação, gastando 25-30% menos energia que a recuperação do hexano por destilação da micela (ABRAHAM; HRON; KOLTUN, 1988; FRANCO; SINEIRO; NÚÑEZ, 2009; JOHNSON; LUSAS, 1983).

Por serem de natureza polar, etanol e isopropanol têm menor capacidade de solubilizar óleo, no entanto, extraem facilmente componentes polares da matriz. Alterações na pressão e/ou temperatura do processo, ou adição de cossolvente, podem apresentar efeitos desejáveis no aumento da solubilidade dos lipídeos nesses componentes (DAGOSTIN; CARPINÉ; CORAZZA, 2015).

O acetato de etila tem sido amplamente estudado como um solvente potencial para extrair óleo (FREEMAN, PACK; MCKINNEY, 1943; MADDAUS, GORLER; MOLLS, 1983), pois é classificado como um risco moderado de incêndio, não cancerígeno e baixo risco à saúde.

Tian *et al.* (2013) estudaram o rendimento da extração de óleo de semente de romã assistida por ultrassom utilizando acetato de etila, acetona, éter de petróleo, éter dietílico, isopropanol, n-hexano e obtiveram os resultados de 20,04%, 19,87%, 20,67%, 19,94%, 18,56%, 20,48%, respectivamente.

O objetivo dos processos de extração verde é conseguir um aumento da taxa de extração, uso mais eficaz de energia, aumento da transferência de calor e massa, tamanho reduzido do equipamento e redução no número de etapas de processamento. A aplicação dessas tecnologias

também se destina a preservar o meio ambiente e seus recursos (SILVA; ROCHA-SANTOS; DUARTE, 2016).

REFERÊNCIAS

ABRAHAM, G.; HRON, R. J.; KOLTUN, S. P. Modeling the solvent- extraction of oilseeds. **Journal of the American Oil Chemists Society**, Cidade, v. 65, n. 1, p. 129-135, 1988.

AL-MAIMAN, S. A.; AHMAD, D. Changes in physical and chemical properties during pomegranate (*Punica granatum* L.) fruit maturation. **Food Chemistry**, v. 76, n. 4, p. 437–441, 2013.

AMARANTE, R. C. A. *et al.* Oil Extraction from Castor Cake Using Ethanol: Kinetics and Thermodynamics. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v. 53, n. 16, p. 6824-6829, 2014.

ANASTAS, P.T., WARNER, J.C. **Green Chemistry: Theory and Practice**. Oxford University Press, New York, 1998.

BHUIYA, M. M. K *et al.* Comparison of oil extraction between screw press and solvent (n-hexane) extraction technique from beauty leaf (*Calophyllum inophyllum* L.) feedstock. **Industrial Crops and Products**, v. 144, 2020.

BRIGHENTI, V *et al.* Metabolite fingerprinting of *Punica granatum* L. (pomegranate) polyphenols by means of high-performance liquid chromatography with diode array and electrospray ionization-mass spectrometry detection. **Journal of Chromatography A**, v. 1480, p. 20–31, 2017.

CASTRO, A.C.C.M. *et al.* Green coffee seed residue: a sustainable source of antioxidant compounds. **Food Chemistry**, v. 246, p. 48–57, 2018.

DADASHI, S *et al.* Pomegranate (*Punica granatum* L.) seed: A comparative study on biochemical composition and oil physicochemical characteristics. **International journal of Advanced Biological and Biomedical Research**, v. 1, n. 4, p. 351-363, 2013.

DAGOSTIN, J. L. A. *et al.* Liquid-liquid phase equilibrium measurements and modeling for systems involving: soybean oil plus ethyl esters plus (ethanol plus water). **Fuel**, v. 141, p. 164-172, 2015.

DAGOSTIN, J. L.; CARPINE, D.; CORAZZA, M. L. Extraction of soybean oil using ethanol and mixtures with alkyl esters (biodiesel) as co-solvent: Kinetics and thermodynamics. **Industrial Crops and Products**, v. 74, p. 69-75, 2015.

DERAKHSHAN, Z *et al.* Antioxidant activity and total phenolic content of ethanolic extract of pomegranate peels, juice and seeds. **Food and Chemical Toxicology**, v. 114, p. 108–111, 2017.

DOOSTKAM, A *et al.* Punica granatum L. (pomegranate): A Potential Anti-Microbial Agent. **Anti-Infective Agents**, v. 17, 2019.

DRINIĆ, Z *et al.* Effect of pomegranate peel extract on the oxidative stability of pomegranate seed oil. **Food Chemistry**, v. 333, 2020.

EIKANI, M. H.; GOLMOHAMMAD, F.; HOMAMI, S. S. Extraction of pomegranate (*Punica granatum* L.) seed oil using superheated hexane. **Food and Bioproducts Processing**, v. 90, p. 32-36, 2012.

ELBANDY, M.; ASHOUSH, I. Phytochemicals in Pomegranate Seeds and Their Effect as Hypolipidemic Agent in Hypercholesterolemic Rats. **World Journal of Dairy & Food Sciences**, v. 7, p. 85-92, 2012.

EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Romã será alvo de pesquisa para produção de ingredientes antioxidantes**. 2011.

FADAVI, A.; BARZEGAR, M.; AZIZI, MH. Physicochemical Composition of Ten Pomegranate Cultivars (*Punica granatum* L.) Grown in Iran. **Food Science and Technology International**, v. 113, n. 11, p. 113-119, 2005.

FRANCO, D. et al. Ethanolic extraction of *Rosa rubiginosa* soluble substances: Oil solubility equilibria and kinetic studies. **Journal of Food Engineering**, v. 79, n. 1, p. 150-157, 2007

FREEMAN, A. F., PACK, F. C., MCKINNEY, R. S. Solvents in extraction of tung oil. **Industrial & Engineering Chemistry**, v. 35, p. 1156-1159, 1943.

GUERRERO-SOLANO, J. A *et al.* **Pomegranate as a Potential Alternative of Pain Management: A Review**. *Plants*, v. 9, 2020.

JAHIRUL, M. I. *et al.* Physio-chemical assessment of beauty leaf (*Calophyllum inophyllum*) as second-generation biodiesel feedstock. **Energy Reports**, p. 204-214, 2015.

HANMOUNGJAI, P.; PYLE, L.; NIRANJAN, K. Extraction of rice bran oil using aqueous media. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, v. 75, n. 5, p. 348-352, 2000.

HOLIC, R. *et al.* Bioactivity and biotechnological production of punicic acid. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 102, n. 8, p. 3537-3549, 2018.

HOLLAND, D.; HATIB, K.; BAR-YA'AKOV, Pomegranate: Botany, Horticulture, Breeding. **Horticultural Reviews**, v. 35, p.127–191. 2009.

(IBGE) INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Produção de romã**. 2017. Disponível em: <<https://www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria/roma/br>>. Acesso em: ago. 2020.

ICHIHARA, G. *et al.* Pyrrole adducts in globin and plasma of workers exposed to hexane. **International Archives of Occupational and Environmental Health**, 2019.

JAVED, F. *et al.* Recovery of Rice Bran Oil Using Solid-Liquid Extraction Technique. **Journal of Food Process Engineering**, v. 38, n. 4, p. 357-362, 2015.

JEEVAN KUMAR, S.P. *et al.* Green solvents and technologies for oil extraction from oilseeds. **Chemistry Central Journal**, v. 11, 2017.

JOHNSON, L. A.; LUSAS, E. W. Comparison of alternative solvents for oils extraction. **Journal of the American Oil Chemists Society**, v. 60, n. 2, p. 229-242, 1983.

JURENKA, J.S. Therapeutic applications of pomegranate (*Punica granatum L.*): a review. **Alternative Medicine Review**, v. 9, p.128-44, 2008.

KHAJEBISHAK, Y *et al.* Punicic acid: A potential compound of pomegranate seed oil in Type 2 diabetes mellitus management. **Journal of Cellular Physiology**, 2018.

KHODDAMI, A.; MAN, Y. B. C.; ROBERTS, T. H. Physico-chemical properties and fatty acid profile of seed oils from pomegranate (*Punica granatum L.*) extracted by cold pressing. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 116, n. 5, p. 553-562, 2014.

KOSTOGRYS, R. B. *et al.* Effect of dietary pomegranate seed oil on laying hen performance and physicochemical properties of eggs. **Food Chemistry**, v. 15, p. 1096-1103, 2017.

KRISHNAN, K. R. *et al.* Kinetic modeling of spice extraction from *S. aromaticum* and *C. cassia*. **Journal of Food Engineering**, v. 117, n. 3, p. 326-332, Aug 2013.

LANSKY, E. P.; NEWMAN, R. A. *Punica granatum* (pomegranate) and its potential for prevention and treatment of inflammation and cancer. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 109, n. 2, p. 177–206, 2006.

LIAUW, F.A. *et al.* Extraction of neem oil (*azadirachta indica a. juss*) using n-hexane and ethanol: studies of oil quality, kinetic and thermodynamic. **Journal of Engineering and applied sciences**, v.3, n.3, p.49-54, 2008.

MADAUS, R., GORLER, K., MOLLS, W. **Method for the extraction of silymarin from plants**, US4368195A, 1983.

MAZZAFERA, P., *et al.* Oil content of green beans from some coffee species. **Bragantia** v, 57, p. 45–48, 1998.

MELGAREJO-SÁNCHEZ, P.; SALAZAR, D. M.; AMOROS, A. Total lipids content and fatty acid composition of seed oils from six pomegranate cultivars. **Journal Science of Food Agriculture**, v. 69, p 253-256, 1995.

MELGAREJO-SÁNCHEZ, P *et al.* A romã no mundo: novos cultivares e usos. **Acta Horticulturae**, p. 327-332, 2015.

OLIVEIRA, R. *et al.* Effects of the extraction conditions on the yield and composition of rice bran oil extracted with ethanol-A response surface approach. **Food and Bioproducts Processing**, v. 90, n. C1, p. 22-31, 2012.

PATRICELLI, A. *et al.*, Fattori che influenzano i´estrazione dei lipidi da seme decorticati di girasole. **La Revista Italiana Delle Sostanze Grasse**, v.56, p-136-142, 1979.

PELLEGRINI, N *et al.* Total antioxidant capacity of plant foods beverages and oils consumed in Italy assessed by three different in vitro assays. **Nutrition Journal**, v. 133, p. 2812–2819, 2003.

RODRIGUES, C.E.C. et al. **Ethanollic Extraction of Soybean Oil: Oil Solubility Equilibria and Kinetic Studies**. Icheap-10: 10th International Conference on Chemical and Process Engineering, Pts 1-3, v. 24, p. 811-816, 2011.

RUSSIN, T. A. et al. Alternative Techniques for Defatting Soy: A Practical Review. **Food and Bioprocess Technology**, v. 4, n. 2, p. 200-223, 2011.

SALAMA, A. A *et al.* The Anti-inflammatory and Antiatherogenic In Vivo Effects of Pomegranate Peel Powder: From Waste to Medicinal Food. **Journal of Medicinal Food**, p. 1-6, 2020.

SANTOS, S. B. et al. Kinetics and Thermodynamics of Oil Extraction from *Jatropha curcas* L. Using Ethanol as a Solvent. **International Journal of Chemical Engineering**, 2015.

SILVA, R. P. F. F.; ROCHA-SANTOS, T. A. P.; DUARTE, A. C. Supercritical fluid extraction of bioactive compounds. **Trac-Trends in Analytical Chemistry**, v. 76, p. 40-51, 2016.

SOMNUK, K., EAWLEX, P., PRATEEPCHAIKUL, G. Optimization of coffee oil extraction from spent coffee grounds using four solvents and prototype-scale extraction using circulation process. **Agriculture and Natural Resources**, v. 51, p. 181–189, 2017.

TEZCAN, F. et al. Antioxidant activity and total phenolic, organic acid and sugar content in commercial pomegranate juices. **Food Chemistry**, v. 115, n. 3, p. 873–877, 2009.

TIAN, Y *et al.* Optimization of ultrasonic-assisted extraction of pomegranate (*Punica granatum* L.) seed oil. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 20, p.202–208, 2013.

TIR, R.; DUTTA, P. C.; AHMED, B. H A. Y. Effect of the extraction solvent polarity on the sesame seeds oil composition. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 114, n. 12, p. 1427-1438, 2012.

TIWARI, B. K. Ultrasound: A clean, green extraction technology. **Trac-Trends in Analytical Chemistry**, v. 71, p. 100-109, Sep 2015.

TSUKUI, A. *et al.* Microwave-assisted extraction of green coffee oil and quantification of diterpenes by HPLC. **Food Chemistry**, v. 164, p. 266–271, 2014.

VOROBIEV, E.; LEBOVKA, N. Processing of Foods and Biomass Feedstocks by Pulsed Electric Energy, 2020.

WAN, P. J. et al. Alternative Hydrocarbon Solvents For Cottonseed Extraction. **Journal of the American Oil Chemists Society**, v. 72, n. 6, p. 653-659, 1995.

WANG, D *et al.* Vasculoprotective Effects of Pomegranate (*Punica granatum L.*). **Frontiers in pharmacology**, v. 9, 2018.

WELTON, T. Solvents and sustainable chemistry. **Proceedings: Mathematical, Physical and Engineering Sciences**, v. 471, 2015

ZEKRY, S. S. A *et al* (2020). Fabrication of pomegranate/honey nanofibers for use as antibacterial wound dressings. **Wound Medicine**, v. 28, 2020.

SEGUNDA PARTE – ARTIGOS

ARTIGO 1 - CARACTERIZAÇÃO DAS SEMENTES DE ROMÃ (*Punica granatum L.*)

RESUMO

A romã (*Punica granatum L.*) é um fruto que tem atraído muita atenção nos últimos anos, pois o seu consumo confere benefícios à saúde. Os subprodutos da romã, como as sementes, também são uma excelente fonte nutricional e de componentes bioativos. Este estudo teve como objetivo avaliar a composição química e quantificar os compostos bioativos e atividades antioxidantes de semente de romã. As sementes de romã apresentaram altos teores de lipídios (19,29%), proteínas (12,50%) e fibras (21,49%). Quanto à concentração de micronutrientes, as sementes de romã destacam-se pela concentração de nitrogênio, fósforo e potássio, além de possuírem quantidades substanciais de ferro, zinco, cobre e manganês. A semente de romã obteve o conteúdo fenólico total de 5,98 mg EAG/g de semente, atividade antioxidante pelo método DPPH, ABST e FRAP de 7450,06 g de semente/g de DPPH, 13,28 μM Trolox/g de semente e 138,80 μM sulfato ferroso/g de semente, respectivamente. Esses resultados mostram o potencial das sementes de romã como fonte para a extração de óleos e outros compostos de interesse na indústria farmacêutica e alimentícia.

Palavras-chave: Óleo. Aproveitamento de Resíduo. Composição centesimal. Fenólicos totais. Antioxidante.

ABSTRACT

Pomegranate (*Punica granatum* L.) is a fruit that has attracted much attention in recent years, as its consumption confers health benefits. Pomegranate by-products, such as seeds, are also an excellent source of nutrition and bioactive components. This study aimed to evaluate the chemical composition and quantify the bioactive compounds and antioxidant activities of pomegranate seed. Pomegranate seeds showed high levels of lipids (19.29%), proteins (12.50%) and fibers (21.49%). As for the concentration of micronutrients, pomegranate seeds stand out for their concentration of nitrogen, phosphorus and potassium, in addition to having substantial amounts of iron, zinc, copper and manganese. The pomegranate seed obtained a total phenolic content of 5.98 mg EAG/g of seed, antioxidant activity by the DPPH, ABST and FRAP method of 7450.06 g of seed/g of DPPH, 13.28 μ M Trolox/g of seed and 138.80 μ M ferrous sulfate/g of seed, respectively. These results show the potential of pomegranate seeds as a source for the extraction of oils and other compounds of interest in the pharmaceutical and food industry.

Keywords: Oil. Use of Residue. Centesimal composition. Total phenolics. antioxidant.

1 INTRODUÇÃO

A romã (*Punica granatum* L.) é uma fruta pertencente à família *Punicaceae*, consumida desde a antiguidade devido ao seu valor nutricional (MELGAREJO *et al.*, 2020). Suas diferentes frações, semente, casca, folha, flor e pericarpo, têm uma atividade nutracêutica particular e por isso a fruta tem recebido uma considerável atenção devido a suas propriedades (GIL *et al.*, 2000). As diferentes partes da romã possuem compostos que podem promover ação antioxidante, anti-inflamatória, bacteriana, antitumoral e diminuição de risco de doenças metabólicas (TOPALOVIC *et al.*, 2020; MASTROGIOVANNI *et al.*, 2019). A romã é consumida como uma fruta inteira ou utilizada para a fabricação de suco, geleia e vinho. A casca, a polpa branca e as sementes de romã são consideradas como resíduos na indústria de processamento de frutas (GHORBANZADEH; REZAEI, 2017).

As sementes de romã possuem cerca de 11 a 27% de óleo (GHORBANZADEH; REZAEI, 2017). Nos últimos anos, o óleo da semente de romã tem sido explorado devido ao seu interesse nutricional, farmacêutico e cosmético (PAUL; RADHAKRISHNAN, 2020). As sementes de romã contêm compostos fenólicos e antioxidantes que apresentam propriedades medicinais (FAHAD *et al.*, 2017). O óleo das sementes de romã é rico em ácidos graxos linolênicos conjugados bioativos, sua maioria na forma de ácido púnico, tocoferóis e fitosteróis, que também possuem propriedades antidiabéticas, anticancerígenas e antiobesidade (SILVA *et al.*, 2019). Dos principais componentes encontrados nas sementes de romã, os fitoesteróis têm a capacidade de inibir a absorção de colesterol, enquanto os tocoferóis atuam como conservantes naturais e sua presença nos óleos de sementes está correlacionada à abundância relativa de ácidos graxos insaturados (CALIGIANI *et al.*, 2010).

O objetivo deste trabalho foi avaliar a composição química e quantificar os compostos bioativos e as atividades antioxidantes presentes nas sementes das romãs cultivadas no norte de Minas Gerais (MG), disponibilizando informações que podem agregar valor aos subprodutos desses frutos.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Obtenção e preparo da matéria-prima

As romãs foram compradas através do CEASAMINAS, em Belo Horizonte – MG. Os frutos foram obtidos da Fazenda Sol Nascente, localizada em Janaúba – MG (Latitude: 15°32'59''S; Longitude: 43°18'52''W). As mudas de *Punica granatum* *Lythraceae* foram

adquiridas em 2016 pelos produtores e foram cultivadas em clima semiárido. Os produtores possuem cerca de 500 plantas dessa espécie. As frutas foram colhidas no dia 13 de novembro de 2020 e processadas entre os dias 18 e 21 de novembro de 2020.

Primeiramente os frutos foram lavados e sanitizados em solução clorada a uma concentração de 200 mg/kg durante 15 minutos. Os frutos foram descascados e as sementes foram manualmente separadas do mesocarpo. A polpa ao redor das sementes foi retirada utilizando um multiprocessador na potência de 800 W (Philco, All in one). Em seguida, as sementes foram lavadas em água corrente em uma peneira para retirada completa da polpa aderida as sementes e, posteriormente, o excesso de água foi retirado em papel toalha. As sementes foram secas em estufa de circulação de ar sob temperatura de 50 °C por 24 horas. Após a secagem, as sementes foram colocadas em sacos de polipropileno identificados e armazenados em refrigerador a -2 °C até sua utilização. Antes da sua utilização as sementes de romã foram trituradas em moinho de disco (Arbel, MTU08) e peneiradas (mesh 80±20) utilizando mesa vibratória com objetivo de obter uma granulometria média de 0,16 mm de diâmetro.

2.2 Caracterização das sementes

2.2.1 Composição química

As análises para caracterização das sementes foram realizadas em triplicata e os resultados expressos em média ± desvio padrão. As determinações analíticas do teor de lipídeos, proteínas, cinzas e fibras alimentares, obtidos em base seca, foram realizadas de acordo com a metodologia oficial da AOAC (2016). A fração de carboidratos disponíveis ou totais será determinada pelo método da diferença (100 - % lipídios - % proteína - % fibra - % cinza), sendo a porcentagem dos componentes usadas em base seca no cálculo (FAO, 2003).

2.2.2 Minerais

As análises de nitrogênio, potássio, fósforo, cálcio, magnésio, enxofre, cobre, zinco, manganês e ferro foram realizadas no Laboratório de Análise Foliar do Departamento de Química da Universidade Federal de Lavras. Os níveis de minerais foram avaliados na amostra preparada por digestão orgânica. Para digestão orgânica, a amostra foi tratada com uma mistura de ácido nítrico e ácido perclórico. Para determinar a concentração de cálcio, ferro, zinco, magnésio, cobre e manganês foi utilizado um espectrofotômetro de absorção atômica (modelo).

Um fotômetro de chama foi usado para determinação de potássio (768 nm), e um espectrofotômetro de luz visível foi usado para determinação de fósforo (420 nm).

2.2.3 Obtenção dos extratos

Para obtenção do extrato utilizado nas análises de fenólicos totais e atividade antioxidante foi utilizada a metodologia descrita por Brand-Williams, Cuvelier e Berset (1995). Foram utilizados 2 g das amostras de sementes secas na granulometria média de 0,16 mm em 20 mL de álcool metílico 50% e deixada em repouso por 1 hora à temperatura ambiente sem exposição à luz. Após esse período, a mistura foi centrifugada a 3500 rpm por 15 minutos. O sobrenadante foi coletado e adicionado de 20 mL de acetona 70% ao resíduo, que foi homogeneizado e deixado em repouso por 1 hora à temperatura ambiente sem exposição à luz. Em seguida, a mistura foi centrifugada a 3500 rpm por 15 minutos. O sobrenadante foi coletado, adicionado ao primeiro sobrenadante, e o volume completado para 50 mL com água destilada.

2.2.4 Fenólicos totais

O conteúdo fenólico total foi determinado de acordo com o método adaptado de Folin-Ciocalteu (WATERHOUSE, 2002). Os extratos (0,5 mL) na diluição de 1:2 foram misturados com 2,5 mL de reagente de Folin-Ciocalteu (10%) e 2 mL de solução de carbonato de sódio (4%). A mistura foi agitada e mantida à temperatura ambiente durante 2 horas, no escuro. Antes da leitura, as amostras foram filtradas utilizando filtro Whatman nº 2. A absorbância foi medida a 750 nm. Soluções etanólicas de diferentes concentrações de ácido gálico foram utilizadas para construção da curva padrão. Os resultados foram expressos em equivalente de ácido gálico (EAG)/100 g de semente seca.

2.2.5 DPPH

A capacidade de sequestro de radicais livres do DPPH (2,2-difenil-1-picril hidrazil) foi estimada pela metodologia modificada por Brand-Williams, Cuvelier e Berset (1995). Uma alíquota de 3,9 mL da solução de •DPPH (60 µM) em metanol foi adicionada a 0,1 mL do extrato em quatro diluições diferentes (1:2, 1:3, 1:5, 1:10). Os extratos foram deixados durante 2 horas no escuro para reagir com a solução de radical DPPH (tempo obtido por testes preliminares, necessário para atingir o estado estacionário). A absorbância da mistura foi

medida a 515 nm. Uma curva de calibração foi preparada (0 – 60 μM DPPH) usando metanol como solvente. Os resultados foram expressos em EC_{50} (Concentração Eficiente) (g/g DPPH), ou seja, a massa da amostra necessária para diminuir a concentração de $\bullet\text{DPPH}$ em 50%.

2.2.6 ABTS

A determinação da atividade antioxidante pelo método ABTS $\bullet+$ foi adaptada de Mareček *et al.* (2017). O método é baseado na capacidade de diferentes componentes extraídos da amostra de eliminar o ABTS $\bullet+$ em comparação com um antioxidante padrão (Trolox) em uma curva de calibração. Uma solução de ABTS $\bullet+$ foi preparada usando a mistura de reação de 5 mL de solução aquosa de ABTS (sal de diamônio 2,2'-azino-bis (ácido 3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico)) na concentração de 7 mM e 88 μL de 140 mM $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$. A solução de trabalho final de ABTS $\bullet+$ foi obtida após 16 horas à temperatura ambiente no escuro. Essa solução foi então diluída com etanol absoluto para atingir a absorvância de $0,70 \pm 0,05$ a 734 nm. A fim de medir por espectrofotometria a atividade antioxidante das amostras, uma alíquota de 3 mL da solução radical e 30 μL de amostra foi misturada. Foram preparadas quatro diluições aquosas diferentes da amostra. A curva de calibração foi construída usando 30 μL da solução Trolox nas concentrações de 100, 250, 500, 1000, 1500 e 2000 μM diluído em etanol, cada um adicionado a 3 mL de ABTS $\bullet+$ (6 minutos no escuro). A absorvância foi lida a 734 nm após 6 minutos usando um espectrofotômetro UV-Vis. A partir das diferentes diluições dos extratos, obteve-se uma regressão traçando a absorvância no eixo y e a diluição (mg/L) no eixo x. Para o cálculo da atividade antioxidante, a absorvância equivalente a 1.000 μM do padrão trolox (obtida da equação de regressão da curva padrão) foi substituída na equação de regressão obtida para cada amostra. O valor obtido para o termo x (coeficiente angular) corresponde à diluição da amostra (mg/L) equivalente a 1.000 μM trolox. O resultado foi dado em micromoles de trolox por grama de amostra (μM Trolox/g)

2.2.7 FRAP

Para análise de atividade antioxidante pelo método FRAP, foi utilizada a metodologia adaptada descrita por de Benzie e Strain (1996). O reagente FRAP continha 2,5 mL de uma solução de TPTZ 10 mM em HCl 40 mM, 2,5 mL de FeCl_3 20 mM e 25 mL de tampão acetato 0,1 M (pH 3,6). Quatro diluições diferentes do extrato (item 2.2.3) foram preparadas. Uma alíquota de 100 μL de extrato, de cada diluição, 300 μL de água destilada e 3 mL de reagente

FRAP foram transferidos para um tubo de ensaio. As soluções obtidas foram homogeneizadas e incubadas a 37 °C/30 minutos. A absorbância foi medida a 594 nm utilizando como branco o reagente FRAP. A curva de calibração foi preparada usando soluções aquosas de sulfato ferroso ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) nas concentrações de 250, 500, 1000, 1500 a 2000 μM . Os volumes de reagente FRAP e água destilada utilizados nas diluições foram os mesmos da amostra. A partir das quatro diferentes diluições dos extratos, obteve-se uma regressão traçando a absorbância (nm) no eixo y e a diluição (mg de semente/L) no eixo x.

Para o cálculo da atividade antioxidante, a absorbância equivalente a 1.000 μM do padrão (obtida da equação de regressão da curva padrão) foi substituída na equação de regressão obtida para cada amostra. O valor obtido para o termo x (coeficiente angular) corresponde à diluição da amostra (mg/L) equivalente a 1.000 μM de sulfato ferroso. O resultado foi dado em micromoles de sulfato ferroso por grama de amostra (μM Sulfato ferroso/g)

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Têm-se na Tabela 1 o teor de umidade e atividade de água das sementes *in natura*.

Tabela 1 – Umidade e atividade de água da semente de romã *in natura*.

Umidade (%) *	39,74± 1,74
Atividade de água	0,98± 0,01

*Base seca. Média ± Desvio padrão; n=3. Fonte: Da autora (2022).

Na Tabela 2 têm-se os resultados da composição centesimal da semente de romã, em base seca.

Tabela 2 – Composição centesimal da semente de romã em base seca

Composição centesimal (g/100 g de semente)	
Lipídeos	19,29 ± 1,40
Proteína	12,50 ± 0,21
Fibra	21,49 ± 1,99
Cinzas	1,30 ± 0,19
Carboidratos	45,42 ± 2,18

Média ± Desvio padrão; n=3. Fonte: Da autora (2022).

No que se refere à composição de lipídeos, foram obtidos os valores de 19,29 g de óleo em 100 g de semente de romã seca. RojoGutiérrez *et al.* (2021) -obtiveram o valor de 16,64%

de óleo na semente de romã seca. Dadash *et al.* (2016) extraíram o conteúdo lipídico de sementes de quatro variedades de romã iranianas e obtiveram valores entre 13,50 e 16,90% de óleo. Esses dois autores obtiveram valores de lipídeos ligeiramente menores do que os obtidos pelo presente trabalho. Já Saeidi *et al.* (2018) obtiveram valores de óleo de 19,8%, próximos aos encontrados neste trabalho. Os valores obtidos corroboram com o fato de que a semente de romã possui entre 12 – 20% de óleo (HOLIC *et al.*, 2018).

Já o teor de proteínas das sementes de romã analisada foi de 12,50 g por 100 g de semente seca. Os valores encontrados são ligeiramente menores que os valores citados na literatura por Rojo-Gutiérrez *et al.* (2021), de 16,64%, e Saeidi *et al.* (2018), na faixa de 18,8%.

Os valores de fibra obtidos foram superiores aos obtidos por Dadash *et al.* (2016), que relataram valores na faixa de 8,50-11,30%, e próximos ao determinado por Saeidi *et al.* (2018) de 20% de fibra na semente.

O valor do teor de cinzas de 1,30 g por 100 g de semente seca foi inferior ao teor de cinzas encontrados por Dadashi *et al.* (2016). Os autores obtiveram valores entre 1,59 e 1,88% em variedades de romãs iranianas, que se aproximam ao obtido por Saeidi *et al.* (2018), de 1,70%.

O valor de carboidratos de 45,42% das sementes de romã deste trabalho é superior aos obtidos por Dadashi *et al.* (2016), valores entre 24,09 e 33,41%, e maior ao obtido por RojoGutiérrez *et al.* (2021), de 37,26% de carboidratos.

As diferenças entre a composição centesimal obtida e a relatada por outros autores podem ser atribuídas à variedade, ano de colheita, latitude e condição ambiental, como diferentes temperaturas, precipitação e incidência de luz (PARCERISA *et al.*, 1995).

A concentração de micronutrientes encontrados na semente de romã são mostrados na Tabela 3.

Tabela 3 – Concentração de micronutrientes encontrado na semente de romã em base seca.

N*	P*	K*	Ca*	Mg*	S*	Mn**	Zn**	B**	Cu**	Fe**
26,9	4,6	11,2	1,3	2,5	2,1	16,5	61,3	26,9	36,1	158,4

*(g/kg) ** (mg/kg). Fonte: Da autora (2022).

Observando os resultados percebe-se que os micronutrientes em maiores quantidades são nitrogênio (26,9 g/kg), potássio (11,2 g/kg) e fósforo (4,6 g/kg). Além disso é possível

perceber que a semente possui quantidades significativas de ferro e zinco, 158,4 mg/kg e 61,3 mg/kg, respectivamente.

Dadashi *et al.* (2016), aos analisarem os micronutrientes de semente de quatro variedades de romã, o conteúdo de zinco, ferro, manganês e cobre foram obtidos nas faixas de 29,17-70,96, 16,28-31,23, 7,54-12,44 e 5,49-6,90 mg/kg, respectivamente. Somente o conteúdo de zinco (61,3 mg/kg) foi próximo aos encontrados, os demais componentes encontrados no presente estudo foram superiores aos encontrados pelos autores.

Na Tabela 4 têm-se os valores do conteúdo fenólico total e atividade antioxidante da semente de romã pelo método de DPPH, ABTS e FRAP.

Conteúdo fenólico total (mg EAG/g)	5,98 ± 0,15
DPPH EC ₅₀ (g/g DPPH)	7450,06 ± 667,47
ABTS (µM Trolox/g)	13,28 ± 0,14
FRAP (µM sulfato ferroso/g)	138,80 ± 14,48

Média ± Desvio padrão; n=3. Fonte: Da autora (2022).

O conteúdo fenólico total encontrado foi de 5,98 mg EAG/g de semente. O valor obtido foi superior ao encontrado por Durante *et al.* (2017), de 3,1 mg EAG/g de semente. O resultado obtido foi inferior aos valores obtidos por Elfalleh *et al.* (2012), de 7,94 mg EAG/g de semente para o extrato aquoso, e 11,84 mg EAG/g de semente para o extrato metanoico.

Já no que se refere à atividade antioxidante, foram encontrados os valores de 7450,06 g de semente seca/g de DPPH, ou seja, quantidade efetiva de semente necessária para inibir 50% radical do DPPH inicial, em que quanto menor o valor de EC₅₀, maior a atividade antirradical da amostra.

Em relação à atividade antioxidante pelo método ABTS, obteve-se o valor de 13,28 µM Trolox/g de semente seca. Lantzouraki *et al.* (2016), em seu estudo da extração de partes da romã, obtiveram o valor de 13,34 µM Trolox/g de semente seca, de atividade antioxidante em extrato metanólico de semente de romã. Através da metodologia ABTS é possível determinar a atividade de compostos de natureza hidrofílica e lipofílica (KUSKOSKI *et al.*, 2005).

Para a atividade antioxidante pelo método FRAP o valor obtido foi de 138,80 µM sulfato ferroso/g de semente seca. A metodologia FRAP mede o poder antioxidante em reduzir o Fe³⁺ a Fe²⁺.

É importante ressaltar que diferentes métodos de análise de atividade antioxidante ocasionam diferentes respostas do poder antioxidante da amostra. O método FRAP determina o poder de redução do metal e os métodos ABTS E DPPH a captura do radical orgânico (FRANKEL; MEYER, 2000; SÁNCHEZ-MORENO, 2002; ARUOMA, 2003).

4 CONCLUSÃO

As sementes de romã possuem quantidades significativas de lipídeos, proteínas e fibras. Ao analisar a composição de minerais, as sementes apresentaram teores superiores de nitrogênio, fósforo e potássio. A semente possui quantidades de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante que com as demais análises realizadas corroboram para concluir que as sementes de romã apresentam características interessantes quanto à composição, tendo potencial para serem utilizadas no desenvolvimento de novos produtos, sendo mais uma alternativa para o aproveitamento integral do fruto.

REFERÊNCIAS

Association of the Official Analytical Chemists (AOAC) **Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists International**, 20th ed. Gaithersburg, 2016.

ARUOMA, O.I. Methodological characterizations for characterizing potential antioxidant actions of bioactive components in plant foods. **Mutation Research**, v.9-20, p.523-524, 2003.

BENZIE, I.F.F.; STRAIN, J.J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “Antioxidant Power”: The FRAP assay. **Analytical Biochemistry**, 239, p. 70–76, 1996.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT - Food Science and Technology**, 28, p. 25–30, 1995.

DADASHI, S. *et al.* Pomegranate (*Punica granatum* L.) seed: A comparative study on biochemical composition and oil physicochemical characteristics. **International journal of Advanced Biological and Biomedical Research**, 4, p. 334–342, 2016.

DURANTE, M. *et al.* Seeds of pomegranate, tomato and grapes: An underestimated source of natural bioactive molecules and antioxidants from agri-food by-products. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 63, p. 65–72, 2017.

ELFALLEH, W. *et al.* Teores fenólicos totais e atividades antioxidantes da casca, semente,

folha e flor de romã. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 6, n. 32, p. 4724-4730, 2012.

FAHAD, A. *et al.* Characterization of pomegranate (*Punica granatum* L.) seed and oils. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v, 119, 2017.

FRANKEL, E.N.; MEYER, A.S. The problem of using one- dimensional methods to evaluate multifunctional food and biological antioxidants. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.80, p.1925-1941, 2000.

CALIGIANI, A *et al.* Characterization of a potential nutraceutical ingredient: pomegranate (*Punica granatum* L.) seed oil unsaponifiable fraction. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 65, n. 3, p. 277–283, 2010.

GHORBANZADEH, R.; REZAEI, K. Optimization of an Aqueous Extraction Process for Pomegranate Seed Oil. **Journal of the American Oil Chemists Society**, 12, p. 1491–1501, 2017.

GIL, M.I *et al.* Antioxidant activity of pomegranate juice and its relationship with phenolic composition and processing. **Journal Agriculture Food Chemistry**, 48, p. 4581–4589, 2000.

HOLIC, R. *et al.* Bioactivity and biotechnological production of puniic acid. **Applied Microbiology and Biotechnology**, 102, p. 3537–3549, 2018.

KUSKOSKI, E.M.; ASUERO, A.G.; TRONCOSO, A.M.; MANCINI-FILHO, J.; FETT, R. Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.25, n.4, p.726-732, 2005.

LANTZOURAKI, D. Z *et al.* Comparison of the Antioxidant and Antiradical Activity of Pomegranate (*Punica granatum*L.) by Ultrasound-Assisted and Classical Extraction. **Analytical Letters**, 49(7), p. 969–978, 2016.

MAREČEK, V. *et al.* ABTS and DPPH methods as a tool for studying antioxidant capacity of spring barley and malt. **Journal of Cereal Science**, 73, p. 40–45, 2017.

MASTROGIOVANNI, F. *et al.* Anti-Inflammatory Effects of Pomegranate Peel Extracts on In Vitro Human Intestinal Caco-2 Cells and Ex Vivo Porcine Colonic Tissue Explants. **Nutrients**, 11, n. 3, p. 15, 2019.

MELGAREJO, P. *et al.* Pomegranate (*Punica granatum* L.) a dry pericarp fruit with fleshy

seeds. **Trends in Food Science & Technology**, 102, p. 232-236, 2020.

PARCERISA, J. *et al.* Influence of variety and geographical origin on the lipid fraction of hazelnut (*Corylus avellana* L.) from Spain: (III) oil stability, tocopherol content and some mineral contents (Mn, Fe, Cu). **Food Chemistry**, 53, p. 71-74, 1995.

PAUL, A; RADHAKRISHNAN, M. Pomegranate seed oil in food industry: Extraction, characterization, and applications. **Trends in Food Science & Technology**, 105, p.273-283, 2020.

ROJO-GUTIÉRREZ, E. *et al.* Evaluation of green extraction processes, lipid composition and antioxidant activity of pomegranate seed oil. **Food Measure**, 15, 2098–2107 (2021).

SAEIDI, Z. *et al.* Optimization of gluten-free cake formulation enriched with pomegranate seed powder and transglutaminase enzyme. **Journal of Food Science and Technology**, 55, 3110–3118 (2018)

SÁNCHEZ-MORENO, C. Review: methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. **Food Science and Technology International**, v.8, p.121-137, 2002.

SILVA, L. O. *et al.* Pomegranate (*Punica granatum* L.) seed oil enriched with conjugated linolenic acid (cLnA), phenolic compounds and tocopherols: improved extraction of a specialty oil by supercritical CO₂. **Journal Supercritic Fluids**, 147, p. 126-137, 2019.

TOPALOVIC, A. *et al.* Detailed chemical composition of juice from autochthonous pomegranate genotypes (*Punica granatum* L.) grown in different locations in Montenegro. **Food Chemistry**, 330, p. 10, 2020.

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

ARTIGO 2 - TERMODINÂMICA DA EXTRAÇÃO DE SÓLIDOS SOLÚVEIS DE SEMENTE DE ROMÃ (*Punica granatum L.*)

RESUMO

O benefício da romã (*Punica granatum L.*) não se limita à parte comestível dos frutos, uma vez que nas sementes, consideradas como resíduo da extração do suco, podem ser encontradas quantidades significativas de compostos nutricionais e bioativos. A extração por solvente é amplamente utilizada para extrair óleos das sementes, sendo o hexano o solvente mais utilizado nesse processo. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de solventes alternativos verdes na eficiência de extração óleo/sólidos solúveis, índice de retenção de sólidos solúveis no refinado e parâmetros termodinâmicos do processo, utilizando os solventes etanol, isopropanol, acetona e acetato de etila. A extração foi realizada em um shaker usando três temperaturas diferentes (35 °C, 45 °C e 55 °C) na proporção semente:solvente de 1:5 (m/m). Para os solventes analisados, o rendimento de sólidos solúveis por extração soxhlet foi maior para o etanol. No que se referem às análises termodinâmicas da extração o parâmetro ΔH foi positivo para o etanol, acetona e acetato de etila e negativo para o isopropanol; ΔS foram positivas para o etanol, acetona e acetato de etila e negativo para o isopropanol, e ΔG foram negativas para todos os processos indicando que os processos são espontâneos, endotérmicos utilizando etanol, acetona e acetato de etila, sendo o processo exotérmico quando utilizado o isopropanol.

Palavras-chave: Semente de romã. Parâmetros termodinâmicos. Extração sólido-líquido. Solventes verdes. Aproveitamento de resíduos.

ABSTRACT

The benefit of pomegranate (*Punica granatum* L.) is not limited to the edible part of the fruit, since significant amounts of nutritional and bioactive compounds can be found in the seeds, considered a residue from juice extraction. Solvent extraction is widely used to extract oils from seeds, with hexane being the most used solvent in this process. The objective of this work was to evaluate the effect of alternative green solvents on the efficiency of oil/soluble solids extraction, retention index of soluble solids in raffinate and thermodynamic parameters of the process, using the solvents ethanol, isopropanol, acetone and ethyl acetate. The extraction was performed in a shaker using three different temperatures (35 °C, 45 °C and 55 °C) in a seed:solvent ratio of 1:5 (m/m). For the analyzed solvents, the yield of soluble solids by soxhlet extraction was higher for ethanol. Regarding the thermodynamic analysis of the extraction, the ΔH parameter was positive for ethanol, acetone and ethyl acetate and negative for isopropanol; ΔS were positive for ethanol, acetone and ethyl acetate and negative for isopropanol, and ΔG were negative for all processes indicating that the processes are spontaneous, endothermic using ethanol, acetone and ethyl acetate, the process being exothermic when used isopropanol.

Keywords: Pomegranate seed. Thermodynamic parameters. Solid-liquid extraction. Green solvents. Exploitation of waste.

1 INTRODUÇÃO

A romã (*Punica granatum* L.) é um fruto apreciado devido às suas propriedades físico-químicas e organolépticas (KUMAR; NEERAJ, 2020). Os frutos da romã, além do seu consumo *in natura*, são utilizados pelas indústrias farmacêutica e de processamento de alimentos (RUSSO *et al.*, 2020). A parte comestível da fruta inteira contém 75–85% de sumo e 15–25% de semente (ABBASI *et al.*, 2008) A semente de romã é um resíduo alimentar muito valioso obtido principalmente da indústria de suco de romã. A semente de romã tem 12-25% de lipídeos, que é rico em compostos bioativos (PERREIRA DE MELO *et al.*, 2014).

Vários métodos têm sido utilizados para a extração de óleo de semente de romã como o uso de hexano (EIKANI *et al.*, 2012), extração supercrítica de CO₂, (NATOLINO; DA PORTO, 2019), prensagem a frio (KHODDAMI *et al.*, 2014), extração com água assistida por ultrassom (RAJHA *et al.*, 2020) e extração utilizando n-hexano assistida por micro-ondas (ÇAVDAR *et al.*, 2017). Industrialmente a prensagem é um dos métodos de extração mais empregados na indústria de óleos e é utilizada para matérias-primas que contêm acima de 20 e 30% de óleo. No entanto, para materiais com baixo teor de óleo, a prensagem pode não ser viável do ponto de vista econômico. Além disso, esse tipo de extração pode gerar um subproduto com que contém quantidades relevantes de óleo e altos níveis de compostos bioativos hidrofílicos, que ficam retidos nessa biomassa. Portanto, esse resíduo, que na maioria das vezes é descartado, pode ter um potencial econômico associado à indústria (OLIVEIRA *et al.*, 2018).

Outra técnica de extração amplamente empregada industrialmente é a extração de óleo de oleaginosas por solvente. O hexano é frequentemente usado para a extração de óleo vegetal pela indústria, principalmente devido à sua capacidade de dissolução eficiente e facilidade de recuperação e reutilização (CHANIOT; TZIA, 2018).

Diferentes solventes têm sido estudados para a extração de óleo de materiais vegetais, e o rendimento da extração e seletividade é influenciado pela natureza do solvente e o método de extração. De acordo com Akowuah *et al.* (2005), dependendo do solvente utilizado na extração de compostos desejáveis, extratos obtidos do mesmo material podem variar muito no que diz respeito à sua concentração e composição. Além disso, a escolha do solvente envolve questões de meio ambiente, saúde e de segurança que levaram à busca de solventes alternativos ao hexano (LUSAS *et al.*, 1994; WAKELYN; WAN, 2005; JÉRÔME; LUQUE, 2017).

Diferentes tipos de solventes têm sido sugeridos como substitutos potenciais para o hexano para superar suas deficiências, como etanol (HRON *et al.*, 1982; RITTNER, 1992), isopropanol (HU *et al.*, 1996) e acetona (WAN; WAKELYN, 1997), e acetato de etila

(FREEMAN *et al.*, 1943; MADAUS *et al.*, 1983). A importância de encontrar uma grande variedade de solventes com diferentes funcionalidades é um ponto importante, pois as aplicações de solventes podem variar significativamente (JESSOP, 2011; PENA-PEREIRA; TOBISZEWSKI, 2017). Etanol (HRON *et al.*, 1982), bem como acetona (WEIZMANN; HAMLYN, 1920; AUSTIN, 1998; WINTGENS, 2008) e acetato de etila (FREEMAN *et al.*, 1943) podem ser obtidos a partir de fontes biorrenováveis e considerados solventes de base biológica.

A avaliação termodinâmica do processo de extração possibilita identificar solventes e temperaturas nas quais a extração é favorecida. Para realizar um estudo termodinâmico, os parâmetros mais utilizados são a variação da energia livre de Gibbs (ΔG), variação da entalpia (ΔH) e variação da entropia (ΔS) no processo de extração, cujos parâmetros indicam a espontaneidade, o calor e a reversibilidade do processo de extração, respectivamente (KIM; KIM, 2016).

Variação da energia livre de Gibbs indica a espontaneidade da extração. Um valor negativo de ΔG indica uma extração espontânea, e o valor positivo indica extração não espontânea. ΔH é uma indicação se o processo de extração é exotérmico ($\Delta H < 0$) ou endotérmico ($\Delta H > 0$). A ΔS é uma indicação da desordem do sistema (KIM; KIM, 2016).

Este trabalho teve como objetivo avaliar a extração de sólidos solúveis da semente de romã usando diferentes solventes (etanol, isopropanol, acetona e acetato de etila) e o efeito da temperatura sobre o rendimento e parâmetros termodinâmicos do processo.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

As romãs foram adquiridas em novembro de (ano), em uma fazenda de produtores no estado de Minas Gerais, Brasil. Os frutos foram lavados, sanitizados e descascados. As sementes foram manualmente separadas do mesocarpo, retirado o sumo ao redor das sementes utilizando um multiprocessador, lavadas em água corrente com auxílio de uma peneira para retirada completa da polpa aderida às sementes e posteriormente secas em papel toalha. As sementes foram secas em estufa de circulação de ar sob temperatura de 50 °C por 24 horas. Após a secagem, as sementes foram identificadas e armazenadas em refrigerador a -2 °C até sua utilização.

Para a sua utilização, as sementes de romã foram trituradas em moinho de café e peneiradas utilizando mesa vibratória obtendo uma granulometria média de 0,21 mm de

diâmetro (60 – 80 mesh). Antes de sua utilização as sementes processadas foram submetidas a uma análise de umidade residual e atividade de água.

Todas as análises foram realizadas em triplicata e os resultados das são dados em base seca.

2.1 Processo de extração

As extrações foram realizadas nas temperaturas de 35, 45 e 55 °C em erlenmeyer com tampa de rosca de 125 mL, e os frascos foram vedados com fita de teflon para evitar a perda do solvente (FIGURA 1). O tempo de extração foi de 4 horas, definido por testes preliminares, tempo necessário para o sistema atingir o equilíbrio. Foram utilizados os solventes etanol, isopropanol, acetona e acetato de etila na proporção semente-solvente de 1:5 (m/m). As extrações foram realizadas em incubadora (Marconi MA830/A) à temperatura constante sob agitação de 180 rpm. Todas as massas foram pesadas em uma balança analítica. Os ensaios foram realizados em três repetições.

Figura 1 – Sistema utilizado na extração, ilustrando sistema de seringa usado para a retirada da amostra da fase extrato.



Fonte: Da autora (2021).

Após o tempo de extração, o sistema foi pesado a fim de avaliar perdas de solvente durante a extração. Em seguida, uma amostra da fase extrato (~3 mL) foi retirada utilizando

uma seringa conectada ao septo (tomando-se cuidado para não modificar a temperatura do sistema). A concentração do solvente na fase extrato foi determinada por meio de evaporação do solvente da amostra, coletada em uma placa de Petri, até massa constante em estufa de circulação de ar na temperatura utilizada na extração.

Da amostra da fase extrato pode-se determinar a fração mássica do solvente no extrato ($w_{2,FE}$) e a concentração de sólidos solúveis no extrato ($w_{1,FE}$). A concentração de inerte presente na fase extrato ($w_{3,FE}$) foi considerada igual a zero, uma vez que a fase extrato era límpida. Para separação da fase extrato e da fase refinado foi realizada uma centrifugação (3500 rpm por 15 min) e uma amostra da fase refinado foi seca em uma placa de Petri nas mesmas condições da fase extrato, determinando-se a fração mássica do solvente na fase refinado ($w_{2,FR}$).

Com as grandezas determinadas experimentalmente (w_{1FE} ; w_{2FE} ; w_{2FR}) e as variáveis conhecidas; a massa da mistura e as frações mássicas dos componentes na mistura; $M_{sistema}$, $w_{1sistema}$, $w_{2sistema}$, $w_{3sistema}$, e considerando a fase extrato isenta de fibras ($w_{3FE}=0$), determinaram-se as demais variáveis (M_{FE} , M_{FR} e w_{1FR} e w_{3FR}) através de balanço de massa.

O balanço de massa global (equação 1):

$$M_{mistura} = M_{semente} + M_{solvente} = M_{FE} + M_{FR} \quad (1)$$

O balanço de massa para o componente i no sistema é dado por:

$$w_{i\ mistura} M_{mistura} = w_{iFE} M_{FE} + w_{iFR} M_{FR} \quad (2)$$

Em que $M_{mistura}$, M_{FR} , M_{FE} são massa da mistura (amostra + solventes), massa da fase refinado e massa da fase extrato, respectivamente. $w_{i,mistura}$, $w_{i,FR}$, $w_{i,FE}$ são fração mássica do componente i na mistura, na fase refinado e na fase extrato, respectivamente. Observa-se que i representa os componentes de interesse que serão analisados; sólidos solúveis (1), solvente (2) e o inerte (3).

Foram analisados o rendimento da extração em porcentagem (equação 3) e o índice de retenção (IR) que corresponde à massa de solução aderida por massa de sólidos insolúveis ou inertes (equação 4).

$$\Gamma_1 (\%) = 100 * \left(\frac{w_{1FE} M_{FE}}{M_{amostra} w_{1amostra}} \right) \quad (3)$$

$$IR = \frac{w_{1,FR} M_{FR} + w_{2,FR} M_{FR}}{w_{3,FR} M_{FR}} \quad (4)$$

Utilizou-se a extração da semente com os diferentes solventes em sua temperatura de ebulição, pelo método de soxhlet (AOAC, 2016) a fim de obter o parâmetro $w_{1amostra}$, a fração mássica inicial de sólidos solúveis da amostra. Os dados da determinação dos sólidos solúveis para cada solvente foram utilizados no cálculo do rendimento de extração (equação 3).

A extração utilizando o solvente hexano foi realizada somente pelo método soxhlet, a fim de quantificar o óleo presente nas sementes.

2.3 Análise termodinâmica do processo de extração com diferentes solventes

Os parâmetros termodinâmicos dos processos de extrações são necessários para avaliar se os processos são espontâneos ou não. Por meio deles é possível determinar em que condições de temperatura, tipo de solvente ou faixa de misturas de solventes e outros parâmetros favorecem o processo de extração. Nos cálculos dos parâmetros termodinâmicos, os sólidos solúveis presentes na semente dos frutos foram extraídos até que o sistema atingisse o equilíbrio. Para balanço de massa, na análise termodinâmica, foi considerada a fração mássica de sólidos solúveis na semente e o valor de sólidos solúveis obtido pelo método soxhlet para o solvente etanol.

O coeficiente de distribuição dos compostos solúveis (K_e) será calculado pela equação 5.

$$K_e = \frac{w_{1FE}M_{FE}}{w_{1FR}M_{FR}} \quad (5)$$

Os parâmetros termodinâmicos (ΔH , ΔS e ΔG) para o processo de extração foram calculados utilizando a equação de van't Hoff (equações 6 e 7).

$$\ln K_e = -\frac{\Delta H}{RT} + \frac{\Delta S}{R} \quad (6)$$

$$\Delta G = \Delta H - T \cdot \Delta S \quad (7)$$

Onde, ΔH = variação de entalpia no processo de extração (kJ/kmol);

R = constante universal dos gases (8,3145 kJ/(kmol.K));

ΔS = variação de entropia no processo de extração (kJ/kmol);

ΔG = energia livre de Gibbs do processo de extração (kJ/kmol);

T = temperatura (K)

K_e : coeficiente de distribuição

Os valores de K_e foram calculados empregando a equação 5, e os valores de ΔH e ΔS foram obtidos por regressão linear dos dados experimentais empregando a equação 6, e a ΔG utilizando a equação 7.

2.4 Análise estatística

Os resultados de rendimento da extração utilizando o método soxhlet com os diferentes solventes, o rendimento da extração e o índice de retenção nas diferentes temperaturas foram analisados pelo teste de média, Tukey, a um nível de 5% de significância utilizando o *software* Statistica 10.0 (STATSOFT, 2010).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O teor de umidade e atividade de água das sementes previamente moídas e secas utilizadas nos processos de extração estão no Quadro 1.

Quadro 1 – Umidade residual e atividade de água da farinha de semente de romã.

Umidade residual (%) *	5,80 ± 0,04
Atividade de água	0,34 ± 0,01

Média ± desvio padrão (n=3). *Base seca. Fonte: Da autora (2021).

A porcentagem de sólidos solúveis extraídos pelo método soxhlet para os solventes hexano, etanol, isopropanol, acetona e acetato de etila é apresentada na Tabela 1.

Tabela 1 – Sólidos solúveis (g/100 g de semente) para diferentes solventes.

Solvente	% Sólidos solúveis*
Hexano	23,20 ± 2,49 b
Etanol	28,66 ± 0,36 a
Isopropanol	25,90 ± 0,96 ab
Acetona	24,45 ± 1,44 b
Ac. Etila	23,33 ± 0,31 b

Média ± desvio padrão (n=3). Médias seguidas por diferentes letras minúsculas indicam diferença significativa entre as amostras ($\alpha=5\%$). *Base seca. Fonte: Da autora (2022).

As porcentagens de sólidos solúveis extraídos pelos solventes hexano, isopropanol, acetona e acetato de etila não se diferenciaram estatisticamente entre si a um nível de significância de 5%. Mas ao analisar os dados da tabela, o etanol se diferenciou significativamente do hexano, acetato de etila e acetona, e foi o solvente que mais extraiu compostos da semente de romã, e o hexano o solvente que extraiu menores quantidades de sólidos solúveis, correspondendo à fração oleosa da semente. Tal fato pode estar relacionado à capacidade do etanol de extrair outros compostos, tais como açúcares, fosfolipídios, pigmentos e ceras, quando a extração de óleos vegetais é feita com etanol, quando comparado com o obtido com hexano (BECKEL *et al.*, 1948; FONSECA; REGITANO-D'ARCE, 1993; JOHNSON; LUSAS, 1983).

Seth *et al.* (2008), na extração soxhlet de óleo de flocos de soja, obtiveram uma recuperação de 1,5 a 4,7% superior utilizando isopropanol quando comparado com n-hexano. É importante ressaltar que a umidade residual pode afetar o conteúdo de sólidos solúveis extraídos, uma vez que o hexano apresenta alto rendimento na extração de óleos devido a sua propriedade apolar que facilita penetração mais fácil na matriz oleosa durante a extração. No entanto, a presença de água na matriz, ou seja, ligação simples OH, pode interferir no processo de extração (SULAIMAN *et al.*, 2013, NWABUEZE; OKOCHA, 2008).

Os rendimentos obtidos para cada solvente nas diferentes temperaturas são exibidos na Tabela 2.

Tabela 2 – Rendimento para o processo de extração de sólidos solúveis de sementes de romã em base seca.

Solvente	Γ (%)		
	Temperatura (°C)		
	35°C	45°C	55°C
Etanol	59,12 ± 1,49 cB	70,01 ± 0,93 dB	76,28 ± 2,07 bA
Isopropanol	78,68 ± 2,43 bA	75,29 ± 0,45 cA	58,50 ± 5,05 cB
Acetona	88,56 ± 1,19 aB	87,54 ± 0,88 aB	93,83 ± 3,17 aA
Acetato de Etila	80,12 ± 1,85 bA	79,46 ± 1,61 bA	80,74 ± 0,93 bA

Média ± desvio padrão (n=3). Médias na mesma linha seguidas por diferentes letras maiúsculas são estatisticamente diferentes. As médias na mesma coluna seguidas por diferentes letras minúsculas são estatisticamente diferentes. Fonte: Da autora (2022).

Os dados de rendimento da tabela acima foram obtidos considerando como a fração mássica sólidos solúveis máxima por cada solvente pelo método soxhlet (TABELA 1). À temperatura de 35 °C, o solvente com maior rendimento de sólidos solúveis foi a acetona (88,56%), que se diferenciou significativamente ($\alpha=5\%$) dos demais solventes, sendo o etanol o solvente que obteve menor rendimento (59,12%) nessa mesma temperatura.

Para a temperatura de 45 °C, todos os solventes obtiveram rendimentos significativamente diferentes, com efeito similar a 35 °C, sendo a acetona o solvente com maior rendimento, seguido por acetato de etila, isopropanol e etanol, sendo este o que teve o menor rendimento. No que se refere ao rendimento obtido à temperatura de 55 °C, a acetona, assim como para as demais temperaturas, foi o solvente que apresentou o maior rendimento (93,83%) e apresentou rendimento superior quando comparado às outras duas temperaturas. O menor rendimento foi obtido pelo etanol, à temperatura de 35 e 45 °C, e à temperatura de 55 °C o solvente que apresentou menor rendimento foi o isopropanol. Saxena, Sharma e Sambhi (2011), na extração de óleo de sementes de algodão utilizando etanol como solvente a 35 °C e uma razão soluto:solvente de 1:5, obtiveram rendimento de extração de 57,7%, valores próximos aos obtido pelo etanol no presente estudo sob as mesmas condições.

O rendimento superior da acetona nas três temperaturas pode estar relacionado ao fato de que o ponto de ebulição da acetona (56 °C) é próximo às temperaturas empregadas nas extrações. O maior rendimento da acetona também foi observado por Oliveira *et al.* (2013), que ao estudarem a extração por agitação de óleo de semente de maracujá a 40 °C utilizando acetona, etanol e isopropanol, observaram que a acetona foi o solvente que apresentou maior rendimento de óleo (g de óleo/grama de semente).

Os rendimentos das extrações com acetato de etila nas três temperaturas não se mostraram significativamente diferentes ($\alpha=5$, ou seja, a temperatura não influenciou no rendimento da extração). Já para o etanol, os rendimentos obtidos utilizando o mesmo solvente nas três temperaturas são estatisticamente diferentes a um nível de significância de 5%. O etanol apresentou aumento no rendimento com aumento da temperatura e rendimento máximo de 76,28% na temperatura de 55 °C. Tal fato também foi observado nos trabalhos de Rodrigues *et al.* (2010) na extração de óleo de farelo de soja na proporção de 1:3 (sólido:solvente) em massa, usando etanol como solvente. Os autores relataram que o rendimento da extração aumentou com o aumento da temperatura usando etanol, obtendo-se rendimentos maiores que 80% na faixa de temperatura de 60-90 °C. De acordo com Amarante *et al.* (2014), com o aumento da temperatura a solubilidade do óleo em etanol aumenta e a viscosidade da solução diminui,

facilitando a transferência de massa no processo de extração observado na extração do óleo de torta de mamona.

O isopropanol apresentou um comportamento incomum, pois para este solvente a elevação na temperatura provocou uma diminuição no rendimento de extração (78,68% - 58,50%). Oliveira *et al.* (2018) relataram um aumento de 41,9% no rendimento ao aumentar a temperatura de 35 para 55 °C na extração de sólidos solúveis de grãos de café verde. A solubilidade de óleo e sólidos solúveis no solvente pode estar relacionada com a temperatura, composição da matéria-prima, e também pela metodologia do estudo (HRON; KOLTUN; GRACI, 1984)

À temperatura de 55 °C o solvente que apresentou maior quantidade de sólidos solúveis extraídos foi a acetona, que extraiu 93,83% de sólidos solúveis. A diferença no rendimento da extração utilizando diferentes solventes está no fato de os átomos das moléculas dos diferentes solventes possuírem eletronegatividades diferentes. Os átomos com eletronegatividades mais baixas ganham cargas parciais positivas, e os átomos com eletronegatividades mais altas ganham cargas parciais negativas. Como resultado, ocorre a polarização das ligações químicas, o que aumenta o momento dipolar da molécula e altera as interações intermoleculares. Como a acetona tem um momento de dipolo alto, ela conterá átomos de carbono carregados positivamente, mas a molécula é menos polar que o etanol ou o isopropanol (OLIVEIRA *et al.*, 2013). Um rendimento superior da acetona pode ser atribuído ao fato de que a diferença de polaridade da acetona proporcionou maior solubilização dos compostos oleosos do que os demais solventes.

Tabela 3 – Índice de retenção (kg de solução aderida/kg de inerte) para o processo de extração de sólidos solúveis de sementes de romã em base seca.

IR			
Solvente	Temperatura (°C)		
	35	45	55
Etanol	1,53 ±0,06 aA	1,49 ±0,06 aA	1,48 ±0,01 bA
Isopropanol	1,35 ±0,07 bC	1,49 ±0,02 aB	3,22±0,01 aA
Acetona	1,31±0,08 bA	1,06 ±0,04 bB	0,65±0,09 dC
Acetato de etila	1,23±0,04 bA	1,14 ±0,07 bA	1,20±0,03 cA

Média± desvio padrão (n=3). Médias na mesma linha seguidas por diferentes letras maiúsculas são estatisticamente diferentes. As médias na mesma coluna seguidas por diferentes letras minúsculas são estatisticamente diferentes. Fonte: Da autora (2022).

No que se refere ao índice de retenção, ou seja, à quantidade de solução (massa de sólidos solúveis e de solvente) aderida na fase refinado, o maior índice de retenção foi observado com o emprego do isopropanol a 55 °C (3,22 kg de solução aderida/kg de inerte), sendo significativamente diferente dos demais solventes e nas diferentes temperaturas (35, 45 e 55 °C) analisadas para esse mesmo solvente. O menor índice de retenção foi obtido quando empregada acetona a 55 °C (0,65 kg de solução aderida/kg de inerte).

A utilização do isopropanol nas diferentes temperaturas provou um aumento do índice de retenção com o aumento da temperatura. Para 55 °C, o solvente apresentou maior índice de retenção e impactando no menor rendimento. O índice de retenção é um parâmetro que também influencia no rendimento da extração, uma vez que o solvente/solução que permanece aderido à fase refinado (inerte) diminui significativamente o rendimento (ARAÚJO *et al.*, 2018).

Araújo *et al.* (2018), ao estudarem a extração de óleo de murici e pequi utilizando hexano, etanol, isopropanol e acetona, relataram que ao utilizar o isopropanol como solvente houve uma diminuição no índice de retenção (1,14 para 0,93 kg de solução aderida/kg de inerte) quando a temperatura foi aumentada de 35 para 45 °C. Os autores também relataram um comportamento atípico do isopropanol, observando que houve um aumento do índice de retenção com o aumento da temperatura de 45 para 55 °C (1,01 kg de solução aderida/kg de inerte).

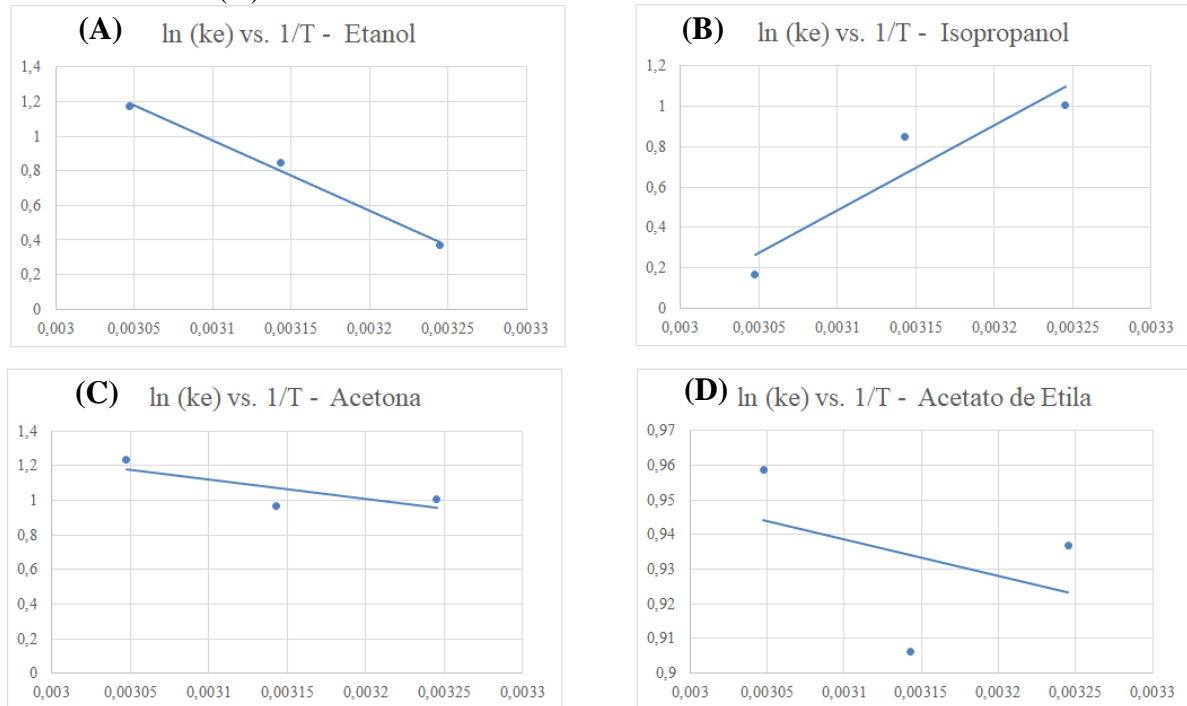
À temperatura de 35 °C, o maior índice de retenção (1,53 kg de solução aderida/kg de inerte) foi obtido quando utilizado o etanol, sendo este significativamente diferente dos demais solventes. À temperatura de 45 °C, o etanol e o isopropanol foram os solventes que quando utilizados obtiveram os maiores índices de retenção (1,49 kg de solução aderida/kg de inerte), diferenciando-se significativamente dos demais solventes. A massa de solução aderida ao material inerte depende da quantidade de óleo na micela, do tipo de solvente e da interação do solvente com a matriz. Extrações com solventes alcoólicos, como etanol e isopropanol, em geral, tem índices de retenção maiores que solventes apolares (ABRAÃO *et al.*, 1988).

Em um processo real, na extração é impossível separar completamente a fase líquida da fração sólida. A capacidade de retenção de solução da matriz insolúvel depende da porosidade da matriz e da densidade, viscosidade e tensão superficial da solução, bem como do método de separação (BERK, 2009).

Para a análise dos parâmetros termodinâmicos (ΔH , ΔS e ΔG) da extração de sólidos solúveis foram obtidos a partir dos valores de K_e em diferentes temperaturas. Os valores de ΔH e ΔS foram obtidos dos coeficientes lineares e angulares, respectivamente através da regressão linear dos dados experimentais utilizando a Eq. 6 (FIGURA 2) e valores de ΔG foram obtidos

usando a Eq. 7. Os dados de fração mássica da fase extrato e refinado para os tratamentos são apresentados no Apêndice A.

Figura 2 – Gráfico $\ln(k_e)$ versus $1/T$ para os solventes etanol (A), isopropanol (B), acetona (C) e acetato de etila (D).



Fonte: Da autora (2022).

Os parâmetros termodinâmicos, coeficiente de partição (K_e) e a variação da energia Gibbs (ΔG) para os solventes etanol, isopropanol, acetona e acetado de etila nas diferentes temperaturas (35, 45 e 55 °C), a variação da entalpia (ΔH) e a variação da entropia (ΔS) do processo de extração utilizando os diferentes solventes são apresentados na Tabela 4.

Tabela 4 – Parâmetros termodinâmicos do processo de extração de sólidos solúveis de romã utilizando diferentes solventes.

Solvente	Temperatura (°C)	K_e	ΔH (J mol⁻¹ K⁻¹)	ΔS (J.mol⁻¹)	ΔG (J.mol⁻¹)
Etanol	35	1,46			-998,97
	45	2,34	33776,45	112,85	-2127,50
	55	3,22			-3256,02
Isopropanol	35	2,74			-2811,39
	45	2,34	-35013,08	-104,50	-1766,39
	55	1,18			-721,39
Acetona	35	2,74			-2455,97
	45	2,63	9259,22	38,018	-2836,15
	55	3,43			-3216,32
Acetato de Etila	35	6,59			-4755,03
	45	6,19	890,57	10,57	-4985,31
	55	6,98			-5215,60

Fonte: Da autora (2022).

As ΔH e ΔS foram positivas para extrações realizadas com etanol, acetona e acetato de etila, indicando a natureza endotérmica dos processos e o aumento da desordem no processo, respectivamente. Já para o isopropanol, a ΔH foi negativa, indicando natureza exotérmica do processo de extração. A maior variação de entalpia (em módulo) no processo de extração ocorreu com o uso do isopropanol seguido do etanol e a maior variação de entropia ocorreu com o etanol. É possível afirmar que o processo é controlado pelo ΔS , sendo favorecido pelo aumento da temperatura, cuja tendência influenciou significativamente na recuperação de sólidos solúveis, para os solventes estudados, com exceção do isopropanol.

Para todos os solventes, exceto para o isopropanol, o aumento da temperatura tornou o processo mais espontâneo, observado pela diminuição dos valores de ΔG .

Analisando o comportamento atípico do isopropanol, houve uma diminuição no coeficiente de distribuição (K_e) com o aumento da temperatura. O coeficiente é dado pela razão entre a massa de sólidos solúveis na fase extrato e a massa de sólidos solúveis na fase refinado (equação 5). A diminuição K_e se deu pelo aumento da massa da concentração de sólidos solúveis na fase refinado, fato também observado através da Tabela 3, em que houve um aumento do índice de retenção com o aumento da temperatura.

Os menores valores de ΔG foram obtidos na extração com acetato de etila, acetona e etanol, respectivamente, o que pode explicar os melhores rendimentos obtidos com esses solventes. A relação entre a diminuição da energia livre de Gibbs e o aumento do rendimento para os solventes etanol e acetona foi observado por Oliveira *et al.* (2019) na extração de sólidos solúveis na torta e grãos de café verde.

Ao analisar em conjunto os parâmetros analisados (rendimento de extração, índice de retenção e parâmetros termodinâmicos), foi possível observar que o acetato de etila foi o solvente no qual o processo de extração de sólidos solúveis da semente de romã foi mais espontâneo, mostrando potencial da aplicação de solventes alternativos, que possibilitem a obtenção de rendimentos satisfatórios, que podem ser melhorados com estudos posteriores, utilizando uma mistura destes solventes na extração de semente de romã. O valor negativo de ΔG para a extração de sólidos solúveis de semente de romã mostrou que o processo foi viável e espontâneo para etanol, acetona e acetato de etila, e que a extração aumentou com o aumento da temperatura à medida que ΔG se tornou mais negativo. Mais estudos utilizando o isopropanol como solvente devem ser realizados com a finalidade de buscar entender melhor o comportamento atípico desse solvente. O valor dos parâmetros para o etanol, acetona e acetato de etila termodinâmicos indicou que a extração foi endotérmica e o processo irreversível.

4 CONCLUSÃO

As extrações pelo método soxhlet utilizando o etanol apresentou maior extração de sólidos solúveis da semente de romã.

A análise de rendimento, índice de retenção e parâmetros termodinâmicos mostrou que, para os solventes analisados, o isopropanol, diferentemente dos demais solventes (etanol, acetona e acetato de etila), apresentou um comportamento inabitual, em que a elevação da temperatura na faixa de estudo (35 a 55 °C) desfavorece o processo de extração.

O solvente que apresentou o maior rendimento de extração de sólido foi a acetona (93,83% a 55 °C), e o solvente que apresentou maior índice de retenção foi o isopropanol (3,22 kg de solução aderida/kg de inerte a 55 °C).

Na análise dos parâmetros termodinâmicos, ΔH , ΔS e ΔG , foi relatado que o aumento da temperatura utilizando os solventes etanol, acetona e acetato de etila no processo de extração de semente de romã favoreceu a extração, ocorrendo uma diminuição do valor da energia de Gibbs com o aumento da temperatura.

REFERÊNCIAS

- ABBASI, H; REZAEI, K; RASHIDI L. Extraction of essential oils form the seeds of pomegranate using organic solvents and supercritical CO₂. **Journal American Oil Chemistry Society**, 2008.
- AKOWUAH, G. A. *et al.* Radical scavenging activity of methanol leaf extracts of *Orthosiphon stamineus*. **Pharmaceutical Biology**, 42, p. 629-635, 2005.
- AMARANTE, R. C. A. *et al.* Oil extraction from castor cake using ethanol: Kinetics and thermodynamics. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, 53, p. 6824– 6829, 2014.
- Association of the Official Analytical Chemists (AOAC) **Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists International**, 20th ed. Gaithersburg, 2016.
- ARAÚJO, A. C. M. A., *et al.* Solvent effect on the extraction of soluble solids from murici and pequi seeds. **Journal of Food Process Engineering**, 41, 2018.
- AUSTIN, G. T. Shreve's **Chemical Process Industries**. McGraw-Hill, New York (1998).
- BECKEL, A. C. *et al.* Solvent effects on the products of soybean oil extraction. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, 25, p. 7– 9, 1948.
- BERK, Z. **Food process engineering and technology, chapter 11 "Extraction"**. Food Science and Technology International Series, Elsevier, p. 259-276, 2009
- CHANIOTI, S.; TZIA, C. Processing Parameters on the Extraction of Olive Pomace Oil and Its Bioactive Compounds: A Kinetic and Thermodynamic Study. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, 95, p. 371–382, 2018.
- EIKANI, M. H.; GOLMOHAMMAD, F.; HOMAMI, S. S. Extraction of pomegranate (*Punica granatum* L.) seed oil using superheated hexane. **Food and Bioproducts Processing**, v. 90, p. 32-36, Jan 2012.
- FONSECA, H.; REGITANO-D'ARCE, M. A. B. Aflatoxin removal of peanut meals with aqueous ethanol. **Scientia Agricola**, 50, p. 154– 156, 1993.
- FREEMAN, A. F. *et al.* Solvents in extraction of tung oil. **Industrial & Engineering Chemistry**, 35, 1156-1159 (1943).

HRON, R. J.; KOLTUN, S. P.; GRACI, A. V. Biorenewable solvents for vegetable oil extraction. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, 59 (9), p. 674 – 684, 1982.

HRON, R. J.; KOLTUN, S. P. An aqueous ethanol extraction process for cottonseed oil. **Journal of the American Oil Chemists Society**, 61, p. 1457-1460 , 1984.

HU, W. *et al.* Comparison of isopropanol and hexane for extraction of vitamin E and oryzanols from stabilized rice bran. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, 73, p. 1653– 1656, 1996.

JAVED, F. *et al.* Recovery of rice bran oil using solid-liquid extraction technique. **Journal of Food Process Engineering**, 38, p. 357– 362, 2015.

JÉRÔME, F., LUQUE, R. **Bio-based solvents**. Wiley, Hoboken, 2017.

JESSOP, P. G. Searching for green solvents. **Green Chemistry**, 13, p. 1391, 2011.

JOHNSON, L. A.; LUSAS, E. W. Comparison of alternative solvents for oils extraction. **Journal of the American Oil Chemists Society**, v. 60, n. 2, p. 229-242, 1983.

ÇAVDAR, K. H. *et al.* Optimization of microwave-assisted extraction of pomegranate (*Punica granatum L.*) seed oil and evaluation of its physicochemical and bioactive properties. **Food Technology and Biotechnology**, 55, 2017.

KHODDAMI, A. *et al.* Physico-chemical properties and fatty acid profile of seed oils from pomegranate (*Punica granatum L.*) extracted by cold pressing. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 116, n. 5, p. 553-562, 2014.

KIM, T. W.; KIM, J.-H. Kinetics and thermodynamics of paclitaxel extraction from plant cell culture. **Korean Journal of Chemical Engineering**, v. 33, n.11, p. 3175–3183, 2016.

KUMAR, N; NEERAJ. Effect of ultrasonic assisted extraction on the properties of freeze-dried pomegranate arils. **Curr. Nut. Food Sci**, 16, p. 83–89, 2020.

LUSAS, E. W *et al.* Separación de grasas y aceites por métodos no tradicionales. **Aceites y Grasas**, 14, p. 87-99, 1994.

MADAUS, R. *et al.* **Method for the extraction of silymarin from plants**, 1983.

NATOLINO, A.; DA PORTO, C. Supercritical carbon dioxide extraction of pomegranate (*Punica granatum* L.) seed oil: Kinetic modelling and solubility evaluation. **The Journal of Supercritical Fluids**, 151, p. 30–39, 2019.

OLIVEIRA, E. R. *et al.* Effect of ecofriendly bio-based solvents on oil extraction from green coffee bean and its industrial press cake **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, 36, p. 1739 - 1753, 2018.

OLIVEIRA, R. C. *et al.* The extraction of passion fruit oil with green solvents. **Journal of Food Engineering**, 117, p. 458– 463, 2013.

PENA-PEREIRA, F.; TOBISZEWSKI, M. **The application of green solvents in separation processes**, Elsevier, Amsterdam, 2017.

PEREIRA DE MELO, I. L. *et al.* Pomegranate seed oil (*Punica granatum* L.): a source of punicic acid (conjugated α -linolenic acid). **Journal of Human Nutrition and Food Science**, 2014.

RAJHA, H. N. *et al.* Selective ultrasound-assisted aqueous extraction of polyphenols from pomegranate peels and seeds. **Journal of Food Processing and Preservation**, 44, 2020.

RITTNER, H. Extraction of vegetable oils with ethyl alcohol. **Oléagineux**, 47, p. 39-42, 1992.

RODRIGUES, C. E. C. *et al.* Thermodynamic and statistical analysis of soybean oil extraction process using renewable solvent. **International Journal of Food Science & Technology**, 45, p. 2407– 2414, 2010.

RUSSO, M., F. *et al.* Characterization of the polyphenolic fraction of pomegranate samples by comprehensive two-dimensional liquid chromatography coupled to mass spectrometry detection. **Natural Product Research**, 34, p. 39–45, 2020.

SAXENA, D. K.; SHARMA, S. K.; SAMBI, S. S. Comparative extraction of cottonseed oil by n-hexane and ethanol. **ARPN Journal of Applied Sciences**, 6, p.84– 89, 2011.

S. Seth, Y.C. Agrawal, P.K. Gosh, D.S. Jayas, B.P.N. Singh Oil extraction rates of soya bean using isopropyl alcohol as solvent. **Biosystems Engineering**, 97 (2007), pp. 209-217

WAKELYN, P. J.; WAN, P. J. **Solvent extraction to obtain edible oil products, in Akoh, C. C. (Ed.), Handbook of Functional Lipids. CRC Press Boca Raton, p. 89-131, 2005.**

WAN, P. J.; WAKELYN, P. J. **Technology and solvents for extracting oilseeds and nonpetroleum oils. AOCS Press, Urbana, 1997.**

WEIZMANN, C.; HAMLYN, G. A. **Fermentation process for the production of acetone and butyl alcohol (US1437697A). United States Patent Office, 1920.**

WINTGENS, J. N. **The Coffee Plant, in Wintgens, J. N. (Ed.), Coffee: Growing, Processing, Sustainable Production. Wiley-VCH Verlag GmbH, Weinheim, p. 1-24, 2008.**

ARTIGO 3 – ANÁLISE DO USO DE SOLVENTES ALTERNATIVOS E MISTURAS NA EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS DA SEMENTE DE ROMÃ (*Punica granatum* L.)

RESUMO

O fruto da romã (*Punica granatum* L.) é amplamente consumido em todo o mundo. As sementes, resíduos da extração do suco, são ricas em compostos bioativos que lhe conferem ação antioxidante. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da utilização de etanol, acetona e acetato de etila e suas misturas, no rendimento da extração de compostos bioativos de semente de romã. Foi avaliado o uso dos solventes etanol, acetona e acetato de etila na extração desses compostos à temperatura de 45 °C, e o estudo do efeito da mistura desses solventes e da temperatura foi realizado com um delineamento composto central rotacional (DCCR). No planejamento DCCR foi investigado o efeito da fração mássica da acetona e da fração mássica do acetato de etila na mistura com etanol e da temperatura nas variáveis respostas: rendimento de sólidos solúveis, o índice de retenção, conteúdo fenólico total e atividade antioxidante (DPPH e ABTS) da extração. A maior extração de compostos bioativos se encontrou entre 0 a 25% de acetato de etila, 40 a 50% de acetona e numa faixa de temperatura de 45 a 60 °C. Desse modo, este artigo apresenta uma abordagem abrangente da extração de compostos bioativos de semente de romã utilizando solventes biorrenováveis.

Palavras-chave: DCCR. Mistura de solventes. Compostos bioativos.

ABSTRACT

The pomegranate fruit (*Punica granatum* L.) is widely consumed throughout the world. The seeds, residues of juice extraction, are rich in bioactive compounds that give it antioxidant action. The objective of this work was to evaluate the effect of the use of ethanol, acetone and ethyl acetate and their mixtures on the yield of extraction of bioactive compounds from pomegranate seeds. The use of ethanol, acetone and ethyl acetate solvents in the extraction of these compounds at a temperature of 45 °C was evaluated, and the study of the effect of the mixture of these solvents and the temperature was carried out with a central rotational composite design (DCCR). In the DCCR design, the effect of the mass fraction of acetone and the mass fraction of ethyl acetate in the mixture with ethanol and the temperature on the response variables: soluble solids yield, retention index, total phenolic content and antioxidant activity (DPPH and ABTS) from the extraction. The greatest extraction of bioactive compounds was found between 0 to 25% of ethyl acetate, 40 to 50% of acetone and in a temperature range of 45 to 60 °C. Thus, this article presents a comprehensive approach to the extraction of bioactive compounds from pomegranate seed using biorenewable solvents.

Keywords: DCCR. Mixture of solvents. Bioactive compounds.

1 INTRODUÇÃO

A romã (*Punica granatum* L.) é uma fruta milenar amplamente conhecida e consumida em todo o mundo. As frações comestíveis, assim como outras frações não comestíveis (endocarpo, mesocarpo, flores e folhas), são ricas em inúmeros compostos bioativos que despertaram o interesse científico nesse fruto (WANG *et al.*, 2018).

Devido à crescente popularização das propriedades promotoras da saúde da fruta, a romã é cada vez mais comercializada. A utilização desse fruto pela indústria alimentícia resulta na formação de resíduos biológicos (KUPNIK *et al.*, 2021). Trabalhos têm demonstrado que as diferentes frações da romã e seus extratos apresentam potente ação antioxidante (DERAKHSHAN *et al.*, 2018), propriedades antimicrobianas (HUSSEIN *et al.*, 2021) e anticancerígenas (KHWAIRAKPAM *et al.*, 2018).

A maneira sustentável e ambientalmente amigável de descarte de resíduos é a recuperação de componentes de alto valor biológico desses resíduos. Tal reaproveitamento é crucial para a proteção do meio ambiente e da saúde humana (KUPNIK *et al.*, 2021).

Um dos processos de recuperação de componentes de interesse de uma matriz vegetal é a extração. Em quase todos os processos de extração nas indústrias dos mais diversos ramos, há uma dependência massiva de solventes, a maioria dos quais de origem petrolífera. É difícil prever com precisão os impactos ambientais gerados pela utilização desses solventes, mas sabe-se que a extração gera um tremendo consumo de energia e do uso exacerbado de solventes (CHEMAT *et al.*, 2019).

Pensando em alternativas para substituir os solventes de origem petrolífera, há a necessidade de estudo de solventes alternativos adequados para extração verde. Tais solventes devem ter facilidade de solubilizar a matriz, altos pontos de ebulição e baixa toxicidade e impactos ambientais. Outro fato que se deve levar em consideração na seleção dos solventes alternativos é que são facilmente biodegradáveis, obtidos de recursos renováveis, baixo custo, são reaproveitáveis e com o mínimo efeito ao meio ambiente (CHEMAT *et al.*, 2019).

A FDA (Food and Drug Administration) classifica o etanol, isopropanol, acetona e acetato de etila como solventes classe 3, ou seja, solventes conhecidos por não apresentarem perigo para a saúde humana, permitindo-se uma pequena porcentagem residual no produto final (FDA; CDER; CBER, 2017). Além disso, etanol, acetona e acetato de etila podem ser obtidos a partir de fontes biorrenováveis e considerados solventes de base biológica (OLIVEIRA *et al.*, 2019).

Etanol (ZANG *et al.*, 2020), acetona (OLIVEIRA *et al.*, 2013) e acetato de etila (IBRAHIM *et al.*, 2019) têm sido estudados como solventes para a extração de compostos bioativos e óleo de matrizes vegetais.

Tendo em vista uma possível substituição dos solventes de origem petrolífera utilizados na extração de compostos de interesse em um resíduo da romã, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da utilização dos diferentes solventes verdes (etanol, acetona e acetato de etila) e suas misturas e da temperatura da extração no rendimento da extração de sólidos solúveis e compostos bioativos de semente de romã.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

As romãs foram adquiridas da Fazenda Sol Nascente, localizada em Janaúba - MG (Latitude: 15°32'59''S; Longitude: 43°18'52''W). Os frutos foram colhidos e processados em novembro de 2020.

Os frutos foram lavados, sanitizados e descascados. As sementes foram manualmente separadas do mesocarpo, retirado o sumo ao redor das sementes utilizando um multiprocessador, lavadas em água corrente com auxílio de uma peneira para retirada completa da polpa aderida às sementes e posteriormente secas em papel toalha. As sementes foram secas em estufa de circulação de ar sob temperatura de 50 °C por 24 horas. Após a secagem, as sementes foram armazenadas em refrigerador a -2 °C até sua utilização.

Para a sua utilização, as sementes de romã foram trituradas em moinho de café e peneiradas utilizando mesa vibratória com peneira de 60 a 100 (± 20) mesh, a fim de obter uma granulometria média de 0,21 mm de diâmetro.

2.1 Processo de extração

A extração dos compostos da semente de romã foi realizada em Erlenmeyer de plástico com tampa de rosca. As tampas possuíam um septo e foi utilizada fita de teflon para evitar a perda do solvente. Para cada tratamento a razão m/m utilizada foi de 1:5 (semente:solvente) e o tempo, para que o sistema atingisse equilíbrio, de 4 horas determinado através de testes preliminares. O sistema foi incubado (Incubadora Marconi MA830/A) à temperatura constante do tratamento sob agitação de 150 rpm. Após o tempo de extração, o frasco Erlenmeyer foi pesado para verificar se ocorreu perda de solvente, e uma amostra da fase extrato foi retirada utilizando seringa conectada ao septo (tomando-se cuidado para não modificar a temperatura

do sistema). A massa do soluto na amostra da fase extrato foi determinada por meio de evaporação do solvente em estufa de fluxo de ar na temperatura do ensaio. Após o processo de extração, as fases de extrato e refinado foram separadas através de uma centrifugação (3500 rpm por 15 min) e, então, uma amostra da fase refinado foi seca nas mesmas condições da fase extrato.

2.2 Seleção dos solventes

Para este trabalho foram selecionados dois solventes a serem utilizados juntamente com o etanol no processo de extração. A escolha desses solventes foi baseada em um estudo termodinâmico da extração (Artigo 2). Nas extrações com a utilização dos solventes acetona, acetato de etila e isopropanol, separadamente, concluiu-se que um acréscimo na temperatura favoreceu o processo de extração de sólidos solúveis da semente de romã quando utilizados a acetona, etanol e acetato de etila. O isopropanol foi descartado deste estudo, uma vez que o aumento de temperatura desfavoreceu o processo de extração, e obteve os menores rendimentos quando comparado com acetona e acetato de etila.

2.3 Delineamento composto central rotacional (DCCR)

Para a otimização dos tratamentos será realizado um planejamento fatorial completo de ordem 2^3 (níveis +1 e -1) dois pontos axiais (níveis $-\alpha$ e $+\alpha$) e três pontos centrais (nível zero), com 3 variáveis independentes, portanto, será realizado um delineamento composto central rotacional (DCCR), fatorial completo, incluindo os 6 pontos axiais e 3 repetições no ponto central, totalizando 17 ensaios.

Serão avaliados os efeitos de três variáveis independentes: fração mássica do acetato de etila (x_1 ; % m/m), fração mássica da acetona (x_2 ; % m/m) e temperatura de extração (x_3 , °C). O etanol foi utilizado como solvente base, ou seja, os demais solventes substituem parte do etanol na mistura.

Na Tabela 1 têm-se os valores das variáveis codificadas e reais utilizadas no planejamento do DCCR. Nos tratamentos do DCCR o etanol será utilizado como solvente base, ou seja, os demais solventes quando presentes substituem parte do etanol presente do sistema.

Tabela 1 - Variáveis independentes do DCCR, valores codificados e reais.

Variável codificada	-1,6818	-1	0	1	1,6818
X ₁ ^a	0	10	25	40	50
X ₂ ^b	0	10	25	40	50
X ₃ ^c	30	36	45	54	60

^a fração mássica do acetato de etila; ^b fração mássica da acetona; ^c temperatura. Fonte: Da autora (2022).

Além dos 17 ensaios do planejamento fatorial foram realizadas 3 extrações, em três repetições, utilizando apenas etanol e os outros dois solventes selecionados (acetato de etila e acetona) a 45 °C, com o objetivo de comparar as extrações realizadas com solventes puros e com as misturas.

O *software* Statistica 10.0 (STATSOFT, 2010) foi utilizado para a análise estatística dos resultados, considerando o nível de significância de 5%. As curvas de contorno foram obtidas considerando o modelo quadrático completo (equação 1).

$$Y = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 X_3 + \beta_{11} X_1^2 + \beta_{22} X_2^2 + \beta_{33} X_3^2 + \beta_{12} X_1 X_2 + \beta_{13} X_1 X_3 + \beta_{23} X_2 X_3 \quad (1)$$

Em que Y é a variável resposta, X_i (i = 1, 2, 3) são as variáveis codificadas independentes, β₀ é o termo constante, β_i é o coeficiente linear, β_{ii} e β_{ij} são os coeficientes dos termos quadráticos e coeficiente dos termos interativos, respectivamente.

A capacidade preditiva do modelo foi avaliada pela análise do coeficiente de determinação (R²). Representações gráficas da superfície de resposta do modelo foram usadas para representar os efeitos lineares e quadráticos individuais e de interação, de duas das variáveis independentes, fixando a terceira variável no ponto central (X_i = 0).

Com a finalidade de obter região de operação que apresenta as melhores condições de extração variável resposta eficiência (Ef) e para a criação dessa nova variável, os valores experimentais obtidos para as variáveis estatisticamente significativas foram adimensionalizados dividindo cada resposta pelo ensaio que apresentou o maior valor.

2.4 Análise da fase extrato

2.4.1 Rendimento e índice de retenção

Da amostra da fase extrato da extração (item 2.1) determinou-se experimentalmente a fração mássica do solvente no extrato ($w_{2,FE}$) e a fração mássica de sólidos solúveis no extrato ($w_{1,FE}$). A concentração de inerte presente na fase extrato ($w_{3,FE}$) foi considerada igual a zero. Uma amostra da fase refinado foi seca em placa de Petri e nas mesmas condições da fase extrato, determinando-se a fração mássica do solvente na fase refinado ($w_{2,FR}$).

Com as grandezas determinadas experimentalmente (w_{1FE} ; w_{2FE} ; w_{2FR}) e as variáveis conhecidas; a massa da mistura e as frações mássicas dos componentes na mistura; $M_{sistema}$, $w_{1sistema}$, $w_{2sistema}$, $w_{3sistema}$; e considerando a fase extrato isenta de fibras ($w_{3FE}=0$), determinaram-se as demais variáveis, massa da fase extrato e refinado e fração mássica de sólidos solúveis e inerte na fase refinado através de balanço de massa.

O balanço de massa global (equação 2):

$$M_{mistura} = M_{semente} + M_{solvente} = M_{FE} + M_{FR} \quad (2)$$

O balanço de massa para os componentes mistura de solvente, sólidos solúveis e sólidos insolúveis que foram analisados através da equação 3:

$$w_{i\ mistura} M_{mistura} = w_{iFE} M_{FE} + w_{iFR} M_{FR} \quad (3)$$

Em que $M_{mistura}$, M_{FR} , M_{FE} são massa da mistura (amostra + solventes), da fase refinado e da fase extrato, respectivamente. $w_{i,mistura}$, $w_{i,FR}$, $w_{i,FE}$ são fração mássica do componente i na mistura, na fase refinado e na fase extrato, respectivamente. E i representa os componentes de interesse, sendo: sólidos solúveis (1), solvente (2) e o inerte (3).

Foram analisados o rendimento da extração em porcentagem (equação 4) e o índice de retenção (IR) que corresponde à massa de solução aderida por massa de insolúveis ou inerte (equação 5).

$$\Gamma_1 (\%) = 100 * \left(\frac{w_{1FE} M_{FE}}{M_{amostra} w_{1amostra}} \right) \quad (4)$$

Para obtenção da massa de sólidos solúveis da amostra, foi realizada uma extração com o método de soxhlet (AOAC, 2016) utilizando o etanol em sua temperatura de ebulição, calculando-se a fração mássica inicial de sólidos solúveis da amostra ($w_{1amostra}$).

$$RI = \frac{w_{1,FR}M_{FR} + w_{2,FR}M_{FR}}{w_{3,FR}M_{FR}} \quad (5)$$

2.4.2 Fenólicos Totais

O conteúdo de fenólicos totais foi determinado de acordo com o método adaptado de Folin-Ciocalteu (WATERHOUSE, 2002). Os extratos (0,5 mL) na diluição de 1:2 foram misturados com 2,5 mL de reagente de Folin-Ciocalteu (10%) e 2 mL de solução de carbonato de sódio (4%). A mistura foi agitada e mantida à temperatura ambiente durante 2 horas, no escuro. A absorbância foi medida a 750 nm. Soluções etanólicas de diferentes concentrações de ácido gálico foram utilizadas para a construção da curva padrão. Os resultados são expressos em mg equivalentes de ácido gálico (EAG)/g de semente seca.

2.4.3 Atividade antioxidante

Para as análises de atividade antioxidante foram utilizados os métodos de ABTS e DPPH. O método ABTS seguiu a metodologia descrita por Re *et al.* (1999), na qual as leituras espectrofotométricas foram realizadas a um comprimento de onda de 734 nm e os resultados foram expressos em micromoles de Trolox-equivalente por grama de semente (μM trolox/g de semente seca).

A capacidade de eliminação de radicais livres do DPPH foi avaliada baseada no método de Brand-Williams, Cuvelier e Berset (1995). As leituras das absorbâncias foram realizadas a 515 nm em um espectrofotômetro e os resultados expressos em EC_{50} (g de semente seca/g DPPH).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 2 são exibidos os resultados experimentais, de rendimento, índice de retenção, fenólicos totais e atividade antioxidante pelo método ABTS e DPPH (EC_{50}), os níveis das variáveis codificadas para o planejamento DCCR e os resultados das extrações com solventes puros. Na Tabela 3, têm-se os resultados da análise estatística, os valores dos coeficientes de regressão e seus respectivos p-valores para as variáveis dependentes. Através dos resultados apresentados na Tabela 3, analisaram-se os coeficientes de determinação considerando os modelos completos e reparametrizados, a fim de verificar qual modelo melhor predizia os resultados experimentais (TABELA 4).

Tabela 2 – Resultados do delineamento experimental

Ensaio	X ₁	X ₂	X ₃	Γ (%)	IR	Fenólicos totais ^A	ABTS ^B	DPPH (EC ₅₀) ^C	Ef
1	-1	-1	-1	66,58	1,76	5,99	4,95	6299,91	0,12
2	1	-1	-1	65,24	1,71	5,68	9,15	5646,11	0,26
3	-1	1	-1	72,89	1,32	7,92	17,52	5197,21	0,70
4	1	1	-1	66,82	1,31	4,92	13,98	5829,20	0,50
5	-1	-1	1	69,71	1,87	7,28	13,77	4956,48	0,41
6	1	-1	1	64,95	1,89	8,61	14,78	4645,17	0,46
7	-1	1	1	70,33	1,79	10,24	21,96	3623,74	0,93
8	1	1	1	64,08	1,70	6,38	18,84	4630,41	0,66
9	-1,681	0	0	49,85	1,70	11,98	13,79	4209,74	0,53
10	1,681	0	0	42,28	1,69	8,50	12,57	4979,67	0,41
11	0	-1,681	0	46,37	1,74	10,04	12,27	5964,92	0,32
12	0	1,681	0	45,49	1,43	11,45	21,57	4371,45	0,94
13	0	0	-1,681	44,70	1,75	10,22	19,53	4758,48	0,64
14	0	0	1,681	46,96	1,88	11,62	25,06	5031,53	0,73
15	0	0	0	74,66	1,70	7,07	19,06	7001,77	0,44
16	0	0	0	75,40	1,67	6,92	17,35	7290,47	0,39
17	0	0	0	73,37	1,65	7,28	16,73	6787,68	0,41
Etanol a 45 °C				70,01 ±0,93	1,49 ±0,06	5,44 ±0,32	8,77 ±0,28	6466,18 ±98,86	-
Acetato de etila a 45 °C				70,10 ±1,44	1,42 ±0,02	1,01 ±0,24	9,27 ±3,60	11386,27±221,45	-
Acetona a 45 °C				72,45 ±0,72	0,97 ±0,04	7,49 ±0,30	15,07 ±2,79	5669,36 ±165,00	-

Variáveis codificadas: X₁ = fração mássica do acetato de etila, X₂ = fração mássica da acetona, X₃ = temperatura (°C); Γ=rendimento (%); IR=índice de retenção (kg de matéria aderida/kg de solução); Ef=eficiência; ^A mg EAG/g de semente seca; ^B μM de trolox/g de semente seca; ^C g de semente seca/mg de DPPH. Média± desvio padrão (n=3). Fonte: Da autora (2022).

Tabela 3 - Estimativa do p-valor e coeficiente de regressão (CR) para rendimento (Γ), índice de retenção (IR), fenólicos totais (FT), ABTS, DPPH da semente de romã.

	Rendimento (%)		IR		Fenólicos Totais ^A		ABTS ^B		DPPH EC ₅₀ ^C		<i>Ef</i>	
	CR	p-valor	CR	p-valor	CR	p-valor	CR	p-valor	CR	p-valor	CR	p-valor
Média	72,947	0,000*	1,674	0,000*	7,332	0,002*	17,914	0,000*	7003,770	0,000*	0,420	0,000*
X₁	-2,281	0,611	-0,008	0,733	-0,857	0,259	-0,257	0,715	144,145	0,396	-0,036	0,189
X₁²	-4,849	0,338	0,001	0,978	0,286	0,721	-2,290	0,018*	-782,854	0,003*	-0,003	0,916
X₂	0,452	0,919	-0,120	0,001*	0,311	0,670	3,318	0,002*	-362,285	0,057	0,189	0,000*
X₂²	-4,897	0,334	-0,038	0,189	0,465	0,564	-0,966	0,235	-579,907	0,013*	0,056	0,079
X₃	0,099	0,982	0,099	0,004*	0,757	0,314	2,420	0,009*	-341,181	0,070	0,074	0,019*
X₃²	-4,934	0,330	0,044	0,139	0,527	0,515	0,936	0,249	-676,582	0,006*	0,073	0,030*
X₁ X₂	-0,779	0,893	-0,010	0,766	-0,983	0,317	-1,484	0,136	325,470	0,162	-0,083	0,037*
X₁ X₃	-0,448	0,938	-0,001	0,965	0,097	0,918	-0,348	0,705	89,648	0,680	-0,020	0,562
X₂ X₃	-1,018	0,861	0,070	0,057	-0,055	0,953	-0,644	0,489	-53,487	0,805	-0,013	0,703

Variáveis codificadas: X₁ = fração mássica do acetato de etila, X₂ = fração mássica da acetona, X₃ = temperatura (°C); Γ =rendimento (%); IR=índice de retenção (kg de matéria aderida/kg de solução); *Ef*=eficiência; ^A mg EAG/g de semente seca; ^B μ M de trolox/g de semente seca; ^C g de semente seca/mg de DPPH. Média \pm desvio padrão (n=3). Fonte: Da autora (2022).

Tabela 4 – Coeficientes de determinação quando considerado o modelo completo ou modelo reparametrizado.

Variável resposta	Modelo completo	Modelo reparametrizado
Rendimento	0,254	na
IR	0,888	0,689
Fenólicos Totais	0,433	na
ABTS	0,889	0,378
DPPH EC₅₀^c	0,859	0,591

na= não se aplica, pois nenhuma variável estudada teve efeito sobre a resposta. Fonte: Da autora (2022).

Pode-se observar que para todos os modelos que as variáveis independentes apresentaram efeito significativo, o modelo completo obteve o coeficiente de determinação superior a 0,85. Realizando a mesma análise para o modelo reparametrizado, houve uma queda significativa nos coeficientes de determinação do modelo. Tal análise indica que o modelo completo melhor prediz os resultados experimentais, sendo, portanto, o modelo escolhido.

Para melhor análise dos compostos bioativos dos ensaios, têm-se na Tabela 5 os valores de conteúdo fenólico total e atividade antioxidante pelo método ABTS e DPPH EC₅₀ da semente de romã.

Tabela 5 – Conteúdo fenólico total e atividade antioxidante da semente de romã.

Conteúdo fenólico total (mg EAG/g)	5,98 ± 0,15
DPPH EC ₅₀ (g/g DPPH)	7450,06 ± 667,47
ABTS (µM Trolox/g)	13,28 ± 0,14

Média ± Desvio padrão; n=3. Fonte: Da autora (2022).

3.1 Rendimento

Analisando os resultados experimentais de rendimento da extração na Tabela 2, verifica-se que os ensaios utilizando os solventes puros tiveram o rendimento superior a 70%. Os ensaios do ponto central, 15, 16 e 17 (25% de acetato de etila, 25% de acetona e 45 °C) correspondem à condição com os maiores rendimentos na extração 74,66, 75,40, 73,37%, revelando que o uso das misturas, nessa condição, foi mais eficiente no rendimento da extração. O ensaio que apresentou o menor rendimento (42,28%) de extração foi o ensaio 10 (50% de acetato de etila, 25% de acetona e 45 °C). Em geral, o rendimento para as misturas é menor que para extrações com compostos puro.

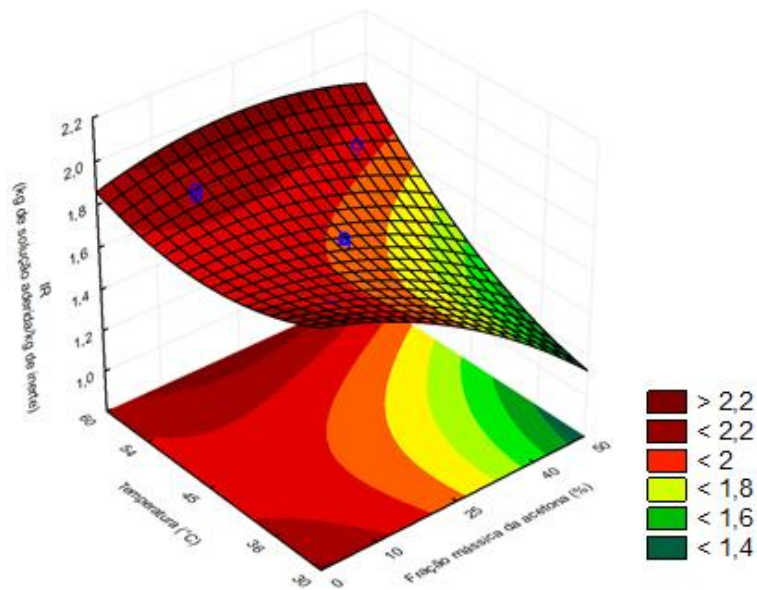
No que se refere à análise estatística, verifica-se na Tabela 3 que nenhum efeito foi estatisticamente significativo, ou seja, nenhuma das variáveis independentes (fração mássica de acetato de etila, fração mássica de acetona e temperatura) teve efeito sobre o rendimento.

3.2 Índice de retenção (IR)

A acetona pura apresentou menor índice de retenção (0,97 kg de solução aderida/kg de inerte) quando comparada aos ensaios do DCCR e ao etanol e acetato de etila puros. No que se refere ao índice de retenção, dos ensaios do DCCR, os valores variaram entre 1,3 - 1,9 kg de solução aderida/kg de inerte. O ensaio 6 (40% de acetato de etila, 10% de acetona e 36 °C), foi o que apresentou o maior índice de retenção (26,8% a mais que o obtido pelo etanol puro). Para as misturas, o ensaio que apresentou o menor valor para a variável analisada foi o ensaio 4 (40% de acetato de etila, 40% de acetona e 54 °C), cerca de 4% menor que o atingido pelo etanol. No estudo da extração de óleo de murici e pequi, Araújo *et al.* (2018) observaram, ao serem comparados o índice de retenção da extração quando utilizados hexano, etanol, isopropanol e acetona a 45 °C, que a acetona obteve o índice de retenção de 1,02 kg de solução aderida/kg de inerte, próximo ao obtido por este estudo.

Em relação ao índice de retenção, verificou-se (TABELA 3) que o termo linear da fração mássica de acetona (X_2) e o termo linear da temperatura (X_3) tiveram efeito estatisticamente significativo (5%). O termo de fração mássica apresentou efeito negativo, portanto, para o processo de extração utilizando mistura de etanol, acetato de etila e acetona, uma menor fração de acetona provoca um aumento no índice de retenção. Já para a temperatura, o termo linear exibe uma dependência inversa, na qual um aumento na temperatura provoca um aumento no índice de retenção. Como é requerido para o processo de extração um menor valor do índice de retenção, uma maior quantidade de acetona e uma menor temperatura apresentam um menor índice de retenção (FIGURA 1).

Figura 1 – Superfície de contorno para índice de retenção (kg de solução aderida/kg de inerte) em função da fração mássica de acetona (%) e temperatura (°C).



Fonte: Da autora (2022).

Oliveira *et al.* (2018), ao avaliarem o índice de retenção para acetona pura, na extração de grãos de café verde, verificaram que o aumento da temperatura provocou um aumento da variável analisada. Já Araújo *et al.* (2018) relataram na avaliação da extração de murici e pequi que para ambas as matrizes o aumento da temperatura utilizando o etanol provocou um aumento do índice de retenção. O índice de retenção não está somente relacionado ao tipo de solvente ou mistura utilizada na extração, mas também à matéria-prima utilizada na extração.

O índice de retenção está diretamente ligado ao rendimento, uma vez que quantifica o solvente e o soluto que ficam aderidos à fase refinado, e impacta na diminuição do rendimento (ARAÚJO *et al.*, 2018).

3.3 Fenólicos totais

Ao comparar os resultados de cada ensaio com os solventes puros, observar-se que para a maioria dos ensaios a quantidade de compostos fenólicos extraídos foram maiores do que os conteúdos extraídos pelos solventes puros. Os ensaios 9 (0% de acetato de etila, 25% de acetona e 45 °C) e 14 (25% de acetato de etila, 25% de acetona e 56 °C) foram os ensaios que obtiveram maiores valores de fenólicos totais, 11,98 e 11,62 mg EAG/ g de semente seca, respectivamente.

É possível perceber, ao comparar os valores obtidos dos ensaios com os valores quantificados na matéria-prima (TABELA 5), que o extrato utilizando mistura de solventes

apresentaram até 100% a mais de fenólicos totais que a metodologia utilizada para quantificar compostos fenólicos na matéria-prima.

Na Tabela 3 é possível verificar que nenhum fator possuiu efeito estatisticamente significativo, ou seja, nenhuma das variáveis independentes (fração mássica de acetato de etila, fração mássica de acetona e temperatura) teve efeito sobre o conteúdo fenólico total.

3.4 Atividade antioxidante

Os resultados obtidos para as análises de atividade antioxidante pelos métodos ABTS e DPPH mostram comportamentos parecidos para os solventes puros. Vale a pena ressaltar que a atividade antioxidante do método DPPH dado em EC_{50} é maior quanto menor o valor obtido, uma vez que se refere à massa da semente na extração, necessário para diminuir em 50% o radical \bullet DPPH, portanto, quanto menor a massa, maior a atividade antioxidante. Para ambos os métodos, a acetona apresentou a maior atividade antioxidante. Considerando a extração de compostos bioativos, entre os extratos dos solventes puros, a acetona foi o solvente que apresentou um melhor comportamento, extraindo a maior quantidade de fenólicos totais e apresentando as melhores atividades antioxidantes.

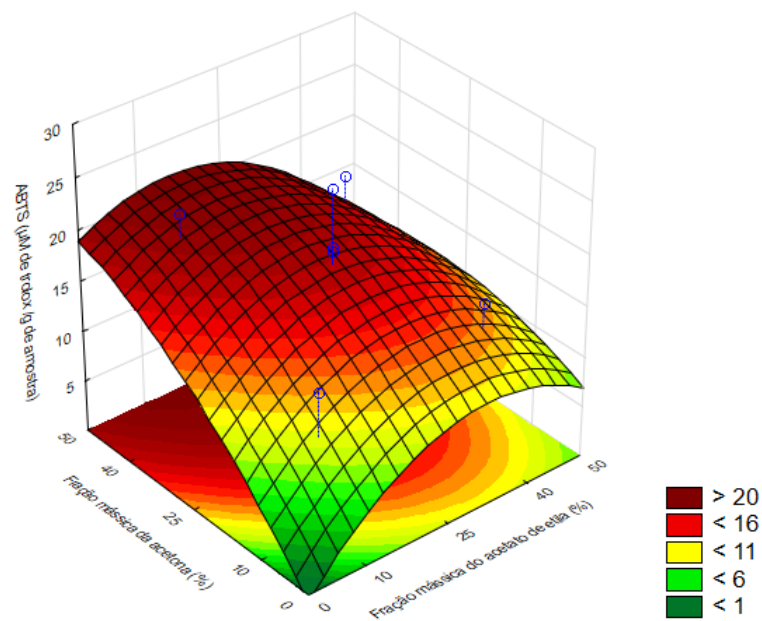
A escolha do solvente, ou mistura de solventes, influencia fortemente a quantidade de compostos extraídos. Os compostos extraídos podem apresentar características diferentes, sendo de origem polar ou apolar. A seleção de solventes, tais como hexano, acetato de etila, metanol, etanol, acetona, água e suas misturas, tem sido utilizada para a extração de compostos de diferentes polaridades (LIYANA-PATHIRANA; SHAHIDI, 2005; MADHUIJITH; SHAHIDI, 2006).

No que se refere à atividade antioxidante pelo método ABTS, comparando todos os ensaios com o ensaio utilizando o etanol puro, uma vez que é o etanol o solvente base da extração das misturas, somente o ensaio 1 e acetato de etila puro não apresentam valores superiores ao etanol. O ensaio que obteve maior atividade antioxidante, o ensaio 14, apresentou um aumento de 186% em relação ao etanol. Já a menor atividade antioxidante relatada (ensaio 1) obteve uma diminuição de cerca de 44%.

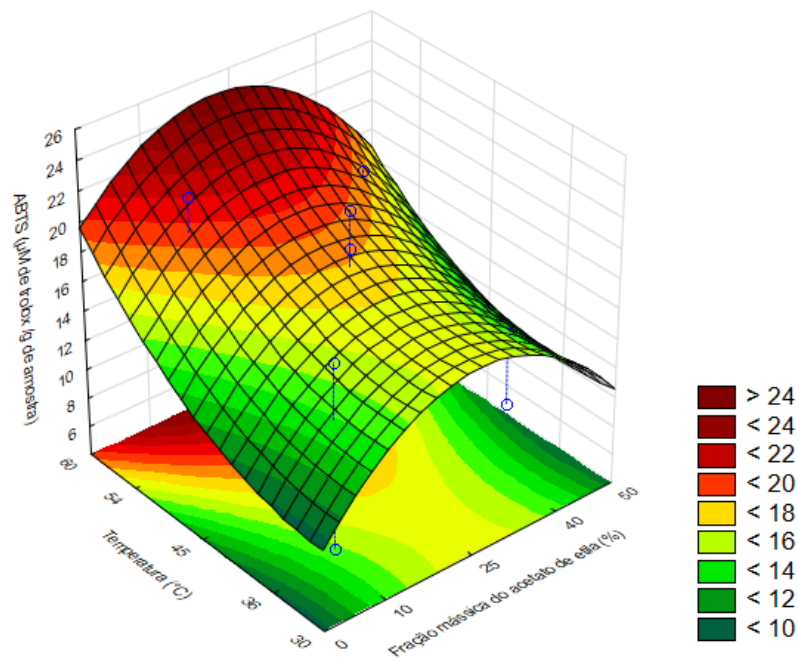
Pela análise da Tabela 3, o termo quadrático da fração mássica de acetato de etila (X12), o linear da fração mássica de acetona (X2) e o linear da temperatura (X3) apresentaram efeito significativo. Analisando a Figura 2 pode-se notar que o efeito significativo do termo quadrático do acetato de etila, com coeficiente negativo, faz com que a curva tenha uma região de ponto máximo para a fração mássica de acetato de etila em 12,39%, e que em ambos a atividade antioxidante é superior em frações mássicas e temperaturas superiores. Através da Figura 2a é

possível perceber uma maior fração mássica de acetona, e na Figura 2b que uma maior temperatura provoca um aumento na atividade antioxidante, apresentando o ponto máximo em 50% e 56 °C.

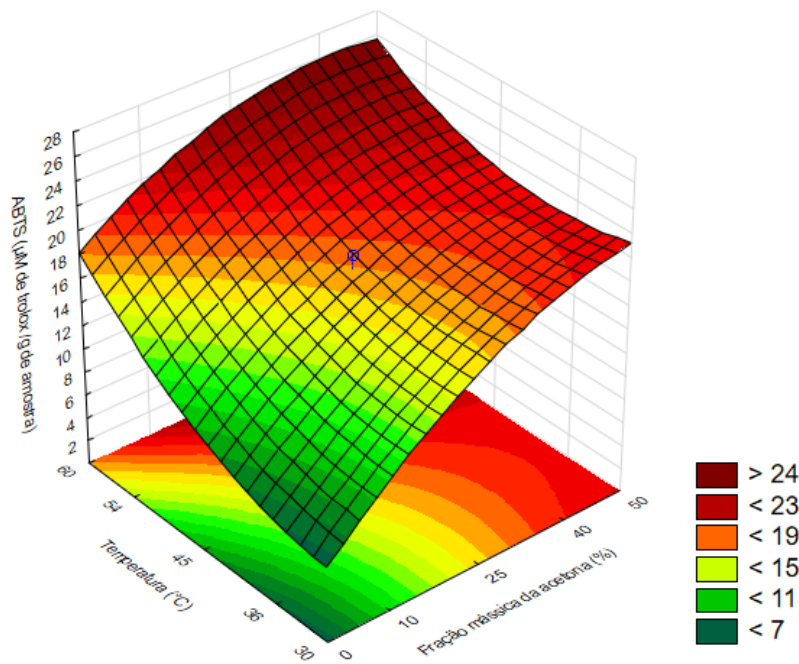
Figura 2 – a) Superfície de contorno para atividade antioxidante (ABTS) (μM de trolox/g de semente seca) em função da fração mássica de acetato de etila (%) e fração mássica de acetona (%); b) atividade antioxidante (ABTS) (μM de trolox/g de semente seca) em função da fração mássica de acetato de etila (%) e temperatura (°C); c) atividade antioxidante (ABTS) (μM de trolox/g de semente seca) em função da fração mássica de acetona (%) e temperatura (°C).



(a)



(b)



(c)

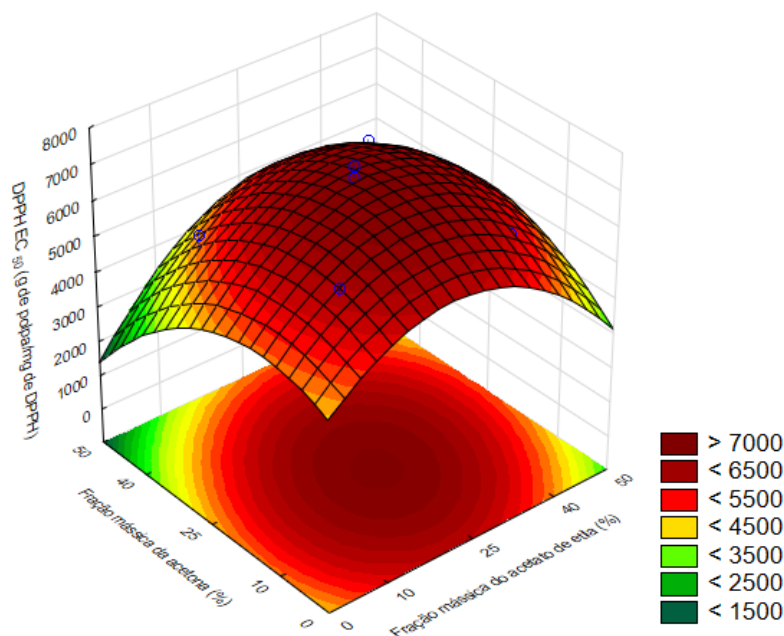
Fonte: Da autora (2022).

Já a atividade antioxidante pelo método DPPH EC_{50} , comparando todos os ensaios com o ensaio utilizando o etanol puro, obteve maior atividade antioxidante o ensaio 7, que apresentou um aumento de 44% em relação ao etanol. Já a menor atividade antioxidante foi

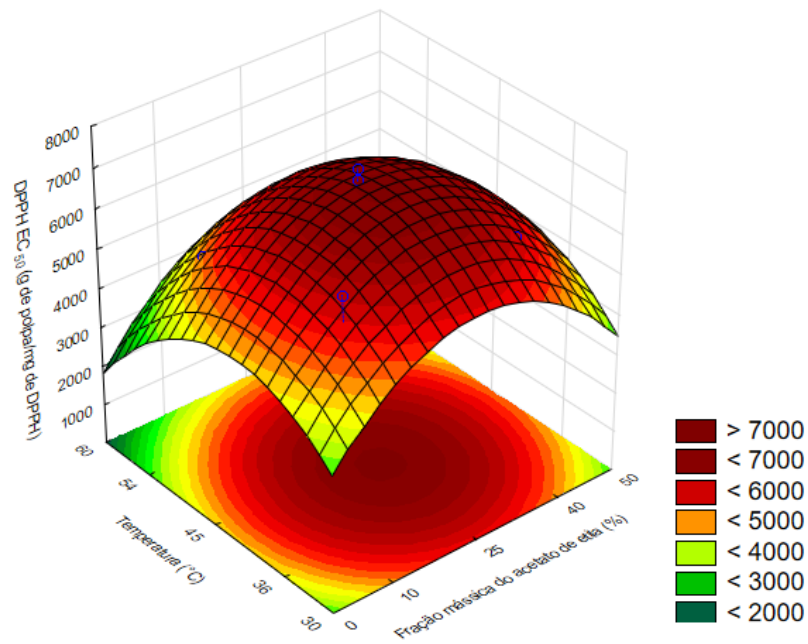
obtida pelos ensaios do ponto central (ensaios 15, 16 e 17), em que se obteve uma diminuição de até 12% na atividade antioxidante.

Verifica-se através da Tabela 3 que o houve efeito significativo para o termo quadrático da fração mássica de acetato de etila (X_1^2), fração mássica de acetona (X_2^2) e temperatura (X_3^2), sendo negativos os valores dos coeficientes de todos os termos, indicando uma tendência da superfície resposta ter uma curva com uma região de máximo e um ponto crítico no ponto de máximo (FIGURA 3). A variável analisada apresenta ponto ótimo em 21,39% de acetato de etila, 25,96% de acetona e 45,13 °C, o que significa que esse ponto apresenta a menor atividade antioxidante, uma vez que um valor superior de DPPH EC₅₀, significa que uma maior quantidade de matéria-prima é requerida para diminuir em 50% o radical DPPH•. Nas três superfícies de resposta, tem-se que a maior atividade antioxidante é obtida nos extremos (+1,68,-1,68; -1,68-1,68; +1,68+1,68; -1,68+1,68).

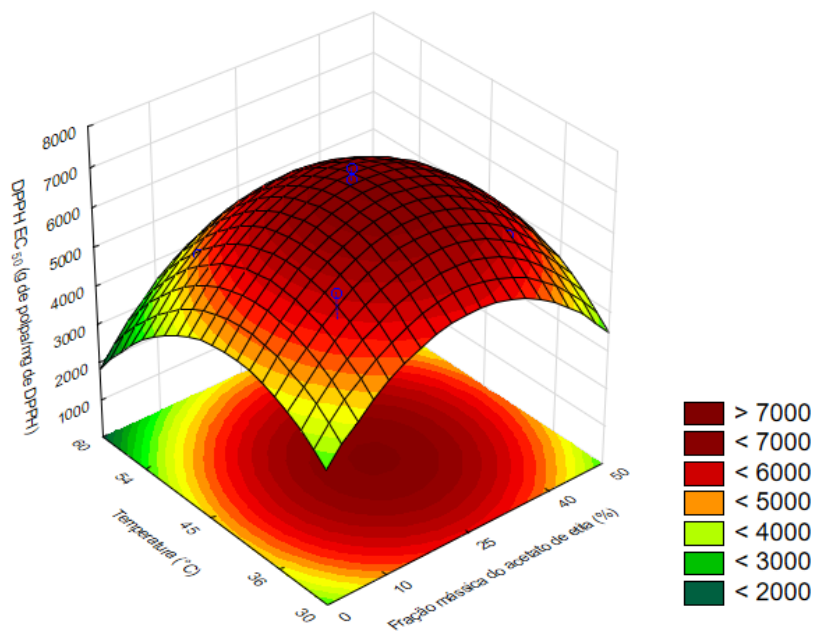
Figura 3 – a) Superfície de contorno para atividade antioxidante (DPPH EC₅₀) (g de semente seca/mg de DPPH) em função da fração mássica de acetato de etila (%) e fração mássica de acetona (%). b) Superfície de contorno para atividade antioxidante (DPPH EC₅₀) (g de semente seca/mg de DPPH) em função da fração mássica de acetato de etila (%) e temperatura (°C). c) Superfície de contorno para atividade antioxidante (DPPH EC₅₀) (g de semente seca/mg de DPPH) em função da fração mássica de acetona (%) e temperatura (°C).



(a)



(b)



(c)

Fonte: Da autora (2022).

Gao *et al.* (2019), avaliando a extração de óleo de noz (*Juglans regia* L.) utilizando diferentes solventes, relataram que as maiores atividades antioxidantes pelos métodos DPPH e ABTS foram obtidas utilizando a acetona como solvente. Para avaliar melhor o comportamento das misturas é necessário ter em mente que cada solvente possui uma eficácia para extrair compostos específicos.

Zhang *et al.* (2014), no estudo da extração de cominho, evidenciaram que a acetona apresentou a maior capacidade de eliminação de radicais DPPH EC₅₀ (88,5 µg/mL), seguida por metanol e etanol, e que não houve diferença significativa entre os dois e o acetato de etila. Em relação à eliminação de radicais ABTS, extratos de acetato de etila e n-hexano (76,9 e 86,5 µg/mL, respectivamente), apresentaram maior atividade antioxidante. Os autores verificaram que a extração com diferentes solventes resulta em diferenças nas composições, teores dos fitoquímicos e mostraram diferentes capacidades antioxidantes.

Variações na capacidade antioxidante de diferentes extratos podem ser atribuídas a diferenças em seu conteúdo bioativo e dependem do solvente usado para a extração. A diferença entre o comportamento de solventes puros comparados com misturas é atribuída à mudança de polaridade e capacidade de dissolver grupos selecionados de compostos bioativos (SINGH *et al.*, 2014).

3.5 Eficiência (*Ef*)

Uma vez que as variáveis respostas estatisticamente significativas foram índice de retenção, ABTS e DPPH EC₅₀ a variável resposta foi criada através da equação 6.

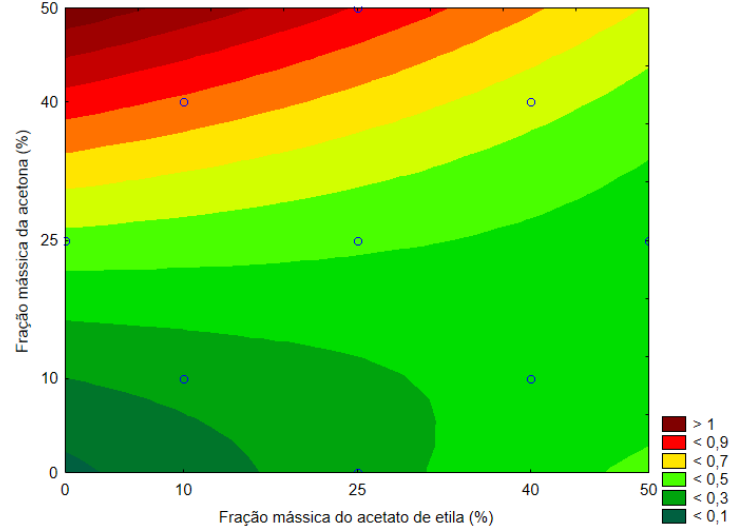
$$Ef = \frac{ABTS}{IR \cdot DPPH EC_{50}} \quad (6)$$

Para o índice de retenção e DPPH EC₅₀ são requeridos menores valores, ou seja, é inversamente proporcional à eficiência, portanto, encontram-se no denominador.

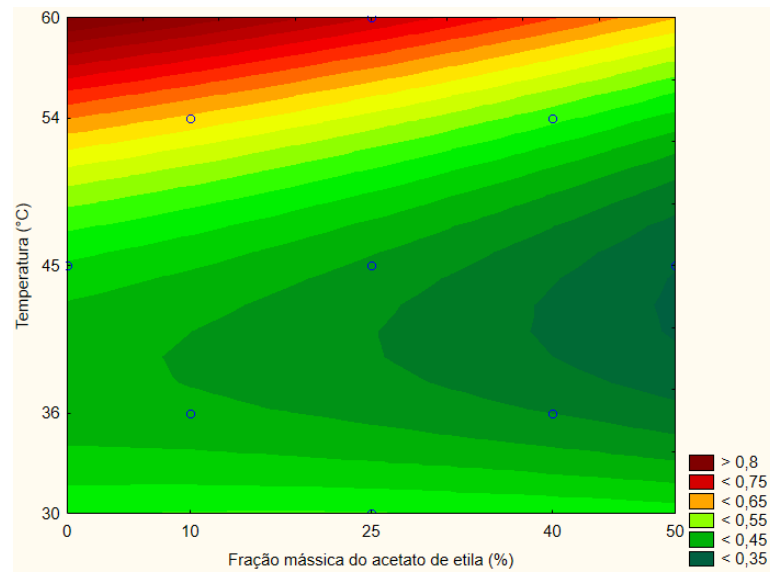
Na Tabela 2, tem-se que o ensaio que apresentou maior (*Ef*=0,94) e menor (*Ef*=0,12) eficiência foi o ensaio 12 (25% de acetato de etila, 50% de acetona e 45 °C) e o ensaio 1 (10% de acetato de etila, 10% de acetona e 36 °C), respectivamente. Os efeitos da variável resposta eficiência para os ensaios são exibidos na Tabela 6.

Analisando os efeitos sobre a resposta eficiência (TABELA 3), verifica-se que o termo linear da fração mássica de acetona (X_2), linear e quadrático da temperatura (X_3 e X_3^2) e o da interação entre fração mássica de acetato de etila e acetona (X_1X_2) apresentaram efeito estatisticamente significativo (5%). Os valores obtidos para a variável resposta eficiência de extração se ajustaram bem ao modelo ($R^2=92,66\%$). Os efeitos das variáveis analisadas neste estudo sob a extração de compostos bioativos da semente de romã podem ser avaliados nas Figura 4.

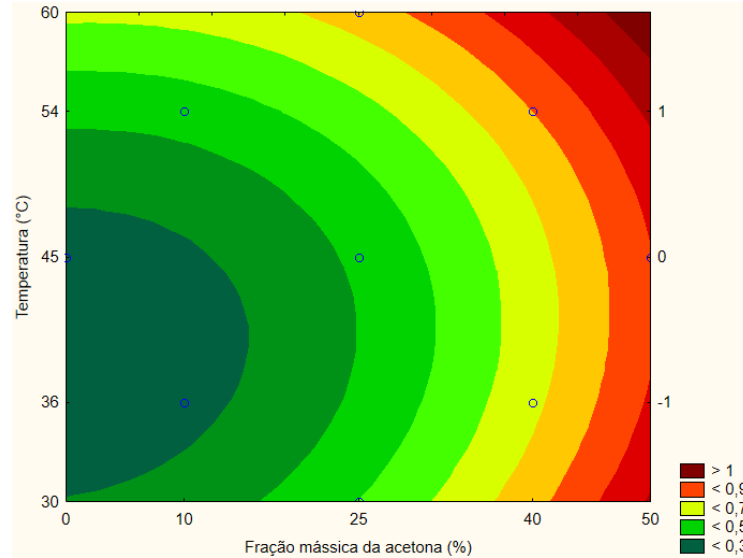
Figura 4 – a) Curva de contorno para eficiência em função da fração mássica de acetato de etila (%) e acetona (%). b) Curva de contorno para eficiência em função da fração mássica de acetato de etila (%) e temperatura (°C). c) Curva de contorno para eficiência em função da fração mássica de acetona (%) e temperatura (°C).



(a)



(b)



(c)

Fonte: Da autora (2022).

Através da análise das imagens acima, pode-se notar que a faixa ótima de extração encontra-se nas frações mássicas de inferiores de acetato de etila (entre 0 e 25%), superiores de acetona (entre 40 e 50%) e elevadas temperaturas.

4 CONCLUSÃO

Este estudo avaliou o uso de solventes verdes e misturas e a temperatura no processo de extração de sólidos solúveis de sementes de romã. De acordo com o desenho experimental e a análise da superfície de resposta, modelos polinomiais quadráticos foram obtidos modelos de superfície de resposta para as variáveis rendimento, índice de retenção, fenólicos totais e atividade antioxidante (ABTS e DPPH EC₅₀). Dentro da faixa de condições de operação estudadas, a região ótima foi de 25 a 60% de etanol, 0 a 25% de acetato de etila e 40 a 50% de acetona. Assim, o processo ótimo de extração de compostos bioativos de semente de romã é obtido utilizando uma mistura de etanol, acetato de etila e acetona.

REFERÊNCIAS

ARAÚJO, A. C. M. A. *et al.* Modeling of cosolvent and temperature effects on ethanolic extraction of pequi and murici seeds. **Emirates Journal of Food and Agriculture**, v. 31, n. 3, p. 153–163, 2019.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT - Food Science and Technology**, 28, p. 25–30, 1995.

CHEMAT, F. *et al.* Review of alternative solvents for green extraction of food and natural products: Panorama, principles, applications and prospects. **Molecules**, 2019.

DERAKHSHAN, Z *et al.* Antioxidant activity and total phenolic content of ethanolic extract of pomegranate peels, juice and seeds. **Food Chemistry Toxicology**, v. 114, p. 108-111, 2018.

Extracts of Cumin Seeds. **Applied Mechanics and Materials**, p. 1612-1616, 2014.

FDA (Food and Agriculture Organization of The United Nations), CDER (Center for Drug Evaluation and Research), and CBER (Center for Biologics Evaluation and Research). Q3C — Tables and List Guidance for Industry. FDA, **Silver Spring**, p. 8, 2017.

GAO, P. Comparison of solvents for extraction of walnut oils: Lipid yield, lipid compositions, minor-component content, and antioxidant capacity. **LWT**, v. 110, p. 346-352, 2019.

HUSSEIN, E. I. *et al.* An-timicrobial Activity of Methanolic and Ethanolic Crude Extracts of Carp, Peel and Seed of Punica granatum L. BulgBulgarian. **Journal of Agricultural Science**. p. 227-233, 2021.

IBRAHIM, A. P. *et al.* Optimization of microwave-assisted solvent extraction of non-edible sandbox (*Hura crepitans*) seed oil: A potential biodiesel feedstock. **Renewable Energy**, 2019.

KHWAIRAKPAM, A. D. *et al.* Possible use of Punica granatum (Pomegranate) in cancer therapyPharmacological. **ResearchAcademic Press**, 2018.

KUPNIK, K. *et al.* A comprehensive study of the antibacterial activity of bioactive juice and extracts from pomegranate (*Punica granatum l.*) peels and seeds. **Plants**, v. 10, n. 8, 1 ago. 2021.

OLIVEIRA, R. C. *et al.* The extraction of passion fruit oil with green solvents. **Journal of Food Engineering**, 117, p. 458– 463, 2013.

OLIVEIRA, E. R. *et al.* Effect of ecofriendly bio-based solvents on oil extraction from green coffee bean and its industrial press cake. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v. 36, n. 4, p. 1739–1753, 2019.

RE, R. *et al.* Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 26, p. 1231–1237, 1999.

SINGH, M. *et al.* Influence of the solvents on the extraction of major phenolic compounds (Punicalagin, ellagic acid and gallic acid) and their antioxidant activities in pomegranate aril. **Journal of Food Science and Technology**, v. 51, n. 9, p. 2070–2077, 2014.

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

WANG, D *et al.* Vasculoprotective Effects of Pomegranate (*Punica granatum* L.). **Frontiers in pharmacology**, v. 9, 2018.

WATERHOUSE, A. L. Polyphenolics: Determination of total phenolics. In R. E.

WROLSTAD (Ed.). **Current Protocols in Food Analytical Chemistry**, New York: John Wiley & Sons. 2002

ZHANG, L. Profile of Phytochemicals and Antioxidant Activities of Different Solvent. **Applied Mechanics and Materials**, p. 1612-1616, 2014.

ZHANG, Z. *et al.* Synergistic effects of ultrasound and extraction solvent on the bioactive compound in kenaf seed oil. **Journal Food Science Technology**, v. 57, p. 2118-2128, 2020.

APÊNDICE A – BALANÇO DE MASSA.

Temperatura: 35 °C

M semente	Dados experimentais			Dados determinados experimentalmente			Equações do BM		Variáveis obtidas das equações do BM				Frações mássicas em base livre de SI	
	M1, sist	M2, sist	M3, sist	W1,FE	W2,FE	W2,FR	BM global	BM para 2	MFE	MFR	W1,FR	W3,FR	X1,FR	y1, FE
8,009	2,32261	40,6455	5,68639	0,040495	0,959505	0,541331	0	-6,5E-14	34,21377	14,44073	0,064895	0,393775	0,107047	0,040495
8,099	2,34871	40,6057	5,75029	0,039853	0,960147	0,545676	0	-1E-06	33,84727	14,85743	0,067292	0,387031	0,109781	0,039853
8,0546	2,335834	40,6922	5,718766	0,040612	0,959388	0,528129	0	9,06E-14	34,66039	14,08641	0,065894	0,405977	0,110928	0,040612
8,0246	2,327134	40,3203	5,697466	0,047577	0,952423	0,503065	0	-1E-06	35,60563	12,73927	0,049698	0,447236	0,089909	0,047577
8,0281	2,328149	40,1756	5,699951	0,046363	0,953637	0,511229	0	2,13E-14	35,10894	13,09476	0,053486	0,435285	0,094714	0,046363
8,0458	2,333282	40,4	5,712518	0,047059	0,952941	0,486086	0	-1E-06	36,0951	12,3507	0,051388	0,462526	0,09561	0,047059
8,0974	2,348246	40,1412	5,749154	0,049809	0,950191	0,523126	-1E-06	-1E-06	34,90413	13,33447	0,045724	0,43115	0,080379	0,049809
8,0984	2,348536	39,8972	5,749864	0,048503	0,951497	0,532088	0	-2,3E-14	34,23705	13,75855	0,05	0,417912	0,085897	0,048503
8,0357	2,330353	40,2548	5,705347	0,049897	0,950103	0,525674	0	-1E-06	35,03469	13,25581	0,043922	0,430404	0,077111	0,049897
8,068	2,33972	40,6236	5,72828	0,048142	0,951858	0,503319	0	3,82E-14	35,93039	12,76121	0,047799	0,448882	0,08673	0,048142
8,0768	2,342272	41,6011	5,734528	0,047427	0,952573	0,52048	0	1,15E-14	36,43835	13,23955	0,046384	0,433136	0,081826	0,047427
8,0208	2,326032	40,2662	5,694768	0,04845	0,95155	0,535167	0	3,02E-14	34,64258	13,64442	0,047463	0,41737	0,081464	0,04845

Legenda:

	Etanol
	Acetato de etila
	Isopropanol
	Acetona

Temperatura: 45 °C

M semente	M1, sist	M2, sist	M3, sist	W1,FE	W2,FE	W2,FR	BM global	BM para 2	MFE	MFR	W1,FR	W3,FR	X1,FR	y1, FE
8,023	2,32667	39,9397	5,69633	0,048142	0,951858	0,559737	0	-1E-06	33,39073	14,57197	0,049353	0,39091	0,081028	0,048142
8,0322	2,329338	40,3109	5,702862	0,048086	0,951914	0,543405	0	-1,7E-14	34,37139	13,97171	0,048423	0,408172	0,081819	0,048086
8,0723	2,340967	40,3393	5,731333	0,047825	0,952175	0,545344	0	-1E-06	34,26069	14,15091	0,049641	0,405015	0,083432	0,047825
8,0766	2,342214	40,8825	5,734386	0,045347	0,954653	0,491651	-1E-06	-1E-06	36,31027	12,64884	0,054997	0,453353	0,100607	0,045347
8,0421	2,332209	40,3155	5,709891	0,045744	0,954256	0,433325	0	-1E-06	37,16608	11,19152	0,056477	0,510198	0,115306	0,045744
8,0954	2,347666	40,2356	5,747734	0,045443	0,954557	0,459112	0	3,64E-14	36,42438	11,90662	0,058154	0,482734	0,112426	0,045443
8,0938	2,347202	39,4208	5,746598	0,049404	0,950596	0,549678	0	-1,5E-14	33,1815	14,3331	0,04939	0,400932	0,082445	0,049404
8,0908	2,346332	40,3156	5,744468	0,048397	0,951603	0,546423	0	-1E-06	34,2199	14,1865	0,048652	0,404925	0,081758	0,048397
8,0078	2,322262	40,1936	5,685538	0,04785	0,95215	0,553323	0	-1E-06	33,90608	14,29532	0,048956	0,39772	0,081285	0,04785
8,0217	2,326293	39,8952	5,695407	0,046772	0,953228	0,461937	0	1,69E-14	36,15086	11,76604	0,054008	0,484055	0,104678	0,046772
8,0323	2,329367	39,8365	5,702933	0,046426	0,953574	0,466452	0	-1,4E-14	35,9417	11,9271	0,055399	0,478149	0,106159	0,046426
8,084	2,34436	40,044	5,73964	0,046794	0,953206	0,448002	0	1,07E-14	36,58439	11,54361	0,054785	0,497214	0,108962	0,046794

Legenda:

	Etanol
	Acetato de etila
	Isopropanol
	Acetona

Temperatura: 55 °C

Dados experimentais				Dados determinados experimentalmente			Equações do BM		Variáveis obtidas das equações do BM				Frações mássicas em base livre de SI	
M semente	M1, sist	M2, sist	M3, sist	W1,FE	W2,FE	W2,FR	BM global	BM para 2	MFE	MFR	W1,FR	W3,FR	X1,FR	y1, FE
8,0683	2,32667	41,308	5,74163	0,051691	0,948309	0,559833	0	-4,70735E-14	35,17719	14,19911	0,035801	0,404366	0,060106	0,051691
8,0636	2,329338	40,9953	5,734262	0,049733	0,950267	0,557249	0	-9,76996E-15	34,74972	14,30918	0,042011	0,40074	0,070105	0,049733
8,012	2,340967	41,0322	5,671033	0,051249	0,948751	0,557058	-1E-06	-1E-06	35,00636	14,03784	0,03896	0,403982	0,065368	0,051249
8,079	2,342214	40,9176	5,736786	0,046151	0,953849	0,49709	0	-1E-06	36,25951	12,73709	0,05251	0,4504	0,095541	0,046151
8,0419	2,332209	41,209	5,709691	0,046499	0,953501	0,499368	-1E-06	-1E-06	36,5855	12,6654	0,049822	0,45081	0,09072	0,046499
8,0608	2,347666	41,0029	5,713134	0,046399	0,953601	0,486765	0	2,04281E-14	36,67328	12,39042	0,052142	0,461093	0,096754	0,046399
8,0385	2,347202	41,0219	5,691298	0,046046	0,953954	0,645603	-1E-06	-2,24206E-08	30,31727	18,74314	0,05075	0,303647	0,07288	0,046046
8,0725	2,346332	41,1383	5,726168	0,048114	0,951886	0,715917	0	9,9476E-14	25,03489	24,17591	0,047229	0,236854	0,061887	0,048114
8,0019	2,322262	41,176	5,679638	0,047801	0,952199	0,715819	-1E-06	-2,8008E-08	25,27083	23,90707	0,046609	0,237571	0,061132	0,047801
8,0096	2,326293	39,9231	5,683307	0,045657	0,954343	0,369632	0	-1E-06	37,97711	9,955586	0,059502	0,570866	0,138655	0,045657
8,0203	2,329367	40,0884	5,690933	0,04702	0,95298	0,32198	-1E-06	-1E-06	38,98315	9,125553	0,054394	0,623626	0,144521	0,04702
8,0315	2,34436	39,5123	5,68714	0,048059	0,951941	0,314595	0	1,64313E-14	38,52737	9,016429	0,054652	0,630753	0,148011	0,048059

Legenda:

	Etanol
	Acetato de etila
	Isopropanol
	Acetona