

## Sementes de pitanga (*Eugenia uniflora* L.): potencial antioxidante e perfil de ácidos graxos

### Pitanga (*Eugenia uniflora* L.) seeds: antioxidant potential and fatty acids profile

RIALA6/1274

Débora Maria Moreno LUZIA<sup>1</sup>, Bruna Jorge BERTANHA<sup>2</sup>, Neuza JORGE<sup>1\*</sup>

\*Endereço para correspondência: Departamento de Engenharia e Ciência dos Alimentos, Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, Universidade Estadual Paulista - UNESP. Rua Cristóvão Colombo, 2265, CEP: 15054-000, São José do Rio Preto/SP, Tel.: (17) 3221-2257. E-mail: njorge@ibilce.unesp.br

<sup>1</sup>Departamento de Engenharia e Tecnologia de Alimentos, Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, Universidade Estadual Paulista - UNESP. São José do Rio Preto/SP

<sup>2</sup>Departamento de Engenharia de Alimentos, Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo.

Recebido: 28.08.2009 – Aceito para publicação: 17.03.2010

#### RESUMO

As sementes de pitanga foram analisadas quanto à composição centesimal, bem como o potencial antioxidante e o perfil dos ácidos graxos. Para a obtenção do extrato, as sementes desidratadas e trituradas foram extraídas com álcool etílico por 30 minutos, na proporção de 1:3 de sementes:álcool etílico, sob agitação contínua à temperatura ambiente. Em seguida, a mistura foi filtrada e o sobrenadante submetido ao rotoevaporador a 40°C com vistas a determinar, por pesagem direta, o rendimento em matéria seca do extrato. De acordo com os resultados obtidos, as sementes de pitanga demonstraram elevado teor de carboidratos totais, além de apresentarem relevante atividade antioxidante e teor de compostos fenólicos totais. No óleo das sementes de pitanga destacou-se maior porcentagem de ácidos graxos insaturados, sendo o oleico o principal componente.

**Palavras-chave.** *Eugenia uniflora* L., compostos fenólicos, DPPH, cromatografia gasosa.

#### ABSTRACT

The purpose of the present investigation was to characterize the pitanga seeds on centesimal composition, and also to evaluate its antioxidant potential and fatty acid profile. For obtaining the extract, the dehydrated and ground seeds were treated with ethyl alcohol for 30 minutes, at a proportion of 1:3 of seeds:ethyl alcohol, under continuous agitation at room temperature. Afterwards, the mixture was filtered and the supernatant was placed into a rotoevaporator at 40°C for determining the extract's dry matter yield, by direct weighing. According to the results, the seeds of cherry showed high amounts of carbohydrates, and offer relevant content and antioxidant activity of phenolic compounds. In the seed oil, cherry high lighted a higher percentage of unsaturated fatty acids, oleic being the main component.

**Key words.** *Eugenia uniflora* L., total phenolic compounds, DPPH, gas chromatography.

## INTRODUÇÃO

As frutas, além de fornecerem componentes importantes para desempenharem funções básicas do organismo como, por exemplo, ácido ascórbico,  $\beta$ -caroteno e ácido fólico, são fontes de antioxidantes naturais<sup>1</sup>. Entre os mais importantes antioxidantes estão os compostos fenólicos (flavonoides, ácidos fenólicos e taninos), compostos nitrogenados (alcaloides, aminoácidos, peptídeos, aminas e derivados da clorofila), carotenoides, tocoferóis e ácido ascórbico<sup>2</sup>.

Muitos subprodutos de origem agroindustrial contêm compostos fenólicos com potencial aplicação como antioxidante em alimentos<sup>3,4</sup>. Alguns compostos antioxidantes têm sido identificados em sementes de frutas, entretanto, existem poucos estudos relatando a atividade antioxidante de sementes de frutas tropicais e subtropicais<sup>5,6</sup>.

Existem diversos métodos utilizados para a identificação e quantificação destes antioxidantes naturais, dentre eles podem ser citados o método TBA (valor do ácido tiobarbitúrico), a determinação dos compostos fenólicos totais, o sistema do  $\beta$ -caroteno/ácido linoleico, a Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE), e os métodos de detecção de sequestradores de radicais livres, como o 2,2-azino-bis (3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico) (ABTS) e o 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH)<sup>7</sup>.

No teste do DPPH, a ação do radical DPPH é acompanhada pelo monitoramento da diminuição da absorvância a 515 nm, que ocorre devido a sua reação com algum antioxidante ou com algum radical livre. O DPPH é um radical livre, estável à temperatura ambiente, que produz uma coloração violeta quando em contato com etanol. Este radical é reduzido na presença de uma molécula de antioxidante doador de hidrogênio. O DPPH captura os hidrogênios mudando a coloração de violeta para amarelo, passando para sua forma estável DPPH-H. O radical DPPH mostra forte banda de absorção em 515 nm<sup>7</sup>.

Alguns estudos demonstraram que a interação entre antioxidante e DPPH depende de sua conformação estrutural. O número de moléculas de DPPH reduzidas está relacionado com o número de grupos hidroxilas disponíveis no composto antioxidante<sup>8</sup>.

Os compostos fenólicos têm recebido atenção nos últimos anos por sua ação antioxidante, inibindo a peroxidação lipídica e a lipoxigenase *in vitro*. Estes compostos desempenham um papel importante, agindo tanto na etapa de iniciação como na propagação do processo oxidativo<sup>9</sup>.

Antioxidantes fenólicos funcionam como sequestradores de radicais livres, doando um átomo de hidrogênio a um radical lipídico, e algumas vezes como quelantes de metais. Os produtos intermediários, formados pela ação destes antioxidantes, são relativamente estáveis devido à ressonância do anel aromático apresentado por estas substâncias<sup>10</sup>. A eficiência do antioxidante fenólico é determinada pelos grupos funcionais presentes e pela posição que ocupam no anel aromático. O antioxidante com grupo etila ou butila na posição *para*, por exemplo, tem maior atividade do que o antioxidante com o grupo metila. A presença de grupos de cadeias longas ou ramificadas reduz a atividade antioxidante devido ao impedimento estrutural<sup>11</sup>.

Pesquisas vêm sendo realizadas visando também grande interesse médico e nutricional sobre os ácidos graxos ômega-3 e ômega-6 em alimentos. A composição em ácidos graxos dos alimentos é de grande importância, principalmente os poli-insaturados das famílias ômega-3 e ômega-6, aos quais se atribuem numerosos benefícios ao organismo humano. A família ômega-3 (PUFA n-3) compreende o ácido graxo essencial  $\alpha$ -linolênico (C18:3, n-3), do qual, por alongamento e dessaturação, são gerados os ácidos eicosapentaenoico (EPA – C20:5 n-3) e docosahexaenoico (DHA – C22:6 n-3)<sup>6</sup>. A família ômega-6 compreende o ácido graxo essencial linoleico, que pode originar o ácido araquidônico.

Epidemiologicamente, os ácidos graxos poli-insaturados ômega-3 mostram efeito benéfico na prevenção de vários tipos de câncer<sup>12</sup>. Os ômega-6 exercem importante papel fisiológico como potentes mediadores da inflamação e efeito benéfico sobre o sistema imune<sup>13</sup>.

Em estudo realizado por Jardini e Mancini-Filho<sup>14</sup>, o perfil de ácidos graxos do óleo extraído das sementes de romã apresentou elevada quantidade de ácidos linoleico e oleico, perfazendo um total de 70,09% de ácidos graxos insaturados.

O estudo detalhado da composição das sementes de pitanga contribuirá com os profissionais da área de alimentos para uma adequada orientação dietética, bem como na obtenção de dados que possam ser utilizados em tabelas de composição centesimal e de ácidos graxos de sua fração lipídica. A obtenção de dados referentes à composição de alimentos brasileiros tem sido estimulada com o objetivo de reunir informações atualizadas, confiáveis e adequadas à realidade nacional.

Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi determinar a composição centesimal, o potencial antioxidante e o perfil dos ácidos graxos de sementes de pitanga.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Matéria-prima

As frutas maduras colhidas diretamente da árvore de pitanga, adquiridas em novembro de 2007, foram provenientes de plantas localizadas no município de São José do Rio Preto/SP, região de clima tropical. Foram desprezadas as frutas que continham rachaduras, danificadas por insetos e/ou ataques de animais ou aves. Depois de selecionadas, as sementes foram lavadas ligeiramente com água destilada para remover resíduos de polpas e açúcares solúveis e, em seguida, foram colocadas em estufa a 35°C por um período de 24 horas para redução do teor de umidade e homogeneizadas para análises posteriores, realizadas em triplicata.

### Obtenção do extrato de sementes de pitanga

As sementes desidratadas e trituradas em moinho de faca foram extraídas com álcool etílico por 30 minutos, sob intensa agitação, na proporção de 1:3 (P/V) de sementes:álcool etílico à temperatura ambiente. Em seguida, a mistura foi filtrada e o sobrenadante submetido ao evaporador rotativo sob pressão reduzida a 40°C com vistas a determinar, por pesagem direta, o rendimento em matéria seca do extrato.

### Métodos analíticos

#### Determinação da composição centesimal

As determinações analíticas de umidade, lipídios e cinzas nas sementes foram realizadas de acordo com os métodos oficiais da AOCS<sup>15</sup>. As proteínas foram determinadas pelo método de Kjeldahl descrito pela AOAC<sup>16</sup> e os carboidratos totais foram quantificados pela diferença do valor obtido pela somatória de umidade, lipídios, proteínas e cinzas.

#### Medida da capacidade de sequestrar radicais livres (DPPH)

Este procedimento foi descrito por Brand-Williams et al.<sup>8</sup>. Preparou-se uma solução etanólica com concentração de 500 µg.mL<sup>-1</sup> de extrato de sementes de pitanga. Cada amostra desta solução (0,3 mL) foi adicionada a 2,7 mL de solução de DPPH (40 µg.mL<sup>-1</sup>) em diferentes concentrações (5, 10, 25, 50, 125 e 250 µg.mL<sup>-1</sup>). Após o tempo de reação de

30 minutos, a absorbância foi lida em 515 nm e convertida em porcentagem de atividade antioxidante (AA) por meio da seguinte fórmula:

$$AA (\%) = 100 - \left\{ \frac{(\text{Abs}_{\text{amostra}} - \text{Abs}_{\text{branco}}) \times 100}{\text{Abs}_{\text{controle}}} \right\}$$

Um controle foi feito com 2,7 mL de DPPH e o branco realizado com 0,3 mL de solução etanólica do extrato e 2,7 mL de etanol, para cada concentração.

### Compostos fenólicos totais

A quantificação de compostos fenólicos totais foi determinada por espectrofotometria, por meio do reagente de Folin-Ciocalteu, segundo a metodologia descrita por Singleton e Rossi<sup>17</sup>.

Neste procedimento, pipetou-se 100 µL da solução de extrato natural em tubos de ensaio e adicionou-se 500 µL do reagente de Folin-Ciocalteu. Em seguida, adicionou-se 1,5 mL de solução saturada de carbonato de sódio 20% e 6 mL de água destilada.

Essa mistura permaneceu em repouso por 2 horas em temperatura ambiente, e a absorbância foi determinada a 765 nm em cubetas de vidro, tendo como “branco” o metanol e todos os reagentes, menos o extrato. O teor de fenóis totais (FT) foi determinado por interpolação da absorbância das amostras contra uma curva de calibração construída com padrões de ácido gálico (10 a 500 mg.mL<sup>-1</sup>) e expressos como mg de EAG (equivalentes de ácido gálico) por g de extrato. A equação da curva de calibração do ácido gálico foi  $C = 0,0013A + 0,0127$ , onde  $C$  é a concentração do ácido gálico,  $A$  é a absorbância a 765 nm e o coeficiente de determinação  $R^2 = 0,9985$ .

### Perfil de ácidos graxos por cromatografia gasosa

Os ésteres metílicos dos ácidos graxos presentes nos óleos foram obtidos segundo procedimento descrito por Hartman e Lago<sup>18</sup>.

Para a análise cromatográfica de ácidos graxos, utilizou-se um cromatógrafo a gás marca Varian (Walnut Creek, USA), modelo GC 3900, equipado com detector de ionização de chama, injetor *split* e amostrador automático. Os compostos foram separados em coluna capilar de sílica fundida CP-Sil 88 de 50 m de comprimento, com diâmetro interno de 0,25 mm e espessura do filme de 0,20 mm.

A programação de temperatura da coluna foi iniciada em 50°C por 2 minutos, aquecida a 4°C.min<sup>-1</sup> até 240°C e mantida em isoterma durante 20,5 minutos. As temperaturas utilizadas no injetor e no detector foram 230

e 250°C, respectivamente. As amostras foram injetadas no volume de 1 mL, adotando-se a razão de divisão de 1:30. O gás de arraste foi o hidrogênio com velocidade linear de 30 mL.min<sup>-1</sup>.

Os ácidos graxos foram identificados pela comparação dos tempos de retenção de padrões puros de ésteres metílicos de ácidos graxos com os componentes separados das amostras e a quantificação foi feita por normalização de área (%). Utilizou-se como padrão uma mistura composta de 37 ésteres metílicos de ácidos graxos (Supelco, Bellefonte, USA), de C4:0 a C24:1, com pureza entre 99,1 e 99,9%.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### Composição centesimal

A composição centesimal ou percentual exprime de forma geral, o valor nutritivo de um alimento e corresponde à proporção dos grupos homogêneos de substâncias presentes em 100 g do alimento considerado. Os grupos de substâncias considerados homogêneos são aqueles que se encontram em todos os alimentos, a saber: umidade, lipídios ou extrato etéreo, proteínas, fibras, cinzas e glicídios, quando determinado por diferença.

Na Tabela 1 estão apresentadas as médias  $\pm$  desvio padrão da composição centesimal das sementes de pitanga. De acordo com os resultados obtidos, as sementes apresentaram 6,41% de umidade, uma vez que foram previamente secas. Embora tenham demonstrado baixo valor de lipídios 3,20%, verificou-se elevada quantidade de carboidratos totais (79,56%).

**Tabela 1.** Composição centesimal das sementes de pitanga, expressa em porcentagem

Macronutrientes	1	2	3	Média	DP*
	(%)	(%)	(%)	(%)	
Umidade	6,23	6,87	6,12	6,41	0,41
Lipídios	2,80	3,32	3,49	3,20	0,36
Proteínas	7,96	8,48	8,30	8,25	0,26
Cinzas	2,55	2,58	2,62	2,58	0,04
Carboidratos totais	80,46	78,75	79,47	79,56	0,39

\*DP, desvio-padrão das médias

### Atividade antioxidante

Os antioxidantes podem ser divididos em duas classes: com atividade enzimática e sem essa atividade. Na primeira, estão os compostos capazes de bloquear a iniciação da oxidação, ou seja, as enzimas que removem as espécies reativas ao oxigênio. Na segunda classe, estão moléculas que interagem com as espécies radiculares e são consumidas durante a reação. Nesta classificação, incluem-se os antioxidantes naturais e sintéticos como os compostos fenólicos.

**Tabela 2.** Determinações de rendimento, atividade antioxidante e compostos fenólicos totais do extrato de sementes de pitanga

Determinações	Extrato Seco
Rendimento (%)	21,12
AA <sub>máxima</sub> (%)	92,15
EC <sub>50</sub> (µg.mL <sup>-1</sup> )	30,72
Compostos fenólicos totais (mg.g <sup>-1</sup> )*	75,64

EC<sub>50</sub> é definido como a concentração suficiente para obter 50% do efeito máximo, estimado em 100%

\*mg de equivalentes de ácido gálico por g de extrato

AA = atividade antioxidante

A Tabela 2 apresenta o rendimento porcentual, bem como a porcentagem máxima de atividade antioxidante (AA<sub>máxima</sub>), o valor de EC<sub>50</sub> (µg.mL<sup>-1</sup>), o teor de compostos fenólicos totais (mg.g<sup>-1</sup>) do extrato de sementes de pitanga.

O rendimento em extrato seco foi de 21,12% em função do solvente utilizado. Segundo Fernandes et al<sup>19</sup>, esta porcentagem pode variar em função da espécie do fruto e da técnica usada para a extração.

A atividade antioxidante dos compostos, dada pelo valor de EC<sub>50</sub>, é calculada pela redução de 50% da concentração inicial de DPPH. Ressalta-se que quanto menor o valor de EC<sub>50</sub>, maior a atividade antioxidante do composto analisado.

O valor de EC<sub>50</sub>, obtido por regressão linear, para o extrato de pitanga, mostrou elevado coeficiente de determinação (R<sup>2</sup> = 0,9567). Os valores de atividade antioxidante máxima e EC<sub>50</sub> atingidos pelo extrato de sementes de pitanga foram de 92,15% e 30,72 mg.mL<sup>-1</sup>, respectivamente. Santos et al<sup>20</sup> encontraram elevado teor de atividade antioxidante para o extrato de sementes de mamão 98,92%.

A concentração de compostos fenólicos totais encontrada foi de 75,64 mg de equivalentes de ácido gálico por grama de extrato de pitanga. A extração de compostos fenólicos de produtos naturais é fortemente influenciada pelo solvente utilizado. Tem-se observado que quanto maior a polaridade do solvente de extração, maior a quantidade de compostos fenólicos extraídos<sup>21</sup>. Em estudo realizado por Malacrida et al<sup>22</sup>, empregando sementes de melão, o teor de compostos fenólicos obtido foi de 20,9 mg de ácido gálico por grama de extrato.

### Perfil de ácidos graxos

Os ácidos graxos constituem os principais componentes de grande parte dos lipídios presentes na dieta humana. São definidos como cadeias de hidrocarbono terminando em um grupo carboxila numa extremidade e um grupo metil na outra. Geralmente, são cadeias com um número par de carbonos, que variam de 4 a 26 átomos.

A Tabela 3 apresenta os ácidos graxos identificados por cromatografia gasosa, presentes na fração lipídica das sementes, com um conteúdo elevado de ácidos graxos insaturados, com cadeia entre 16 e 18 átomos de carbono. O conteúdo total de ácidos graxos insaturados foi de 58,06%, entre os quais o ácido oleico obteve em média 38,29% e o ácido linoleico uma média de 13,46%. Os dois ácidos majoritários representam 89% dos ácidos insaturados, estando o restante em porcentagens muito inferiores. Entre os ácidos graxos saturados, o ácido palmítico apresentou quantidades significativas (34,09%).

A qualidade e digestibilidade de óleos vegetais comestíveis são determinadas pela quantidade e composição em ácidos graxos insaturados. A presença de ácido linoleico em teores adequados é fundamental, uma vez que se trata de um ácido graxo essencial. Quanto maior a quantidade de ácido linoleico em relação ao oleico, melhor é a qualidade do óleo vegetal em evitar a formação do mau colesterol<sup>23</sup>. Conforme a Tabela 3, o óleo de sementes de pitanga apresentou relação ácido oleico/linoleico (Ole/Lin) de 1/0,35 próximo ao valor encontrado por Borges et al<sup>24</sup> para o óleo de amendoim (1/0,5).

Com relação ao ácido graxo  $\alpha$ -linolênico (C18:3 n-3), o óleo de sementes de pitanga apresentou porcentagens de 2,06%. Levando em consideração a porcentagem de ácido  $\alpha$ -linolênico em óleos comuns como milho (1,2%) e soja (6,8%)<sup>25</sup>, o óleo de sementes de pitanga apresenta quantidade considerável desse ácido graxo.

**Tabela 3.** Perfil de ácidos graxos presentes na fração lipídica das sementes de pitanga avaliado por cromatografia gasosa

Ácidos graxos (%)	1	2	3	Média	DP*
Palmitico (C16:0)	34,00	34,54	32,74	34,09	1,40
Palmitoleico (C16:1)	2,71	2,90	2,42	2,68	0,24
Estearico (C18:0)	4,65	4,14	4,78	4,52	0,34
Oleico (C18:1 n-9)	38,01	38,03	38,83	38,29	0,84
Linoleico (C18:2 n-6)	13,61	12,88	13,88	13,46	0,52
Araquídico (C20:0)	1,84	1,59	2,20	1,88	0,31
$\alpha$ -linolênico (C 18:3 n-3)	2,11	1,94	2,12	2,06	0,10
Henecosanoico (C20:2)	1,80	1,79	1,83	1,81	0,04
Behênico (C22:0)	0,59	0,58	0,57	0,58	0,01
Lignocérico (C24:0)	0,68	0,62	0,65	0,65	0,03
Saturados	41,96	42,70	41,16	41,94	0,77
Monoinsaturados	40,72	40,93	41,25	40,97	0,27
Poli-insaturados	17,31	16,37	17,58	17,09	0,64
Sat/Insat**	1/1,38	1/1,34	1/1,43	1/1,38	-
Ole/Lin***	1/0,36	1/0,34	1/0,36	1/0,35	-

\*DP, desvio-padrão das médias

\*\*Relação entre o total de ácidos graxos saturados e insaturados

\*\*\*Relação entre o total de ácidos oleico e linoleico

Comparando-se a relação entre o total de ácidos graxos saturados e insaturados analisados neste trabalho (1/1,38) com aquela encontrada por Borges et al<sup>24</sup> (1/2,20) para o óleo de sementes de umbu (*Spondias tuberosa* Arr. Cam), verificou-se que estes óleos podem ser utilizados em frituras, uma vez que a instabilidade e rancidez oxidativa estão relacionadas à quantidade de ácidos graxos insaturados<sup>24</sup>.

### CONCLUSÃO

Com a realização deste trabalho foi possível verificar que, dentre os macronutrientes analisados, os

maiores valores encontrados foram para os carboidratos totais. Além disso, o extrato etanólico de sementes de pitanga apresentou relevante atividade antioxidante, bem como elevada quantidade de compostos fenólicos totais. O óleo de sementes de pitanga obteve elevada porcentagem de ácidos graxos insaturados, destacando-se o ácido oleico. Este elevado grau de insaturação favorece seu uso para fins comestíveis, desde que comprovada a ausência de substâncias tóxicas ou alergênicas ou como matéria-prima para as indústrias farmacêutica e oleoquímica.

---

#### AGRADECIMENTOS

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo - FAPESP, pela bolsa de Doutorado.

---

#### REFERÊNCIAS

1. Faller ALK, Fialho E. Disponibilidade de polifenóis em frutas e hortaliças consumidas no Brasil. *Rev S Publ*. 2009;43(2):211-8.
2. Mélo EA, Lima VLAG, Maciel MIS. Polyphenol, ascorbic acid and total carotenoid contents in common fruits and vegetables. *Braz J Food Technol*. 2006;9 (2):89-94.
3. Torres JL, Varela B, Garcia MT, Carilla J, Matito C, Centelles JJ et al. Valorization of grape (*Vitis vinifera*) byproducts. Antioxidant and biological properties of polyphenolic fractions differing in procyanidin composition and flavonol content. *Agric Food Chem*. 2002;50(26):7548-55.
4. Angelo PM, Jorge N. Compostos fenólicos em alimentos – uma breve revisão. *Rev Inst Adolfo Lutz*. 2007;66(1):232-40.
5. Jayaprakasha GK, Singh RP, Sakariah KK. Antioxidant activity of grape seeds (*Vitis vinifera*) extracts on peroxidation models in vitro. *Food Chem*. 2001;73(3):285-90.
6. Belda MCR, Pourchet-Campos MA. Ácidos graxos essenciais em nutrição: uma visão atualizada. *Ciênc Tecnol Aliment*. 1991;11(1):5-35.
7. Miliuskas G, Venskutonis PR, Van Beek TA. Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. *Food Chem*. 2004;85(1):231-7.
8. Brand-Williams W, Cuvelier ME, Berset C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensm Wiss Technol*. 1995;28(1):25-30.
9. Sousa CMM, Silva HR, Vieira-Jr. GM, Ayres MCC, Costa CLS, Araújo DS et al. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. *Quim Nova*. 2007;30(2):351-5.
10. Shaidi F, Janitha PK, Wanasundara PD. Phenolic antioxidants. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 1992;32(1):67-103.
11. Jadhav SJ, Nimbalkar SS, KulKarni AD, Madhavi DL. Food antioxidants: technological, toxicological, and health perspectives. New York: Marcel Dekker, 1996.
12. Curi R. Entendendo a gordura – os ácidos graxos. 1ª. ed. São Paulo: Manole; 2002.
13. Pompéia C, Procópio J, Curi R. Ácidos graxos e sistema imunológico. *Rev Bras Ciênc Farm*. 1999;35(2):165-94.
14. Jardini FA, Mancini-Filho J. Composição centesimal e perfil dos ácidos graxos da romã (*Punica granatum* L.) cultivada no Brasil. *Hig Aliment*. 2007;21(148):81-5.
15. AOCS. American Oil Chemists' Society. Official methods and recommended practices of the American Oil Chemists' Society. AOCS; 1993.
16. AOAC. Association Of Official Analytical Chemists. Official and tentative methods of the AOAC International. Maryland: AOAC; 1995.
17. Singleton VL, Rossi Jr JA. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am J Enol Vitic*. 1965;16(3):144-58.
18. Hartman L, Lago RCA. Rapid preparation of fat acids methyl esters. *Laboratory and Practy*. 1973;22:475-6.
19. Fernandes JB, David V, Facchini PH, Silva MF, Filho ER, Vieira PC et al. Extrações de óleos de sementes de citros e suas atividades sobre a formiga cortadeira *Atta sexdens* e seu fungo simbionte. *Quim Nova*. 2002;25(6B):1091-5.
20. Santos AS, Lima LB, Magalhães CEC, Almeida MMB, Silva MG. Avaliação do potencial protéico, mineral e antioxidante de resíduos de indústrias de processamento de frutas do estado do Ceará. 29ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química; 2006. São Paulo. Anais eletrônicos. São Paulo, 2006. [acesso 2008 fev 14]. Disponível em: [http://www.sec.sbq.org.br/cd29ra/editorial.htm].
21. Gaméz-Meza N, Noriega-Rodríguez JA, Medina-Juárez LA, Ortega-García J, Cázarez-Casanova R, Angulo-Guerrero O. Antioxidant activity in soybean oil of extracts from Thompson grape bagasse. *J Am Oi Chem Soc*. 1999;76(12):1445-7.
22. Malacrida CR, Angelo PM, Andreo D, Jorge N. Composição química e potencial antioxidante de extratos de sementes de melão amarelo em óleo de soja. *Ciênc Agron*. 2007;38(4):372-6.
23. El-Adawy TA, Taha KM. Characteristics and composition of different seed oils and flours. *Food Chem*. 2001;74(1):47-54.
24. Borges SV, Maia MCA, Gomes RCM, Cavalcanti NB. Chemical composition of umbu (*Spondias Tuberosa* Arr. Cam) seeds. *Quim Nova*. 2007;30(1):49-52.
25. Martin CA, Almeida VV, Ruiz MR, Visentainer JEL, Matshushita M, Souza NE et al. Ácidos graxos poliinsaturados omega-3 e ômega-6: importância e ocorrência em alimentos. *Rev Nutr*. 2006;19(6):761-70.