

Influência do método de extração na atividade antioxidante do extrato aquoso de *Punica granatum* (romã)

Influence of the extraction method on the antioxidant activity of the aqueous extract of *Punica granatum* (pomegranate)

Influencia del método de extracción en la actividad antioxidante del extracto acuoso de *Punica granatum* (granada)

Maria Luísa Bezerra de Macedo Arraes¹ <https://orcid.org/0000-0002-9515-3717>

Renata Bessa Pontes² <https://orcid.org/0000-0002-3647-3892>

Bianca Oliveira Louchard¹ <https://orcid.org/0000-0001-9803-9525>

Tamara Gonçalves de Araújo^{1*} <https://orcid.org/0000-0002-1360-479X>

¹Universidade Federal do Ceará, Departamento de Farmácia. Fortaleza, Ceará, Brasil.

²Universidade Federal do Ceará, Departamento de Fisioterapia. Fortaleza, Ceará, Brasil.

*Autor para correspondência: tamara.ufc@gmail.com

RESUMO

Introdução: Os compostos antioxidantes de origem vegetal representam uma importante fonte de compostos bioativos para as indústrias de cosméticos, medicamentos e alimentos, o que tem despertado um interesse cada vez maior nas pesquisas relacionadas aos métodos de processamento e avaliação de eficácia. *Punica granatum* L. (romã) é uma espécie de ampla distribuição geográfica, utilizada na medicina tradicional em diversos países e rica em compostos fenólicos. Entre as atividades farmacológicas do extrato da casca do fruto incluem atividades antioxidantes, antimutagênicas, anticarcinogênicas, antimicrobianas e antiinflamatórias.

Objetivo: Realizar uma revisão sistemática para identificar e analisar os estudos que exploram os extratos aquosos da casca do fruto da *Punica granatum* (romã) e suas respectivas propriedades antioxidantes

Métodos: A revisão foi realizada no período de abril a setembro de 2020 com artigos publicados entre 2015 e 2020 no Portal Periódicos da Capes, em português, inglês e espanhol. Foram usadas as bases de dados de pesquisa especializadas usando *script* de combinações das palavras-chave para a (Biblioteca Virtual em Saúde BVS (Bireme) Lilacs).

Conclusão: Os compostos fenólicos foram associados ao poder antioxidante da *Punica granatum* (romã). Entretanto, alguns outros compostos (ex.: carotenoides) também podem contribuir com o potencial antioxidante desse fruto.

Palavras-chave: *Punica granatum*; extratos vegetais; compostos antioxidantes.

ABSTRACT

Introduction: Antioxidant compounds of plant origin represent an important source of bioactive compounds for the cosmetic, pharmaceutical and food industries. Hence the increase of researches related to methods of processing and evaluation of efficacy. *Punica granatum* (pomegranate) is a species of wide geographical distribution ; it is used in the traditional medicine of several countries and is rich in phenolic compounds. Among the pharmacological activities of this fruit's peel extract are antioxidant, antimutagenic, anticancer, antimicrobial and anti-inflammatory activities.

Objective: Carry out a systematic review on the influence of the extraction method on the antioxidant activity of the aqueous extract of *Punica granatum* (pomegranate).

Methods: The review was conducted from April to September 2020 with articles published between 2015 and 2020 on the Portal Periódicos da Capes, in Portuguese, English and Spanish languages. Specialized databases and keyword combinations were used for the Virtual Library on Health (Bireme) Lilac.

Conclusions: Phenolic compounds are associated with the antioxidant power of *Punica granatum* (romã). However, other compounds, such as carotenoids, may also contribute to the antioxidant potential of this fruit.

Keywords: *Punica granatum*; plant extracts; antioxidant compounds.

RESUMEN

Introducción: Los compuestos antioxidantes de origen vegetal representan una fuente importante de compuestos bioactivos para la industria cosmética, farmacéutica y alimentaria, lo cual despierta un creciente interés en la investigación relacionada con los métodos de procesamiento y evaluación de la eficacia. *Punica granatum* (granada) es una especie de amplia distribución geográfica, se utiliza en la medicina tradicional en varios países y es rica en compuestos fenólicos. Entre las actividades farmacológicas del extracto de cáscara de fruta se encuentran actividades antioxidantes, antimutagénicas, anticancerígenas, antimicrobianas y antiinflamatorias.

Objetivo: Realizar una revisión sistemática sobre la influencia del método de

extracción en la actividad antioxidante del extracto acuoso de *Punica granatum* (granada).

Métodos: La revisión se realizó de abril a septiembre de 2020 con artículos publicados entre 2015 y 2020 en el Portal Periódicos da Capes, en portugués, inglés y español. Se utilizaron bases de datos especializadas y combinaciones de palabras claves para la Biblioteca Virtual en Salud BVS (Bireme) Lilas.

Conclusiones: Los compuestos fenólicos se asocian con el poder antioxidante de *Punica granatum* (romã) Sin embargo, otros compuestos, como carotenoides, también pueden contribuir al potencial antioxidante de esta fruta.

Palabras clave: *Punica granatum*; extractos de plantas; compuestos antioxidantes.

Recibido: 20/04/2021

Aceptado: 01/02/2022

Introdução

Os compostos antioxidantes de origem natural têm sido alvo de pesquisas nos últimos anos, apresentando diferentes propriedades protetivas e agindo em diversas etapas do processo oxidativo por meio de diferentes mecanismos.⁽¹⁾ Além disso, a confiabilidade e a eficiência de preparações que utilizam as plantas medicinais têm sido evidenciadas, o que tem alavancado o mercado de produtos com ativos naturais.⁽²⁾

Os compostos antioxidantes fenólicos de origem sintética empregados pela indústria alimentícia na conservação dos alimentos, como o *butil-hidroxisol* (BHA), *butil-hidroxitolueno* (BHT), *terci-butil-hidroquinona* (TBHQ), *propilgalato* (PG), dentre outros, tem sido cada vez mais substituídos por compostos antioxidantes de origem natural.⁽³⁾ Os vegetais, em particular as frutas, apresentam em sua constituição vários compostos com ação antioxidante. Os principais antioxidantes são as vitaminas C e E, os carotenoides e os compostos fenólicos, especialmente os flavonoides.^(1,4)

Dentre os compostos fenólicos naturais, destacam-se os flavonoides e os ácidos fenólicos. *Barraza-Garza et al.*⁽⁵⁾ mostraram que uma maior quantidade de polifenóis apresentou melhor proteção contra o estresse oxidativo em cultura de células *in vitro*. Além disso, estudos realizados *in vivo* mostraram evidências de que os compostos fenólicos atuam positivamente no controle da homeostase do organismo, em mecanismos diversos e auxiliando o equilíbrio redox do mesmo.^(6,7) A atividade antioxidante que os compostos fenólicos são capazes de oferecer é dependente de fatores como a concentração e o tipo de composto presente. Ainda, a ação pode existir sob a forma de sinergismo entre os diferentes compostos.^(8,9)

Nesse contexto, destaca-se a *Punica granatum*, uma árvore pertencente à família *Punicaceae*, popularmente conhecida como romã, rica em compostos fenólicos e que tem demonstrado forte atividade antioxidante.⁽¹⁰⁾ Alguns estudos demonstraram que o consumo do suco de sua fruta traz benefícios na prevenção de processos oxidativos iniciados pela participação de radicais livres.⁽¹¹⁾

Ainda, alguns trabalhos científicos destacaram a multifuncionalidade da romã, como estudos farmacológicos que têm demonstrado além das propriedades antioxidantes, atividade antitumoral, antimicrobianas, antiinflamatórias, quimioprotetoras, entre outras propriedades. Somado a isso, os compostos bioativos presentes na romã estão diretamente relacionados com a prevenção de alguns tipos de doenças crônicas não transmissíveis e propriedades antioxidantes para proteção contra o câncer.^(12,13) O suco da romã tem demonstrado uma atividade antioxidante superior às alcançadas pelo chá verde e pelo vinho tinto, duas bebidas conhecidas pelo seu alto poder antioxidante.⁽¹⁴⁾

Em termos de polifenóis, as cascas de romã são um dos subprodutos mais valiosos da indústria de alimentos.⁽¹⁵⁾ Um estudo demonstrou que o enriquecimento de outros sucos de frutas com extrato seco de casca de romã aumenta a atividade antioxidantes.^(16,17) Cerca de 40-50% do peso total do fruto da romã corresponde à casca, onde são encontrados diversos compostos bioativos, como flavonóides, ácidos fenólicos, elagitaninos, punicalagina e punicalina.^(15,16)

A romã apresenta fundamental importância na medicina popular quanto na indústria de alimentos para fabricação de sucos, aromatizantes, geleias, corantes, e na indústria de cosméticos para a fabricação de hidratantes, sabonetes, condicionadores e outros. O seu cultivo vem se expandindo em países da América Latina, pelo aumento da demanda por parte tanto da indústria quanto para a comercialização do fruto *in natura*.^(18,19)

Estudos mostraram que tanto os extratos alcoólicos e hidroalcoólicos, ambos obtidos por maceração, quanto os extratos brutos aquosos, obtido por decocção, infusão ou maceração tiveram o seu potencial antioxidante elucidados.^(2,20,21)

O extrato feito de todas as partes do fruto da romã apresenta propriedades terapêuticas, tendo como constituintes benéficos o ácido elágico, ácido púnico, flavonoides, antocianidinas, punicalaginas, flavonas, antocianinas.^(22,23) A parte interna do fruto é rico em taninos (punicalina, pedunculagina, punicalagina, ácido gálico, ácido galágico e ésteres de ácido elágico de glicose) e outros fenólicos incluindo flavonóides.⁽¹⁸⁾ No entanto, é na casca, que geralmente é descartada, que são encontrados os principais compostos fenólicos bioativos.⁽¹⁶⁾ Além dos compostos fenólicos, a casca do fruto é rica em nutrientes minerais como nitrogênio, cálcio, potássio, cobre, manganês, sódio, boro, zinco, ferro, vitamina C, magnésio e fósforo. Assim, a casca da romã tem maior quantidade de compostos bioativos antioxidantes comprovada em relação ao fruto.⁽²⁴⁾

Diante disso, a casca do fruto da romã vem se destacando com ampla aplicação farmacológica contra inúmeras doenças, o que contribui para o aumento da demanda do mercado por produtos de origem natural e estimula as pesquisas de compostos naturais com atividade antioxidante.^(25,26,27)

Para avaliação da atividade antioxidante são utilizados diferentes métodos, visto os vários mecanismos de ação no qual os componentes antioxidantes podem atuar, bem como a diversidade de compostos bioativos citados. Entre as metodologias existentes na avaliação da atividade antioxidante, destacam-se os métodos que utilizam os radicais DPPH e ABTS, além do método de cooxidação do β -caroteno ácido linoleico, devido à facilidade de execução e pela boa correlação com as demais metodologias antioxidantes. Além disso, essas metodologias permitem utilizar substratos lipídicos ou aquosos e a capacidade protetora sobre moléculas biológicas.^(28,29,30,31)

Diante do exposto, o objetivo desse trabalho foi realizar uma revisão sistemática para avaliar as diferentes técnicas de obtenção de extrato aquoso da casca do fruto da *Punica granatum* (romã) e suas respectivas influencias nas propriedades antioxidante.

Métodos

A revisão foi realizada no período de abril a setembro de 2020 com artigos publicados entre 2015 e 2020 no Portal Periódicos da Capes, em português, inglês e espanhol. Foram usadas as bases de dados de pesquisa especializadas usando *script* de combinações das palavras-chave para a (Biblioteca Virtual em Saúde BVS (Bireme) LILACS, (*tw:(Punica granatum)*) AND (*tw:(aqueous extract)*) AND (*tw:(Antioxidants)* OR *tw:(Anti-Inflammatory)* OR *tw:(Antimicrobial)*); para o PubMed Medline (NIH), ((*Punica granatum*) AND (*aqueous Extract*)) AND (*Antioxidants* OR *Anti-Inflammatory* OR *Antimicrobial*); SciELO ORG,((*Punica granatum*) AND (*aqueous Extract*)) AND (*Antioxidants* OR *Anti-Inflammatory* OR *Antimicrobial*); para a ScienceDirect e para a Scopus (Elsevier), (*TITLE-ABS-KEY (Punica AND granatum) AND TITLE-ABS-KEY (aqueous AND extract) AND TITLE-ABS-KEY (Antioxidant) OR TITLE-ABS-KEY (Anti-Inflammatory) OR TITLE-ABS-KEY (Antimicrobial)) AND (LIMIT-TO (PUBYEAR,2020) OR LIMIT-TO (PUBYEAR,2019) OR LIMIT-TO (PUBYEAR,2018) OR LIMIT-TO (PUBYEAR,2017) OR LIMIT-TO (PUBYEAR,2016)) AND (LIMIT-TO (LANGUAGE,"English") OR LIMIT-TO (LANGUAGE,"Portuguese")OR LIMIT-TO (LANGUAGE,"Spanish"))*).

Os artigos foram selecionados de acordo com o título, depois pelo resumo e, em seguida, por meio de uma análise da publicação do texto completo. A seleção do manuscrito baseou-se nos seguintes critérios de inclusão: artigos publicados nos idiomas inglês, português e espanhol e artigos com as palavras-chave escolhidas no título, resumo ou texto completo. Foram excluídos estudos em duplicata; cujo

texto não estava disponível na íntegra; que a avaliação das atividades nas partes da romã não fosse a casca; que o método de extração não fosse aquoso; e que não atendessem a temática escolhida (atividade antioxidante) na leitura completa dos artigos selecionados. A figura demonstra o fluxograma da identificação, triagem, elegibilidade e inclusão dos estudos nesta revisão.

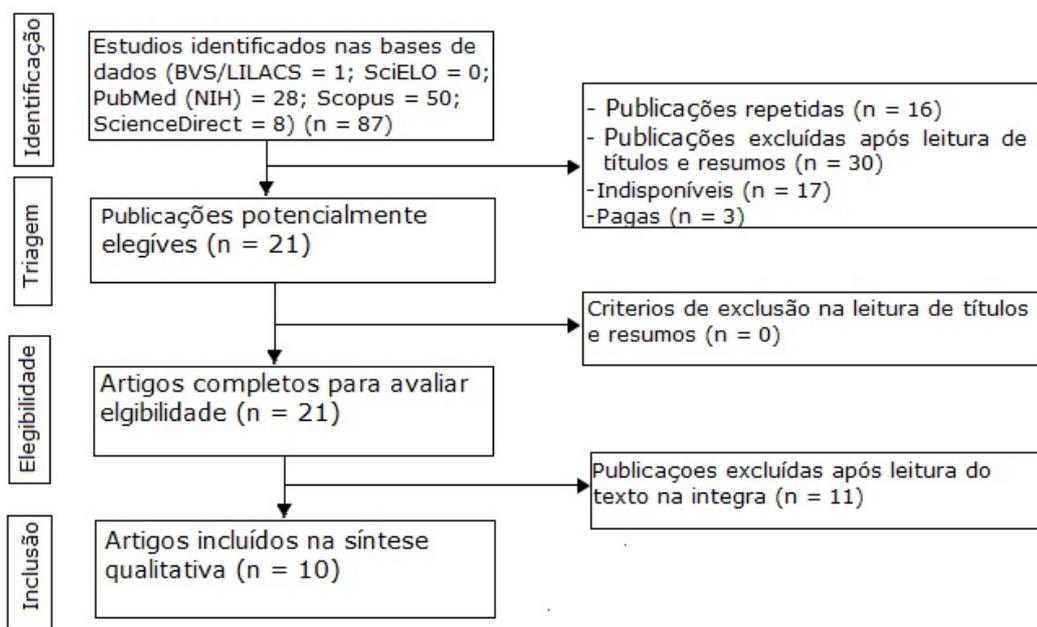


Fig. - Fluxograma da revisão sistemática.

O método de extração aquoso foi escolhido, visando a não utilização de solventes orgânicos. Os estudos que se adequaram aos critérios de inclusão foram adicionados a uma planilha para facilitar a consulta e o gerenciamento dos dados.

Diferentes técnicas de obtenção de extrato aquoso da casca do fruto da *Punica granatum* (romã)

A busca primária identificou 87 registros, 1 na Biblioteca Virtual de Saúde (BVS), nenhum na base SciELO, 8 na ScienceDirect, 28 no PubMed e 50 na Scopus. A base de dados que mais apresentou publicações foi a Scopus (57,4%), seguido do PubMed (32,1%), da ScienceDirect (9,1%) e da BVS (1,1%). Após a exclusão de registros duplicados, triagem e aplicação dos critérios de exclusão e inclusão foram selecionados 10 artigos que fizeram parte da presente revisão. Os registros selecionados foram todos publicados em inglês.

Dos artigos selecionados, cinco adquiriram os frutos em mercados locais,^(32,33,34,35,36) três adquiriram a partir de subprodutos de indústrias de suco,^(37,38,39) um obteve os frutos de romã em um distrito local⁽⁴⁰⁾ e um não cita a forma de obtenção.⁽⁴¹⁾ Só os estudos de *Uddandrao et al.*,⁽³⁶⁾ e *Jacob et al.*,⁽⁴⁰⁾

informaram que a amostra havia sido devidamente identificada e registrada em herbário e nenhum apresentou a completa caracterização do seu extrato. Dentre os artigos selecionados, a maioria obteve o extrato da casca da romã a partir da casca seca e por maceração, apenas os estudos de *Chaves et al.*,⁽⁴¹⁾ e *Sharayei et al.*,^(38,39) em seus dois estudos não esclareceram se usaram cascas secas ou frescas (Tabela 1).

A tabela 1 mostra também como as obtenções dos extratos aquosos ocorrem de forma diferente, desde a higienização dos frutos que podem ser só limpas, lavadas com água destilada ou molho no hipoclorito (2,5%), a forma de secagem das cascas que podem ser a temperatura ambiente ou submetida a algum processo de secagem^(33,34,35,37) e o solvente aquoso à frio ou a quente.^(33,35,37)

Em seu estudos, *Zago et al.*,⁽³⁵⁾ e *Sharayei et al.*,^(38,39) obtiveram seus extratos de forma mais rápida quando comparada a maceração assistida, utilizando a extração assistida por ultrassom.

Sandhya et al.,⁽³⁴⁾ e *Andrés et al.*,⁽³⁷⁾ ao final do processo de extração, centrifugaram os extratos e usaram o sobrenadante. Ainda ao observar as substâncias utilizadas para a obtenção dos extratos, notou-se que o estudo de *Penkumsri et al.*,⁽³²⁾ usou hexano para desengordurar as cascas antes da extração e o *Andrés et al.*,⁽³⁷⁾ acidificou sua amostra até atingir um pH de 2,5-3 com ácido acético para estabilização dos compostos fenólicos.

Quanto ao tempo de obtenção, dentre os estudos incluídos nessa revisão, o trabalho de *Aboelsoued et al.*,⁽³³⁾ foi o que obteve seu extrato de forma mais rápida, aproximadamente uma hora. Em contrapartida, *Zago et al.*,⁽³⁵⁾ e *Sandhya et al.*,⁽³⁴⁾ foram os que apresentaram maior tempo para obter seus extratos, aproximadamente quatro e cinco dias, respectivamente, levando em consideração o tempo de secagem das cascas (Tabela 1).

Tabela 1 - Descrição da obtenção dos extratos aquosos da casca de *Punica granatum* L. (romã)

Obtenção do material vegetal	Identificação/ registro	Caracterização	Higienização	Casca	Preparação inicial	Preparação final	Forma de extração	Filtração	Forma final	Armazenamento	Autor/ Ano
Mercado local	---	---	Limpas e secas	Secas	Moídas e peneiradas	Desengor duradas em hexano e secas em forno de vácuo	Extração aquosa realizada por 3 vezes (1h cada)	Filtrado	Liofilizado	- 20 °C	Penkumsri, 2019 ⁽³²⁾
Mercado local	---	---	Lavadas e separadas	Secas	Trituradas em moinho	---	Dissolvidas em água quente (1g/10ml)	---	Líquido	---	Aboelsoued <i>et al.</i> , 2019 ⁽³³⁾
Mercado local	---	---	Limpas, lavadas com água destilada	Secas	Trituradas até o pó fino	Pó e água destilada	Agitação por 2 min, e repouso no escuro por 4 h a 4 °C	Filtrado e centrifugado a 3500 rpm por 10 min	Sobrenadante Líquido.	---	Sandhya <i>et al.</i> , 2018 ⁽³⁴⁾
Mercado local	---	---	Lavados com água potável e hipoclorito	Secas	Moídas e peneiras até o pó	---	Ultras-som a temperatura ambiente por 2 h	Congelado e Liofilizado	Líquido e Liofilizado	-20 °C protegido da luz	Zago <i>et al.</i> , 2020 ⁽³⁵⁾
Mercado local	Autenticada e armazenadas em Herbário	---	---	Secas	---	---	Extraído com água em <i>soxhlet</i> por 6 h	Evaporado até à secura sob pressão reduzida	Resíduo sólido	0 - 4 °C.	Uddandrao <i>et al.</i> , 2019 ⁽³⁶⁾
Subprodutos agroindustriais	---	---	---	Secas	Moídas em água e acidificadas	---	Homogeneizadas 60 °C por 2,5 h com agitação	Filtrado e centrifugados a 8400 × g por 10 min	Sobrenadante Liofilizado	---	Andrés <i>et al.</i> , 2017 ⁽³⁷⁾

Subproduto do suco de frutas	---	---	---	---	Moídas e peneirado em malha	10 g em 40 mL de água destilada a 60 % por 10 min	Mistura agitada no escuro à temperatura ambiente por 48 h	Filtrado e concentrado em evaporador rotativo	Liofilizado	-18 ° C no escuro	Sharayei <i>et al.</i> , 2020 ⁽³⁸⁾
Subproduto do suco de frutas	---	---	---	---	Embaladas em sacos a -18 ° C	Pó e água por ultrassom à temperatura ambiente	Agitação no escuro à temperatura ambiente por 48 h	Filtrado e concentrado no evaporador rotativo	Liofilizado	---	Sharayei <i>et al.</i> , 2019 ⁽³⁹⁾
Frutos frescos coletados em um distrito local	Identificada e depositada em Herbário	---	---	Secas	Cascas secas em pó	---	Extraídas com água, por 24 h com agitação periódica	Filtrado e concentrado 60 ° C em evaporador rotativo	---	---	Jacob <i>et al.</i> , 2018 ⁽⁴⁰⁾
---	---	---	---	---	Liofilizado	1 g em 10 mL de água deionizada	Banho ultrassônico a 39 ° C por 45 min	Filtrado e centrifugado a 5000 rpm por 10min a 4 ° C	Sobrenadante Líquido	---	Chaves <i>et al.</i> , 2020 ⁽⁴¹⁾

Dos artigos selecionados, oito determinaram o conteúdo dos compostos fenólicos pelo método de *Folin-Ciocalteu* (Tabela 2).

Tabela 2 - Conteúdo de fenóis totais (CFT)

Extrato	Temperatura da água	Conteúdo de fenóis totais (CFT)	Autor/Ano
Liofilizado	---	± 130 mgGAE/g	Penkumsri <i>et al.</i> , 2019 ⁽³²⁾
Líquido *CEV CIB	quente	180,5 mgGAE/g 209,5 mgGAE/g	Aboelsoued <i>et al.</i> , 2019 ⁽³³⁾
Líquido (1:15) (1:60)	4°C	307,88 \pm 0,16 μ g GAE/g 329,63 \pm 0,34 μ g GAE/g	Sandhya <i>et al.</i> , 2018 ⁽³⁴⁾
Líquido Liofilizado	---	66,14 mgGAE/g 89,52 mgGAE/g	Zago <i>et al.</i> , 2020 ⁽³⁵⁾
Liofilizado	60°C	134,79 \pm 0,80mgGAE/g	Andrés <i>et al.</i> , 2017 ⁽³⁷⁾
Liofilizado	ambiente	60,19mgGAE/g	Sharayei <i>et al.</i> , 2019 ⁽³⁸⁾
Liofilizado	ambiente	69,55 \pm 1,48mgGAE/g	Sharayei <i>et al.</i> , 2020 ⁽³⁹⁾
Líquido	39°C	136,27 \pm 1,34mgGAE/g	Chaves <i>et al.</i> , 2020 ⁽⁴¹⁾

*CEV: Casca externa vermelha; CIB: casca interna branca. - - não informado.

Avaliando os resultados apresentados nas tabelas 1 e 2, percebe-se claramente a influência da forma de extração sobre o conteúdo total de compostos fenólicos dos extratos aquosos produzidos a partir da casca do fruto de *Punica granatum*. Também é possível perceber que o conteúdo de fenóis totais da casca de romã seca é aparentemente superior nos extratos obtidos com água aquecida e a casca previamente triturada.⁽⁴²⁾ E, que o processo de extração assistida por ultrassom, não demonstrou diferença quando comparado aos outros resultados sem o uso desse equipamento.

Influência do método de extração aquosa no potencial antioxidante

Dentre os artigos selecionados, cinco deles realizaram análise da atividade antioxidante do extrato da casca de *Punica granatum* pelo método da inativação do radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH).^(33,34,40,38) Os demais trabalhos correlacionam o potencial antioxidante com os testes 2-azino-bis-3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico (ABTS) e Poder Antioxidante de Redução do Ferro (FRAP) (Tabela 3). Penkumsri *et al.*,⁽³²⁾ realizou também o ensaio quelante de íons ferrosos (Fe²⁺) obtendo 166,40 \pm 2,33 mg de EDTA por grama de extrato. Vale

ressaltar que as diferentes formas de obtenção dos extratos e a apresentação dos resultados em unidades distintas dificulta a comparação entre as amostras.

Tabela 3 - Capacidade antioxidante

Extrato Ensaio	DPPH	ABTS	FRAP	Autor/ Ano
Liofilizado	---	1311,55 ± 25,53 mgTEAC/g	6551,25 ± 125,27 mgFeSO4/g	Penkumsri <i>et al.</i> , 2019 ⁽³²⁾
Líquido CEV CIB	54,4 ± 0,86 75 ± 0,77	1,268 ± 0,166 1,096 ± 0,73	17,87 ± 0,25 20,9 ± 0,802	Aboelsoued <i>et al.</i> , (2019) ⁽³³⁾
Líquido(1:15) (1:60)	68,36 ± 0,21 87,74 ± 0,61	92,07 ± 0,52 94,19 ± 0,42	---	Sandhya <i>et al.</i> , (2018) ⁽³⁴⁾
Líquido Liofilizado	91,70% 100 mg/mL 90,21% 100 mg/mL	---	---	Zago <i>et al.</i> , (2020) ⁽³⁵⁾
Liofilizado	1600,00 ± 1,59	---	56,34 ± 0,92	Sharayei <i>et a.</i> , (2019) ⁽³⁸⁾
Liofilizado	---	---	1432,35 μmol de Fe ²⁺ /g	Sharayei <i>et al.</i> , (2020) ⁽³⁹⁾
---	±98% inibição em 100ug/ml	± 50% inibição em 200ug/ml	---	Jacob <i>et al.</i> , 2018 ⁽⁴⁰⁾
Líquido	---	---	2043,33 ± 101,52 μmol de Fe ²⁺ /g	Chaves <i>et al.</i> , (2020) ⁽⁴¹⁾

Legenda: 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH); ácido 2, 2-azino-bis-3-etilbenzotiazolona-6-sulfônico (ABTS), ensaio quelante de íons ferrosos (Fe²⁺); Poder Antioxidante de Redução do Ferro (FRAP); Determinação do poder reductor (PR) - - ensaio não realizado.

Tabela 4 - Substâncias com potencial antioxidante identificadas por HPLC

Compostos	Quantidade	Autor/ Ano
ácido gálico	10,18 ± 0,08 mgGAE/g	Penkumsri <i>et al.</i> , 2019 ⁽³²⁾
ácido gálico ácido clorogênico	3,645mg/g CEV e 4,9687mg/g CIB 0,3425 mg/g CEV e 0,3572mg/g CIB	Aboelsoued <i>et al.</i> , 2019 ⁽³³⁾
α-Punicalagina β-Punicalagina ácido elágico hexosídeo ácido elágico pentosídeo ácido elágico desoxihexose ácido elágico	1647,9 mgα-punicalagin/L 5715,1 mgβ-punicalagin/L 23,0 mgGAE/L 35,2 mgGAE/L 11,7 mgGAE/L 138,6	Chaves <i>et al.</i> , 2020 ⁽⁴¹⁾

Dentre os artigos analisados, só os estudos de *Aboelsoued et al.*,⁽³³⁾ e *Chaves et al.*,⁽⁴¹⁾ identificaram compostos por técnicas cromatográficas. Nos estudos de *Aboelsoued et al.*,⁽³³⁾ foram identificados 11 compostos fenólicos através da técnica de HPLC/DAD. O ácido gálico foi considerado o principal componente fenólico, com 3,645 mg/g de amostra em casca vermelha e de 4,9687 mg/g em casca branca seguido de ácido clorogênico (amostra de 0,3425 mg/g em vermelho casca e amostra de 0,3572 mg/g em casca branca) (Tabela 4). Esse estudo cita

ainda que a casca vermelha é rica em catequina, quercetina, cafeína, ácido coféico, ácido sérico e naringenina, enquanto a casca branca é rica em ácido gálico, ácido clorogênico e ácido cinâmico. Alguns compostos, apesar de não serem classificados como fenólicos, apresentam potencial antioxidante.

Chaves et al.,⁽⁴¹⁾ analisaram seu extrato aquoso da casca da romã por cromatografia líquida de alta eficiência no sistema EXTRAC-US (FAPESP 2013 / 04304-4 - patente pendente).

Já o estudo de *Uddandrao et al.*,⁽³⁶⁾ realizou apenas uma análise fitoquímica do extrato e mostrou a presença de flavonóides, saponinas, glicosídeos, terpenóides, aminoácidos, alcalóides, carboidratos, compostos fenólicos e proteínas.

Os estudos sobre o extrato aquoso da casca do fruto da *Punica granatum* são dominados por instituições internacionais, na sua maioria da região asiática^{[32,33,34,36,38,39,40,)} seguido de duas instituições nacionais, sendo uma de São Paulo⁽⁴¹⁾ e outra do Rio Grande do Sul.⁽³⁵⁾ E apenas um da Espanha.⁽³⁷⁾ Isso pode ser explicado pela origem, ocorrência espontânea e abundante desse fruto na região da Ásia, o que facilita o acesso dos pesquisadores às amostras dessa espécie.

Sabe-se que os principais antioxidantes nos vegetais são as vitaminas C e E, os carotenóides e os compostos fenólicos, produtos de seu metabolismo secundário, especialmente os flavonoides.⁽⁴³⁾ Estudos recentes citam uma grande quantidade de compostos fenólicos no extrato de casca de *Punica granatum*, destacando sua excelente atividade antimicrobiana,⁽⁴⁴⁾ antiinflamatória,⁽⁴²⁾ e principalmente, antioxidante.⁽⁴⁵⁾

As melhores atividades antioxidantes foram associadas aos extratos da casca de romã na forma líquida, que também apresentavam os maiores teores de compostos fenólicos.^(32,33,41) Isso sugere que esses compostos fenólicos contribuem de forma relevante para a atividade antioxidante dessa planta. Resultado similar foi observado por *Zago et al.*,⁽³⁵⁾ que correlacionou à atividade antioxidante da casca de romã com a presença de fenóis totais e flavonóides. Entretanto, outras substâncias também podem contribuir para a atividade antioxidante do extrato aquoso da casca de romã, *Andrés et al.*,⁽³⁷⁾ identificaram compostos carotenoides em seus ensaios, eles identificaram um conteúdo de carotenos de 122.87 ± 6.78 µg de licopenos por grama de extrato. A atividade antioxidante de carotenoides pode estar relacionada à prevenção de várias doenças. Estudos apontam que a função antioxidante dos carotenóides desempenha um papel importante na redução do risco de câncer, catarata, aterosclerose e no processo de envelhecimento.⁽⁴⁶⁾ O licopeno, entre os carotenóides naturais, funciona como um antioxidante muito potente é capaz de reduzir a mutagênese e, em concentrações fisiológicas, pode inibir o crescimento de células humanas cancerígenas.^(47,48)

De acordo com *Zago et al.*,⁽³⁵⁾ nenhuma diferença foi observada no potencial antioxidante entre o extrato aquoso líquido e liofilizado. No entanto, o extrato

liofilizado apresentou maior quantidade de polifenol total do que o extrato aquoso líquido, indicando que esta técnica de processamento pode aumentar as concentrações de compostos ativos.

Os principais compostos fenólicos identificados nas amostras foram α e β -punicalagina, ácido elágico e três de seus derivados (hexosídeo, pentosídeo e desoxihexosídeo). Houve predomínio da punicalagina seguido por grandes quantidades de ácido elágico, que é um potente antioxidante, e seus derivados.

Conclusão

A água, como solvente, se mostrou eficiente na extração de compostos fenólicos, dentre eles o ácido elágico, e carotenoides, sendo todos esses compostos responsáveis pela atividade antioxidante da romã. Os estudos confirmaram a forte influência do método de extração sobre o potencial antioxidante, revelando que ao aumentar a área de contato da casca do fruto, através da obtenção de um pó finamente dividido, com água aquecida resultará na melhor forma de extração aquosa com alto poder antioxidante. Por fim, o uso de extrato aquoso da casca da romã como ativo cosmético de ação antioxidante contribui para a produção de produtos mais sustentáveis.

Referências bibliográficas

- 1 Ahmad S, Zeb A, Ayaz M, Murkovic M. Characterization of phenolic compounds using UPLC-HRMS and HPLC-DAD and anti-cholinesterase and anti-oxidant activities of *Trifolium repens* L. leaves. *European Food Research Technology*. 2020;246(3),485-96. DOI: [10.1007/s00217-019-03416-8](https://doi.org/10.1007/s00217-019-03416-8)
- 2 Andrade MA, Lima V, Sanches Silva A, Vilarinho F, Castilho MC, Khwaldia K, *et al.* Pomegranate and grape by-products and their active compounds: Are they a valuable source for food applications? *Trends in Food Science Technology*. 2019;86:68-84. DOI: [10.1016/j.tifs.2019.02.010](https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.02.010)
- 3 Carocho M, Barreiro MF, Morales P, Ferreira ICFR. Adding Molecules to Food, Pros and Cons: A Review on Synthetic and Natural Food Additives. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 2014;13(4):377-99. DOI: [10.1111/1541-4337.12065](https://doi.org/10.1111/1541-4337.12065)

- 4 Jiang J, Xiong Y. Natural antioxidants as food and feed additives to promote health benefits and quality of meat products: A review. *Meat Science*. 2016;120:107-17. DOI: [10.1016/j.meatsci.2016.04.005](https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2016.04.005)
- 5 Barraza-Garza G, Pérez-León JA, Castillo-Michel H, de la Rosa LA, Martínez-Martínez A, Cotte M, *et al.* Antioxidant effect of phenolic compounds (PC) at different concentrations in IEC-6cells: A spectroscopic analysis. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. 2020;227:117570. DOI: [10.1016/j.saa.2019.117570](https://doi.org/10.1016/j.saa.2019.117570)
- 6 Yousefian M, Shakour N, Hosseinzadeh H, Hayes AW, Hadizadeh F, Karimi G. The natural phenolic compounds as modulators of NADPH oxidases in hypertension. *Phytomedicine: international journal of phytotherapy and phytopharmacology*. 2019;55:200-213. DOI: [10.1016/j.phymed.2018.08.002](https://doi.org/10.1016/j.phymed.2018.08.002)
- 7 Granato D, Mocan A, C[^]amara JS. Is a higher ingestion of phenolic compounds the best dietary strategy? A scientific opinion on the deleterious effects of polyphenols in vivo. *Trends in Food Science Technology*. 2020;98:162-166. DOI: [10.1016/j.tifs.2020.01.010](https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.01.010)
- 8 Bodoira R, Maestri D. Phenolic Compounds from Nuts: Extraction, Chemical Profiles and Bioactivity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2020;68(4):927-942. DOI: [10.1021/acs.jafc.9b07160](https://doi.org/10.1021/acs.jafc.9b07160)
- 9 Magrone T, Magrone M, Russo MA, Jirillo E. Recent Advances on the Anti-Inflammatory and Antioxidant Properties of Red Grape Polyphenols: In Vitro and In Vivo Studies. *Antioxidants*. 2019;9(1):35. DOI: [10.3390/antiox9010035](https://doi.org/10.3390/antiox9010035)
- 10 Russo M, Fanali C, Tripodo G, Dugo P, Muleo R, Dugo L, *et al.* Analysis of phenolic compounds in different parts of pomegranate (*Punica granatum*) fruit by HPLC-PDA-ESI/MS and evaluation of their antioxidant activity: application to different Italian varieties. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 2018;410(15):3507-3520. DOI: [10.1007/s00216-018-0854-8](https://doi.org/10.1007/s00216-018-0854-8)
- 11 Fischer UA, Carle R, Kammerer DR. Identification and quantification of phenolic compounds from pomegranate (*Punica granatum* L.) peel, mesocarp, aril and differently produced juices by HPLC-DAD-ESI/MSn. *Food Chemistry*. 2011;127(2):807-21. DOI: [10.1016/j.foodchem.2010.12.156](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.12.156)
- 12 Nascimento M, Cardoso J, Santos T, Tavares L, Pashirova T, Severino P, *et al.* Development and Characterization of Biointeractive Gelatin Wound Dressing Based on Extract of *Punica granatum* Linn. *Pharmaceutics*. 2020;12(12):1204. DOI: [10.3390/pharmaceutics12121204](https://doi.org/10.3390/pharmaceutics12121204)
- 13 Magangana TP, Makunga NP, Fawole OA, Opara UL. Processing Factors Affecting the Phytochemical and Nutritional Properties of Pomegranate (*Punica granatum* L.) Peel Waste: A Review. *Molecules*. 2020;25(20):4690. DOI: [10.3390/molecules25204690](https://doi.org/10.3390/molecules25204690)

- 14 Akalın AC, Bayram M, Anlı RE. Antioxidant phenolic compounds of pomegranate wines produced by different maceration methods. *Journal of the Institute of Brewing*. 2018;124(1):38-44. DOI: [10.1002/jib.468](https://doi.org/10.1002/jib.468)
- 15 Sreekumar S, Sithul H, Muraleedharan P, Azeez J, Sreeharshan S. Pomegranate Fruit as a Rich Source of Biologically Active Compounds. *BioMed research international*. 2014;2014:686921. DOI: [10.1155/2014/686921](https://doi.org/10.1155/2014/686921)
- 16 Qahir A, Kakar AUR, Khan N, Samiullah, Hakeem A, Kamal R, et al. The antioxidant, antimicrobial, and clinical effects with elemental contents of Pomegranate (*Punica granatum*) Peel Extraction: A Review. *Baghdad Journal of Biochemistry and Applied Biological Sciences*. 2021;2:21-8. DOI: [10.47419/bjbabs.v2i01.33](https://doi.org/10.47419/bjbabs.v2i01.33)
- 17 Morzelle M, Salgado J, Massarioli A, Bachiega P, Rios A, Alencar S, et al. Potential benefits of phenolics from pomegranate pulp and peel in Alzheimer's disease: antioxidant activity and inhibition of acetylcholinesterase. *Journal of Food Bioactives*. 2019;5:136-141. DOI: [10.31665/JFB.2019.5181](https://doi.org/10.31665/JFB.2019.5181)
- 18 Dzugan M, Wesołowska M, Zagula G, Puchalski C. The comparison of the physicochemical parameters and antioxidant activity of homemade and commercial pomegranate juices. *Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria*. 2018;17(1):59-68. DOI: [10.17306/J.AFS.0529](https://doi.org/10.17306/J.AFS.0529)
- 19 Vazquez-Olivo G, Gutiérrez-Grijalva EP, Heredia JB. Prebiotic compounds from agro-industrial by-products. *Journal of Food Biochemistry*. 2019;43(6):e12711. DOI: [10.1111/jfbc.12711](https://doi.org/10.1111/jfbc.12711)
- 20 Chen J, Yang J, Ma L, Li J, Shahzad N, Kim C. Structure-antioxidant activity relationship of methoxy, phenolic hydroxyl, and carboxylic acid groups of phenolic acids. *Scientific Reports*. 2020;10:2611. DOI: [10.1038/s41598-020-59451-z](https://doi.org/10.1038/s41598-020-59451-z)
- 21 Wang G, Liu Y, Zhang L, An L, Chen R, Liu Y, et al. Computational study on the antioxidant property of coumarin-fused coumarins. *Food Chemistry*. 2020;304:125446. DOI: [10.1016/j.foodchem.2019.125446](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125446)
- 22 Kandyli P, Kokkinomagoulos E. Food Applications and Potential Health Benefits of Pomegranate and its Derivatives. *Foods*. 2020;9(2):122. DOI: [10.3390/foods9020122](https://doi.org/10.3390/foods9020122)
- 23 Tamborlin L, Sumere B, Souza M, Pestana N, Aguiar A, Eberlin M, et al. Characterization of pomegranate peel extracts obtained using different solvents and their effects on cell cycle and apoptosis in leukemia cells. *Food Science Nutrition*. 2020;08:5483-96. DOI: [10.1002/fsn3.1831](https://doi.org/10.1002/fsn3.1831)
- 24 Bai R, Yong H, Zhang X, Liu J, Liu J. Structural characterization and protective effect of gallic acid grafted O-carboxymethyl chitosan against

hydrogen peroxide-induced oxidative damage. International Journal of Biological Macromolecules. 2020;143:49-59. DOI: [10.1016/j.ijbiomac.2019.12.037](https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.12.037)

25 Shahidi F, Vamadevan V, Oh W, Peng H. Phenolic compounds in agri-food by-products, their bioavailability and health effects. J. Food Bioact. 2019;5:57-119. DOI: [10.31665/JFB.2019.5178](https://doi.org/10.31665/JFB.2019.5178)

26 da Silva Lima R, Ferreira SRS, Vitali L, Block JM. May the superfruit red guava and its processing waste be a potential ingredient in functional foods? Food Research International. 2019;115:451-459. DOI: [10.1016/j.foodres.2018.10.053](https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.10.053)

27 Chukwuma CI, Mashele SS, Akuru EA. Evaluation of the in vitro -amylase inhibitory, antiglycation, and antioxidant properties of Punica granatum L. (pomegranate) fruit peel acetone extract and its effect on glucose uptake and oxidative stress in hepatocytes. Journal of Food Biochemistry. 2020;44(5):e13175. DOI: [10.1111/jfbc.13175](https://doi.org/10.1111/jfbc.13175)

28 Harnly J. Antioxidant methods. Journal of Food Composition and Analysis. 2017;64:145-146. DOI: [10.1016/j.jfca.2017.08.011](https://doi.org/10.1016/j.jfca.2017.08.011)

29 Golmakani MT, Keramat M, Zare Darniyani L. A Kinetic Approach to the Oxidation of Linseed Oil as Influenced by Fruit Peel and Seeds of Pomegranate. European Journal of Lipid Science and Technology. 2019;122(2):1900084. DOI: [10.1002/ejlt.201900084](https://doi.org/10.1002/ejlt.201900084)

30 Sridhar K, Charles AL. In vitro antioxidant activity of Kyoho grape extracts in DPPH and ABTS assays: Estimation methods for EC50 using advanced statistical programs. Food Chemistry. 2019;275:41-49. DOI: [10.1016/j.foodchem.2018.09.040](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.09.040)

31 Ruiz-Torralba A, Guerra-Hernández EJ, García-Villanova B. Antioxidant capacity, polyphenol content and contribution to dietary intake of 52 fruits sold in Spain. CyTA - Journal of Food. 2018;16(1):1131-8. DOI: [10.1080/19476337.2018.1517828](https://doi.org/10.1080/19476337.2018.1517828)

32 Pengkumsri N, Kaewdoo K, Leeprechanon W, Sivamaruthi BS. Influence of Extraction Methods on Total Phenolic Content and Antioxidant Properties of Some of the Commonly Used Plants in Thailand. Pakistan journal of biological sciences : PJBS. 2019;22(3):117-26. DOI: [10.3923/pjbs.2019.117.126](https://doi.org/10.3923/pjbs.2019.117.126)

33 Aboelsoued D, Abo-Aziza F, Mahmoud M, Abdel Megeed K, El Ezz N, Abu-Salem F. Anticryptosporidial effect of pomegranate peels water extract in experimentally infected mice with special reference to some biochemical parameters and antioxidant activity. Journal of Parasitic Diseases. 2019;43(2):215-228. DOI: [10.1007/s12639-018-01078-z](https://doi.org/10.1007/s12639-018-01078-z)

34 Sandhya S, Khamrui K, Prasad W, Kumar MCT. Preparation of pomegranate peel extract powder and evaluation of its effect on functional properties and shelf life of curd. LWT. 2018;92:416-21. DOI: [10.1016/j.lwt.2018.02.057](https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.02.057)

- 35 Zago G, Gottardo F, Bilibio D, Freitas C, Bertol C, Dickel E, *et al.* Pomegranate (*Punica granatum* L.) peel lyophilized extract delays lipid oxidation in tuscan sausages. *Ciência Rural*. 2020;50(4);e20190689. DOI: [10.1590/0103-8478cr20190689](https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20190689)
- 36 Uddandrao VVS, Parim B, Nivedha P, Swapna K, Rameshreddy P, Vadivukkarasi S, *et al.* Anticancer activity of pomegranate extract: effect on hematological and antioxidant profile against ehrlich-ascites-carcinoma in Swiss albino mice. *Oriental Pharmacy and Experimental Medicine*. 2018;243-50 DOI: [10.1007/s13596-018-0348-4](https://doi.org/10.1007/s13596-018-0348-4)
- 37 Andrés AI, Petrón MJ, Adámez JD, López M, Timón ML. Food byproducts as potential antioxidant and antimicrobial additives in chill stored raw lamb patties. *Meat Science*. 2017;129:62-70. DOI: [10.1016/j.meatsci.2017.02.013](https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2017.02.013)
- 38 Sharayei P, Azarpazhooh E, Zomorodi S, Ramaswamy HS. Ultrasound assisted extraction of bioactive compounds from pomegranate (*Punica granatum* L.) peel. *LWT- Food Science and Technology*. 2019;101:342-50. DOI: [10.1016/j.lwt.2018.11.031](https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.11.031)
- 39 Sharayei P, Azarpazhooh E, Ramaswamy H. Effect of microencapsulation on antioxidant and antifungal properties of aqueous extract of pomegranate peel. *Journal of Food Science and Technology*. 2020;57(2):723-33. DOI: [10.1007/s13197-019-04105-w](https://doi.org/10.1007/s13197-019-04105-w)
- 40 Jacob J, Lakshmanapermalsamy P, Illuri R, Bhosle D, Sangli G, Mundkinajeddu D. In vitro Evaluation of Antioxidant Potential of Isolated Compounds and Various Extracts of Peel of *Punica granatum* L. *Pharmacognosy Research*. 2018;10(1):44-8. DOI: [10.4103/pr.pr_36_37](https://doi.org/10.4103/pr.pr_36_37)
- 41 Chaves F, Pavan I, Silva L, Freitas L, Rostagno M, Antunes A, *et al.* Pomegranate Juice and Peel Extracts are Able to Inhibit Proliferation, Migration and Colony Formation of Prostate Cancer Cell Lines and Modulate the Akt/mTOR/S6K Signaling Pathway. *Plant Foods for Human Nutrition*. 2020;75(1):54-62. DOI: [10.1007/s11130-019-00776-0](https://doi.org/10.1007/s11130-019-00776-0)
42. Macedo D, Souza H, Guimarães M. Ação antimicrobiana e anti-inflamatória da *Punica granatum* L. (romã) no tratamento da doença periodontal: uma revisão de literature. *Revista Sade - UNG-Ser*. 2020;14:51-8. DOI: [10.33947/1982-3282-v14n1-2-4351](https://doi.org/10.33947/1982-3282-v14n1-2-4351)
43. Podsedek A. Natural antioxidants and antioxidant capacity of Brassica vegetables: A review. *LWT - Food Science and Technology*. 2007;40(1):1-11 DOI: [10.1016/j.lwt.2005.07.023](https://doi.org/10.1016/j.lwt.2005.07.023)
44. Panichayupakaranant P, Tewtrakul S, Yuenyongsawad S. Antibacterial, antiinflammatory and anti-allergic activities of standardised pomegranate rind extract. *Food Chemistry*. 2010;123(2):400-3. DOI: [10.1016/J.FOODCHEM.2010.04.054](https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2010.04.054)

45. Lee CJ, Chen LG, Liang WL, Wang CC. Multiple Activities of *Punica granatum* Linne against *Acne Vulgaris*. *International Journal of Molecular Sciences*. 2017;18(1):141. DOI: [10.3390/ijms18010141](https://doi.org/10.3390/ijms18010141)
46. Damodaran S, Parkin KL. *Fennema's Food Chemistry*. 5th Edition. London, New York: CRC Press; 2007. 1160 p.
- 47 Scolastici C, Lima R, Barbisan LF, Ferreira A, Ribeiro DA, Salvadori D. Antigenotoxicity and antimutagenicity of lycopene in HepG2 cell line evaluated by the comet assay and micronucleus test. *Toxicology in vitro: an international journal published in association with BIBRA*. 2008;22:510-4. DOI: [10.1016/j.tiv.2007.11.002](https://doi.org/10.1016/j.tiv.2007.11.002)
- 48 Silva M, Costa R, Santana A, Koblitz M. Phenolic compounds, carotenoids and antioxidant activity in plant products. *Semina: Ciências Agrárias*. 2010;31(3):669-82. DOI: [10.5433/1679-0359.2010v31n3p669](https://doi.org/10.5433/1679-0359.2010v31n3p669)

Conflito de interesses

Os autores declaram que não existe conflito de interesses.

Financiamento

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.