

# IV Congresso Nacional das Escolas Superiores Agrárias

3 e 4 de novembro de 2022

---

## SANTARÉM



INVESTIGAÇÃO & INOVAÇÃO AGRÁRIA:  
UM CONTRIBUTO PARA A VALORIZAÇÃO TERRITORIAL



Livro de resumos do  
IV Congresso Nacional das Escolas Superiores Agrárias

## [8494] CARATERIZAÇÃO E EXTRAÇÃO OTIMIZADA DE COMPOSTOS BIOATIVOS DE CASCA DE MARMELO

**ALEXIS PEREIRA**<sup>1</sup>, MIKEL AÑIBARRO-ORTEGA<sup>1</sup>, ANA CIRIĆ<sup>2</sup>, MARIA INÊS DIAS<sup>1</sup>, MARINA SOKOVIĆ<sup>2</sup>, JOSÉ PINELA<sup>1\*</sup>, LILLIAN BARROS<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Centro de Investigação de Montanha (CIMO), Instituto Politécnico de Bragança, Campus de Santa Apolónia, 5300-253 Bragança, Portugal. jpinela@ipb.pt

<sup>2</sup>Institute for Biological Research “Siniša Stanković” – National Institute of Republic of Serbia, University of Belgrade, Bulevar Despota Stefana 142, 11000 Belgrade, Serbia.

**Resumo:** O marmelo é o ingrediente-chave da marmelada, um doce produzido com o mesocarpo deste fruto, enquanto o epicarpo ou casca é descartado. Porém, estudos anteriores descrevem que este subproduto possui polifenóis bioativos com potencial aplicação na formulação de ingredientes para alimentos e bebidas. Portanto, este trabalho teve como objetivo caracterizar a composição química da casca de marmelo e otimizar a extração de compostos de elevado valor acrescentado. A composição química foi avaliada seguindo métodos da AOAC Internacional e técnicas cromatográficas. Para otimização da extração dos compostos de interesse, as variáveis tempo, percentagem de etanol e temperatura foram analisadas mediante um desenho de composto central acoplado à metodologia de superfície de resposta. A atividade antioxidante foi avaliada via inibição da peroxidação lipídica e da hemólise oxidativa *in vitro* e a atividade antimicrobiana foi testada por métodos de microdiluição. Verificou-se que a casca de marmelo é rica em fibra, ácidos orgânicos e flavan-3-óis. Os processos de extração otimizados e validados experimentalmente permitiram obter extratos ricos em ácido málico e polifenóis com atividade antioxidante e antimicrobiana contra bactérias e fungos transmitidos por alimentos. Por outro lado, os resíduos das extrações foram valorizados como fonte de fibra. Os resultados obtidos evidenciaram o potencial bioativo e conservante do extrato de casca de marmelo produzido sob condições ótimas de extração.

**Palavras-chave:** *Cydonia oblonga* Mill.; Otimização de extrações; Bioatividade; Valorização de subprodutos.

**Agradecimentos:** À Fundação para a Ciência e Tecnologia (FCT) pelo apoio financeiro através dos fundos nacionais FCT/MCTES ao CIMO (UIDB/00690/2020); à FCT pelos contratos de M.I. Dias (CEECINS), J. Pinela (CEECIND/01011/2018) e L. Barros (CEECINS) e pela bolsa de doutoramento de M. Añibarro-Ortega (2020.06297.BD). A. Pereira agradece a sua bolsa de investigação no âmbito do projeto IntegraValor (POCI-01-0247-FEDER-072241). Ao Ministério da Educação, Ciência e Desenvolvimento Tecnológico da República da Sérvia (451-03-9/2021-14/200007). Trabalho financiado pelo Fundo Europeu de Desenvolvimento Regional (FEDER) através do Programa Operacional Regional Norte 2020, no âmbito do Projeto Mobilizador Norte-01-0247-FEDER-024479: ValorNatural<sup>®</sup> e do Projeto Norte-01-0145-FEDER-000042: GreenHealth.





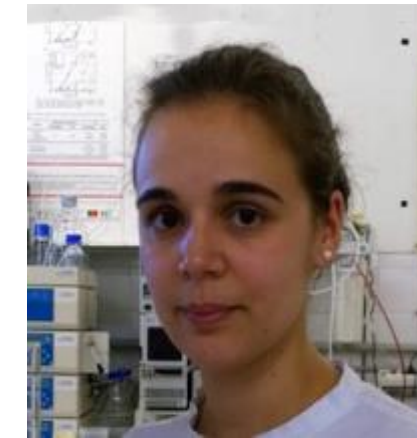
Alexis Pereira<sup>1,2</sup>



Mikel Añibarro-Ortega<sup>1,2</sup>



Ana Cirić<sup>3</sup>



Maria Inês Dias<sup>1,2</sup>



Marina Soković<sup>3</sup>



José Pinela<sup>1,2</sup>



Lillian Barros<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Centro de Investigação de Montanha (CIMO), Instituto Politécnico de Bragança, Campus de Santa Apolónia, 5300-253 Bragança, Portugal

<sup>2</sup> Laboratório Associado para a Sustentabilidade e Tecnologia em Regiões de Montanha (SusTEC), Instituto Politécnico de Bragança, Portugal

<sup>3</sup> University of Belgrade Institute for Biological Research "Siniša Stanković", 142 Bulevar despota Stefana, Belgrade, Serbia

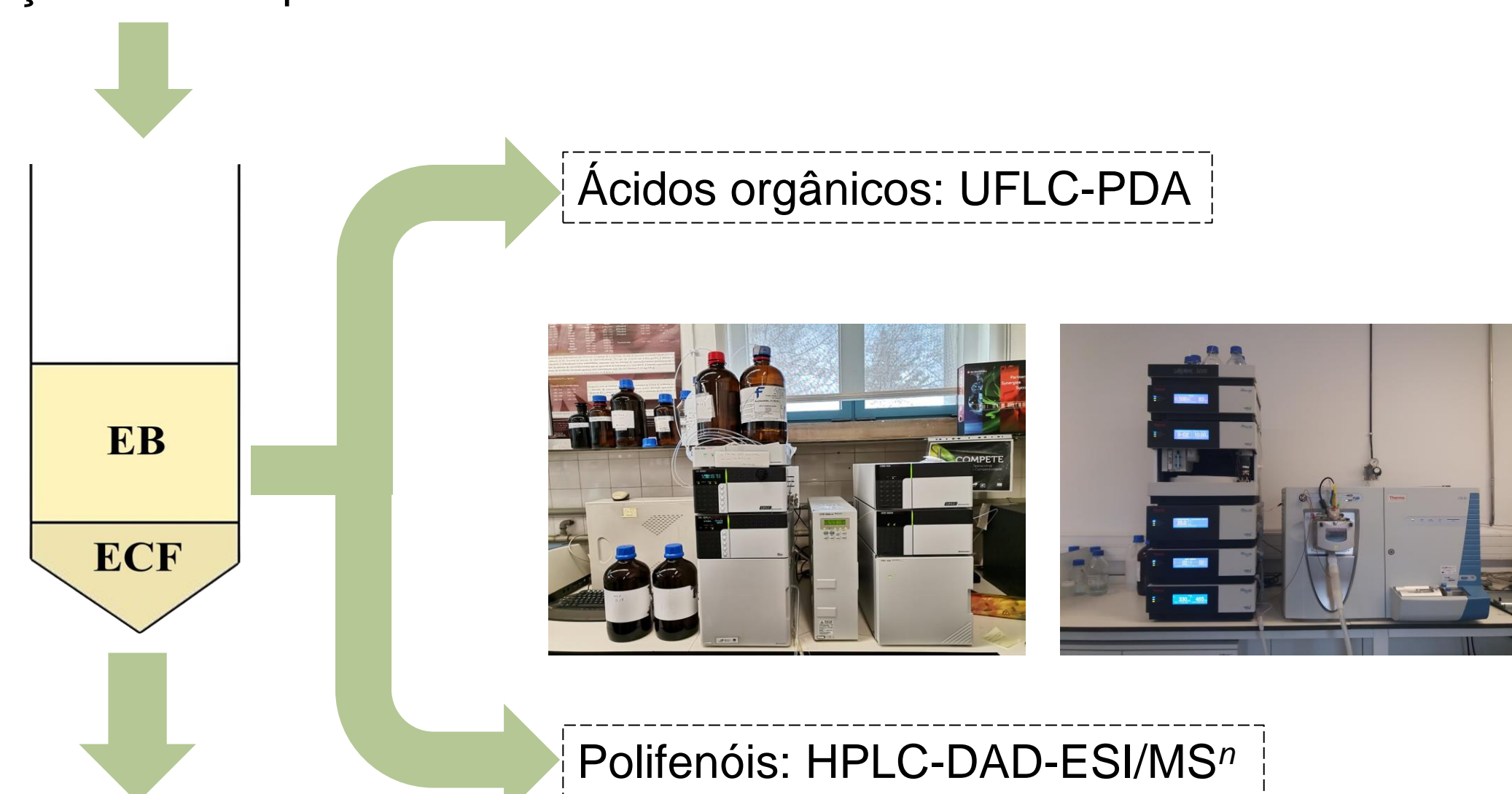
## Introdução

O marmelo é o fruto amarelo da árvore de folha caduca *Cydonia oblonga* Mill. Este é o ingrediente-chave da marmelada, um doce típico produzido do mesocarpo deste fruto, enquanto o epicarpo é descartado como subproduto. Portanto, o objetivo deste trabalho foi caraterizar a composição química da casca do marmelo e otimizar a extração de compostos de elevado valor acrescentado.

## Metodologia

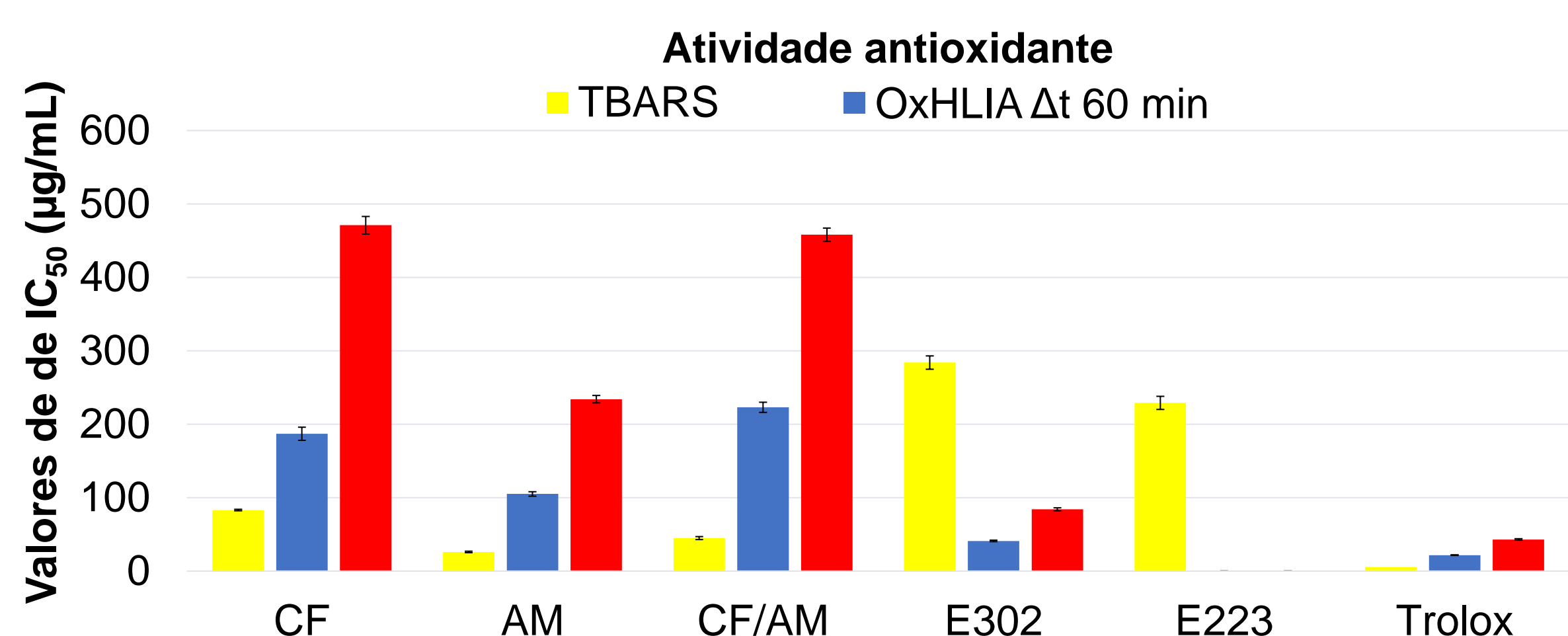
A otimização da extração dos compostos de interesse a partir da casca do marmelo teve em conta as variáveis tempo (1–119 min), temperatura (25–95 °C) e percentagem de etanol (0–100%), que foram analisadas consoante um desenho de composto central rotativo acoplado a metodologia de superfície de resposta. A composição química foi avaliada segundo os métodos da AOAC Internacional e técnicas cromatográficas (Figura 1). A atividade antioxidante foi avaliada via inibição da peroxidação lipídica (TBARS) e da hemólise oxidativa (OxHLIA) e a atividade antibacteriana foi testada por métodos de microdiluição, ambas *in vitro*.

Extração sólido-líquido



Fibras: Método enzimático-gravimétrico

**Figura 1.** Fração de extrato bioativo (EB) e fração de extrato concentrado em fibra (ECF) e respetivas análises químicas e cromatográficas.



**Figura 2.** Ensaios antioxidante *in vitro* de TBARS e OxHLIA dos extratos ricos em ácido málico, em polifenóis e ambos os compostos bioativos. Controlos positivos: E302, E223 e Trolox.

## Conclusão

Os resultados obtidos evidenciaram o potencial bioativo e conservante, principalmente devido à elevada presença de ácido málico e flavan-3-óis, nos extratos de casca de marmelo obtidos sob condições ótimas de extração, o qual pode ser aplicado futuramente em indústrias cosméticas, biotecnológicas/farmacêuticas e alimentares (para conservar e fortificar alimentos e bebidas).

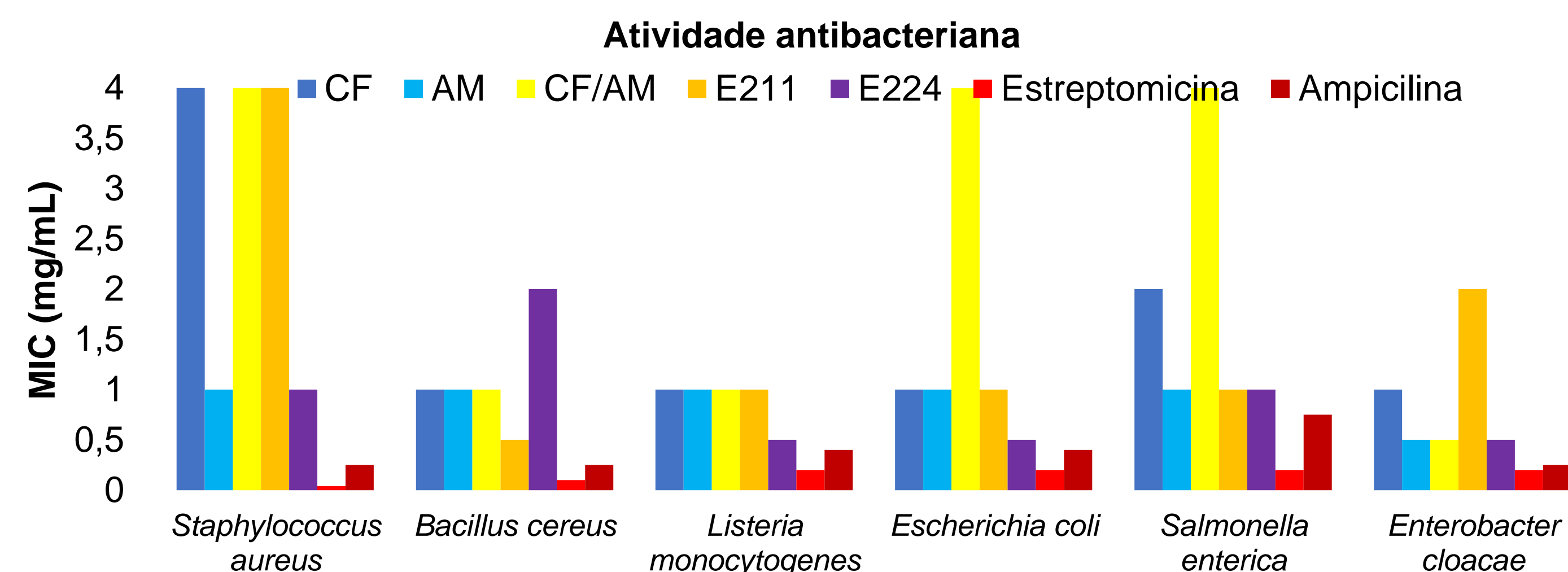
## Resultados e Discussão

O ácido orgânico identificado em maior abundância foi o ácido málico na 12ª execução do desenho experimental com 6,97%. Quanto aos polifenóis, identificaram-se três grupos: ácidos fenólicos, flavan-3-óis e flavonóis, sendo que os flavan-3-óis (2,62-4,45 mg/g) e os flavonóis (1,81-2,25 mg/g) foram os mais e menos abundantes, respetivamente. Relativamente às fibras, o seu conteúdo variou entre 52,46 e 65,55%.

**Tabela 1.** Conteúdos de ácido málico, ácidos fenólicos, flavan-3-óis, flavonóis e fibra dietética total dos extratos de casca de marmelo nas 20 execuções do desenho experimental.

Execuções	Domínio experimental			Variáveis dependentes				
	t (min)	T (°C)	S (%)	AM (%)	AF (mg/g)	F3O (mg/g)	FL (mg/g)	FDT (%)
1	25	40	20	6,43	3,26	4,36	2,15	57,84
2	95	40	20	4,59	3,72	4,17	2,10	56,78
3	25	80	20	6,43	3,39	4,08	2,02	64,44
4	95	80	20	6,63	3,74	4,45	1,94	62,65
5	25	40	80	0,59	2,26	2,68	1,92	57,27
6	95	40	80	0,79	2,76	3,38	1,81	58,66
7	25	80	80	4,32	2,20	2,88	2,02	57,73
8	95	80	80	6,18	3,08	3,85	1,96	57,53
9	1	60	50	3,95	2,82	3,86	2,25	57,21
10	119	60	50	5,07	3,71	4,23	2,10	58,64
11	60	26	50	2,90	3,26	3,76	1,85	59,83
12	60	94	50	6,97	3,39	3,83	1,82	65,55
13	60	60	0	6,06	3,56	4,13	2,09	55,33
14	60	60	100	1,63	2,00	2,62	1,88	52,46
15	60	60	50	4,60	2,90	3,50	2,03	59,95
16	60	60	50	4,72	2,61	3,08	1,98	58,11
17	60	60	50	5,37	3,03	3,40	2,05	59,35
18	60	60	50	4,57	2,64	3,07	2,00	57,86
19	60	60	50	4,75	2,64	3,07	2,09	57,94
20	60	60	50	5,41	2,88	3,34	1,94	60,48

Os processos de extração otimizados e validados experimentalmente permitiram obter extratos ricos em ácido málico (AM), polifenóis (CF) e ambos os compostos bioativos (CF/AM) com atividade antioxidante e antibacteriana contra bactérias transmitidos por alimentos, tal como se pode verificar na Figura 2 e Figura 3.



**Figura 3.** Ensaio antibacteriano dos extratos ricos em ácido málico, em polifenóis e ambos os compostos bioativos. Controlos positivos: E211, E224, estreptomicina e ampicilina.

## Agradecimentos

Os autores agradecem à Fundação para a Ciência e Tecnologia (FCT) pelo apoio financeiro através dos fundos nacionais FCT/MCTES ao CIMO (UIDB/00690/2020) e SusTEC (LA/P/0007/2021); à FCT pelos contratos de M.I. Dias (CEECINS), J. Pinela (CEECIND/01011/2018) e L. Barros (CEECINS) e pela bolsa de doutoramento de M. Añibarro-Ortega (2020.06297.BD). A. Pereira agradece a sua bolsa de investigação no âmbito do projeto IntegraValor (POCI01-0247-FEDER-072241). Ao Ministério da Educação, Ciência e Desenvolvimento Tecnológico da República da Sérvia (451-03-9/2021-14/200007). Trabalho financiado pelo Fundo Europeu de Desenvolvimento Regional (FEDER) através do Programa Operacional Regional Norte 2020, no âmbito do Projeto Mobilizador Norte-01-0247-FEDER-024479: ValorNatural@ e do Projeto Norte-01-0145-FEDER-000042: GreenHealth.