

## Ação antioxidante do extrato de sementes de limão (*Citrus limon*) adicionado ao óleo de soja sob processo de termoxidação

Antioxidant activity of lemon (*Citrus limon*) seeds extract with addition of soybean oil under thermoxidation process

RIALA6/1190

Débora Maria Moreno LUZIA<sup>1</sup>, Neuza JORGE<sup>1\*</sup>

\*Endereço para correspondência: Departamento de Engenharia e Tecnologia de Alimentos, Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, Universidade Estadual Paulista, Rua Cristóvão Colombo, 2265, Jd. Nazareth, CEP 15054-000, São José do Rio Preto, SP, Brasil, 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, São José do Rio Preto, SP, Brasil.

Recebido: 23.09.2008 – Aceito para publicação: 06.03.2009

### RESUMO

No presente trabalho foram avaliados a ação antioxidante do extrato de sementes de limão adicionado ao óleo de soja, submetido à termoxidação, e o seu efeito sinérgico com o antioxidante sintético terc-butilhidroquinona (TBHQ). Desta forma, foram preparados os seguintes tratamentos: Controle, TBHQ (50 mg.kg<sup>-1</sup>), ESL (2.400 mg.kg<sup>-1</sup> Extrato de Sementes de Limão), Mistura 1 (ESL + 50 mg.kg<sup>-1</sup> TBHQ) e Mistura 2 (ESL + 25 mg.kg<sup>-1</sup> TBHQ), que foram incubados a 180°C durante 20 horas. As amostras foram coletadas nos intervalos de tempo de 0, 5, 10, 15 e 20 horas e analisadas quanto ao índice de peróxidos e dienos conjugados. Os resultados obtidos das determinações analíticas foram estatisticamente estudadas pela análise de variância e teste de Tukey a 5% de nível de significância, em esquema fatorial, no delineamento inteiramente randômico. Verificou-se que o ESL e as Misturas 1 e 2 apresentaram capacidade de retardar a oxidação lipídica, quando adicionados ao óleo de soja. Entretanto, as Misturas 1 e 2 apresentaram um maior poder antioxidante, o que comprova o efeito sinérgico dos antioxidantes em estudo.

**Palavras-chave.** extrato de sementes de limão, índice de peróxidos, dienos conjugados, termoxidação.

### ABSTRACT

The present study evaluated the antioxidant activity of lemon seed extract added to soybean oil, submitted to thermoxidation, and its synergistic effect with synthetic antioxidant tertiary-butylhydroquinone (TBHQ). For carrying out the proposed investigation, the following treatments were prepared: Control, TBHQ (50 mg.kg<sup>-1</sup>), LSE (2.400 mg.kg<sup>-1</sup> Lemon Seed Extract), Mixture 1 (LSE + 50 mg.kg<sup>-1</sup> TBHQ), and Mixture 2 (LSE + 25 mg.kg<sup>-1</sup> TBHQ). These preparations were incubated at 80°C for 20 hours, and samples were collected at time intervals of 0, 5, 10, 15, and 20 hours which were analyzed in regarding to peroxide indices and conjugated dienes. The obtained results from the analytical determinations were statistically analyzed as for variance analysis and Tukey test at 5% significance level, at factorial scheme, using completely randomized experimental delineation. The LSE, Mixtures 1 and 2 presented the ability in delaying the lipid oxidation, when added to the soybean oil. However, Mixtures 1 and 2 presented a highest antioxidant ability, and thus proved the synergistic effect of these investigated antioxidants.

**Key words.** lemon seeds extract, peroxide index, conjugated dienes, thermoxidation.

## INTRODUÇÃO

A soja é um produto agrícola de grande interesse mundial graças à versatilidade de aplicação de seus produtos na alimentação humana e animal e ao seu valor econômico nos mercados nacional e internacional<sup>1</sup>.

O Brasil é responsável por cerca de 28% da produção mundial de soja, com a safra de 2006 estimada ao redor de 57 milhões de toneladas. O país é o segundo maior produtor e exportador mundial de soja em grão, farelo e óleo de soja<sup>2</sup>.

O óleo de soja, um dos mais saudáveis em seu segmento, contém em sua composição o maior teor de ácidos graxos poli-insaturados, sendo mais abundantes os ácidos linoleico e linolênico, que são essenciais ao organismo e, como não são sintetizados pelo corpo humano, devem ser ingeridos através dos alimentos<sup>3</sup>.

O retardo ou a prevenção da oxidação lipídica, uma das principais causas de deterioração no processo de aquecimento de óleos vegetais, pode ser realizado pela adição de antioxidantes, que mantêm a qualidade do alimento<sup>4</sup>. No entanto, o emprego de antioxidantes sintéticos na indústria de alimentos tem sido alvo de questionamentos quanto à sua inocuidade. Sendo assim, pesquisas são realizadas em busca de compostos naturais que apresentem esta propriedade funcional, podendo atuar como alternativa para prevenir a deterioração oxidativa de alimentos e diminuir o uso dos antioxidantes sintéticos.

O TBHQ é considerado o melhor antioxidante sintético para óleos sob temperaturas elevadas, pois resiste ao aquecimento. Estudos toxicológicos têm demonstrado a possibilidade desse antioxidante apresentar efeito carcinogênico em experimentos com animais<sup>5</sup>. Por esse motivo, o uso de antioxidantes sintéticos é restringido em vários países, visto que existe a possibilidade de terem efeitos indesejáveis para a saúde humana<sup>6</sup>.

O TBHQ não é permitido no Canadá e na Comunidade Econômica Européia<sup>7</sup>. No Brasil, o uso de antioxidantes é controlado pelo Ministério da Saúde que limita 200 mg.kg<sup>-1</sup> para BHA e TBHQ e 100 mg.kg<sup>-1</sup> para BHT como concentrações máximas permitidas<sup>8</sup>.

Por várias décadas os pesquisadores têm demonstrado um grande interesse em identificar e isolar antioxidantes naturais, devido à rejeição de aditivos sintéticos em alimentos<sup>9</sup>. Dentre as inúmeras fontes de antioxidantes naturais estão incluídos cereais<sup>9</sup>, sementes e casca de frutas cítricas<sup>10</sup>, cogumelos<sup>11</sup>, ervas e especiarias<sup>12</sup> e plantas medicinais<sup>13</sup>.

O limão é uma fruta cítrica rica em vitaminas, principalmente vitamina C, fibras e potássio<sup>14</sup>. É extensamente cultivado em pomares e viveiros, pois induz a maturação precoce das frutas, proporcionando melhores preços no início da safra. É utilizado para a fabricação de sucos naturais e concentrado, além de ser tecnologicamente usado como flavorizante em alimentos, devido ao óleo essencial presente em sua casca<sup>15</sup>.

O Brasil se destaca como o segundo maior produtor de frutos cítricos e o maior exportador de sucos cítricos. A produção brasileira de limão está localizada no Estado de São Paulo, sendo o primeiro produtor destes frutos, representando 81,3% da produção, seguido pelo Rio de Janeiro e Bahia com 3,9 e 2,7%, respectivamente<sup>16</sup>.

Grande parte do resíduo sólido das sementes de limão é uma fonte inexplorada de óleo que pode alcançar 55% de rendimento<sup>17</sup>. Este óleo pode ser aproveitado pela indústria alimentícia, farmacêutica e de cosméticos. As frutas cítricas são conhecidas por conterem antioxidantes naturais na polpa, nas sementes e na casca<sup>10</sup>.

Tendo em vista os indícios de problemas que podem ser provocados pelo consumo de antioxidantes sintéticos, vários estudos têm sido conduzidos com a finalidade de substituí-los por antioxidantes naturais ou fazer associações entre eles, com o intuito de diminuir sua quantidade nos alimentos<sup>18</sup>. Além disso, estudos epidemiológicos sugerem que antioxidantes naturais podem ser benéficos ao organismo humano, prevenindo doenças<sup>7</sup>, porém faz-se necessário submeter estes antioxidantes a testes toxicológicos.

Considerando o elevado consumo de alimentos fritos, o interesse em reduzir as alterações que ocorrem no óleo durante o processo de aquecimento e o estímulo à substituição ou diminuição do uso de antioxidantes sintéticos, torna-se necessário estudar a ação antioxidante do extrato de sementes de limão adicionado ao óleo de soja sob termoxidação e também o seu efeito sinérgico com o antioxidante sintético TBHQ, atualmente utilizado pelas indústrias de alimentos com a finalidade de retardar as alterações oxidativas.

## MATERIAL E MÉTODOS

### ■ Sementes de limão

As frutas maduras, variedade galego, foram provenientes de uma plantação na região de Itajobi/SP, colhidas em Janeiro de 2007. Os limões foram cortados pela metade e

as sementes retiradas manualmente e, em seguida, lavadas ligeiramente com água destilada para remover restos de polpas e açúcares solúveis provenientes das frutas. As sementes foram secas em estufa, com circulação de ar forçada, a 45°C por 24 horas para redução do teor de umidade abaixo de 10%. Depois, foram armazenadas em recipientes plásticos, vedados com tampas de rosca e devidamente rotulados, para análises posteriores.

#### ■ Óleo de soja

Para a realização do experimento foi utilizado óleo de soja refinado, sem adição de antioxidantes sintéticos (TBHQ e ácido cítrico). Utilizaram-se embalagens contendo 900 mL de óleo de soja, processado pela empresa Cargill Agrícola S/A, Uberlândia-MG.

#### ■ Antioxidantes

O antioxidante sintético utilizado foi o *terc-butilhidroquinona* (TBHQ), apresentado na forma em pó, fornecido pela empresa Danisco S/A.

O extrato metanólico de sementes de limão foi obtido de acordo com a metodologia descrita por Pereira<sup>10</sup>. As sementes de limão desidratadas e trituradas (10 g) foram mantidas sob agitação permanente com metanol (100 mL) à temperatura ambiente ( $25 \pm 2^\circ\text{C}$ ), durante seis horas e, em seguida, a mistura foi centrifugada a 3.000 rpm, por dez minutos. Após a transferência do sobrenadante, o precipitado foi novamente submetido ao processo de extração nas mesmas condições anteriormente explicitadas, e os sobrenadantes resultantes da extração foram combinados. Em seguida, procedeu-se à remoção do solvente utilizado para a obtenção do extrato metanólico, sob pressão reduzida a 40°C. O extrato seco foi pesado e ressuspenso em metanol, obtendo-se solução-estoque contendo um grama de extrato metanólico para cada dez gramas de solvente metanol (1:10), utilizada para aplicação direta no óleo de soja.

#### ■ Ensaio experimental

Foram submetidos à termoxidação os seguintes tratamentos, conduzidos com duas repetições: i) óleo de soja sem adição de antioxidantes sintéticos e ácido cítrico (Controle), ii) óleo de soja com adição de 2.400 mg.kg<sup>-1</sup> de extrato de sementes de limão (ESL), iii) óleo de soja com adição de 50 mg.kg<sup>-1</sup> de TBHQ (TBHQ), iv) óleo de soja com adição da mistura de antioxidantes, ou seja, 2.400 mg.kg<sup>-1</sup> de extrato de sementes de limão e

50 mg.kg<sup>-1</sup> de TBHQ (Mistura 1) e v) óleo de soja com adição da mistura de antioxidantes, ou seja, 2.400 mg.kg<sup>-1</sup> de extrato de sementes de limão e 25 mg.kg<sup>-1</sup> de TBHQ (Mistura 2).

Os tratamentos foram realizados em chapa aquecida, utilizando-se béqueres de 50 mL contendo 30 mL de amostra com relação superfície/volume 0,4 cm<sup>-1</sup>. A temperatura foi monitorada a  $180 \pm 5^\circ\text{C}$ .

O experimento foi conduzido de modo descontínuo, sendo realizadas 10 horas de aquecimento por dia, cujas amostras foram tomadas nos períodos de tempo 0, 5, 10, 15 e 20 horas. As amostras, nos diferentes intervalos de tempo, foram recolhidas em frasco âmbar, inertizadas com nitrogênio gasoso e armazenadas à temperatura de aproximadamente -18°C até o momento das análises.

#### ■ Métodos

Com o objetivo de determinar as alterações oxidativas primárias, utilizaram-se análises de peróxidos e dienos conjugados para a avaliação das amostras obtidas durante a termoxidação.

#### ■ Índice de peróxidos

Denomina-se índice de peróxidos a quantidade de oxigênio ativo, calculada em miliequivalentes, contida em um quilograma de óleo, medida a partir do iodo liberado do iodeto de potássio pelos peróxidos presentes no óleo. Esse índice foi determinado segundo a norma da AOCS Cd 8-53<sup>19</sup>.

#### ■ Dienos conjugados

Este método determina dienos conjugados presentes na matéria graxa, expressos como porcentagem de ácidos dienóicos conjugados, após leitura da absorbância a 233 nm. A determinação de dienos conjugados foi efetuada de acordo com o método oficial AOCS Ti 1a-64<sup>19</sup>.

#### ■ Delineamento experimental

Para as amostras submetidas à termoxidação foram considerados os seguintes fatores: Tratamentos (Controle, ESL, TBHQ, Mistura 1 e Mistura 2) e Tempos de aquecimento (0, 5, 10, 15 e 20 horas).

Os resultados obtidos para índice de peróxidos e dienos conjugados, em duas repetições, foram submetidos à análise de variância para determinar a influência dos fatores sobre a alteração das amostras de óleos submetidos à termoxidação. O experimento foi realizado em

esquema fatorial 5 x 5, no delineamento inteiramente casualizado<sup>20</sup>. A análise de variância e o teste de Tukey para as médias a 5% foram obtidos por meio do programa ESTAT – Sistema para Análises Estatísticas, versão 2.0<sup>21</sup>.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### ■ Índice de peróxidos

A Tabela 1 apresenta as médias de índice de peróxidos e dienos conjugados para a interação tratamentos x tempos de aquecimento. Observa-se que houve um acréscimo no índice de peróxidos para os tratamentos até o tempo de 20 horas de termoxidação, havendo diferença significativa entre os tempos de aquecimento.

Nota-se que no tempo inicial o ESL apresentou maior ação protetora ao óleo, seguido da Mistura 2 e TBHQ. De 5 até 15 horas de aquecimento, os teores de peróxidos dos tratamentos ESL, Mistura 1 e Mistura 2 não diferiram significativamente, apresentando-se mais eficientes na proteção do óleo, com relação à formação de peróxidos.

Os tratamentos ESL, TBHQ, Misturas 1 e 2 reduziram a formação de peróxidos em 47%, 34% e 36%, respectivamente, às 15 horas a 180°C. Verifica-se que a adição do extrato metanólico de sementes de limão ao óleo de soja foi tão eficiente quanto as misturas de antioxidantes, contra a formação de peróxidos.

No final do processo os tratamentos estudados não diferiram estatisticamente do controle. Os peróxidos, por serem instáveis, são rapidamente formados e quebrados em compostos menores. Após 20 horas de aquecimento, encontram-se dentro da margem permitida pelas normas que regulamentam a adequação de óleo de soja refinado para consumo no Brasil, a Portaria 482/99-ANVISA, que estabelece o limite máximo de 10 meq.kg<sup>-1</sup> de óleo<sup>22</sup>.

Andreo<sup>23</sup> verificou que o TBHQ apresentou maior ação protetora ao óleo, seguido do extrato natural de gengibre e da mistura de extrato com TBHQ. Porém, estes tratamentos tiveram uma rápida perda da ação antioxidante a 180°C, mas o TBHQ foi o primeiro a perder sua eficiência contra a formação de peróxidos no óleo termoxidado.

**Tabela 1.** Médias de índice de peróxidos e dienos conjugados para a interação tratamentos x tempos de aquecimento

Tratamentos	Tempos de aquecimento (horas)				
	0	5	10	15	20
<b>Índice de peróxidos (meq.kg<sup>-1</sup>)</b>					
Controle	1,95 <sup>eA</sup>	5,45 <sup>dA</sup>	7,67 <sup>cA</sup>	8,87 <sup>bA</sup>	10,05 <sup>aA</sup>
ESL	1,65 <sup>eB</sup>	2,75 <sup>dC</sup>	3,67 <sup>cC</sup>	4,66 <sup>bC</sup>	10,05 <sup>aA</sup>
TBHQ	1,85 <sup>eAB</sup>	3,92 <sup>dB</sup>	4,75 <sup>cB</sup>	5,85 <sup>bB</sup>	10,08 <sup>aA</sup>
Mistura 1	1,90 <sup>eA</sup>	2,05 <sup>dC</sup>	3,61 <sup>cC</sup>	5,69 <sup>bC</sup>	10,19 <sup>aA</sup>
Mistura 2	1,76 <sup>eAB</sup>	2,90 <sup>dC</sup>	3,37 <sup>cC</sup>	5,66 <sup>bC</sup>	10,11 <sup>aA</sup>
<b>Dienos conjugados (%)</b>					
Controle	0,28 <sup>eA</sup>	0,75 <sup>dA</sup>	1,67 <sup>cA</sup>	2,19 <sup>bA</sup>	3,02 <sup>aA</sup>
ESL	0,27 <sup>eA</sup>	0,61 <sup>dAB</sup>	1,52 <sup>cA</sup>	1,84 <sup>bB</sup>	2,49 <sup>aB</sup>
TBHQ	0,24 <sup>eA</sup>	0,65 <sup>dAB</sup>	1,68 <sup>cA</sup>	2,24 <sup>bA</sup>	2,93 <sup>aA</sup>
Mistura 1	0,26 <sup>eA</sup>	0,52 <sup>dB</sup>	1,05 <sup>cB</sup>	1,54 <sup>bC</sup>	2,24 <sup>aC</sup>
Mistura 2	0,24 <sup>eA</sup>	0,49 <sup>dB</sup>	1,11 <sup>cB</sup>	1,52 <sup>bC</sup>	2,19 <sup>aC</sup>

Controle: óleo de soja; ESL: extrato de sementes de limão (2.400 mg.kg<sup>-1</sup>); TBHQ: terc-butilhidroquinona (50 mg.kg<sup>-1</sup>); Mistura 1: ESL (2.400 mg.kg<sup>-1</sup>) + TBHQ (50 mg.kg<sup>-1</sup>); Mistura 2: ESL (2.400 mg.kg<sup>-1</sup>) + TBHQ (25 mg.kg<sup>-1</sup>).

a, b... (linha) - médias seguidas de mesma letra minúscula não diferem pelo teste de Tukey ( $p > 0,05$ ).

A, B... (coluna) - médias seguidas de mesma letra maiúscula não diferem pelo teste de Tukey ( $p > 0,05$ ).

### ■ Dienos conjugados

O acompanhamento dos espectros de absorção na faixa do ultravioleta das amostras de óleo fornecem uma boa indicação das alterações que ocorrem durante o processo oxidativo. Por serem instáveis, os peróxidos são rapidamente formados e quebrados em compostos menores, porém, os dienos conjugados que se formam concomitantemente permanecem no óleo aquecido<sup>24</sup>.

De acordo com a Tabela 1, observa-se que houve um acréscimo nos valores de dienos conjugados para todos os tratamentos, com o aumento do tempo de aquecimento.

Verifica-se que no início (0 hora) não houve diferença de dienos conjugados nos tratamentos utilizados. Esta diferença começou a ser detectada estatisticamente apenas a partir de 5 horas. Observa-se no tempo de aquecimento de 10 horas, que os tratamentos ESL e TBHQ não foram eficientes contra a formação de dienos conjugados, pois não diferiram do controle.

Os tratamentos ESL, Mistura 1 e Mistura 2 demonstraram desempenhos estatisticamente diferentes ao controle a ao TBHQ somente a partir de 15 horas de termoxidação. No final do processo, a atividade antioxidante das Misturas 1 e 2, destacaram-se, apresentando menores níveis de dienos conjugados que o ESL. O TBHQ não diferiu do controle em todos os tempos de aquecimento.

Ao final do processo, as Misturas 1 e 2 foram capazes de reduzir em 26 e 27%, respectivamente, a formação de dienos conjugados e o ESL reduziu em apenas 17% a formação destes compostos.

Ramalho e Jorge<sup>25</sup> encontraram valores de dienos conjugados semelhantes aos determinados no presente trabalho, para o óleo de soja termoxidado a 180°C. Os valores de dienos conjugados para o óleo de soja no tempo inicial e após 10 horas de aquecimento, foram de 0,26 e 1,61%, respectivamente.

### CONCLUSÃO

A capacidade antioxidante das Misturas 1 (ESL + 50 mg.kg<sup>-1</sup>TBHQ) e 2 (ESL + 25 mg.kg<sup>-1</sup>TBHQ), superou o ESL e o TBHQ, adicionados ao óleo de soja na dosagem de 50 mg.kg<sup>-1</sup>. Portanto, o efeito sinérgico foi constatado entre os antioxidantes testados durante a termoxidação.

O tratamento Mistura 2 pode ser sugerido como uma prática tecnologicamente viável para reduzir a degradação oxidativa de óleos e gorduras, pois a ação

antioxidante dos tratamentos testados neste estudo foi: Mistura 1 = Mistura 2 > ESL > TBHQ > Controle.

---

#### AGRADECIMENTOS

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES, pela concessão da bolsa de Mestrado e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq, pela bolsa de Produtividade em Pesquisa.

---

### REFERÊNCIAS

1. Melo Filho OL, Sedyama CS, Moreira MA, Reis MS, Massoni GA, Piovesan ND. Grain yield and seed quality of soybean selected for high protein content. *Pesqui Agropecu Bras* 2004; 39(5): 445-50.
2. Abiove. Associação Brasileira das Indústrias de Óleos Vegetais. Disponível em: URL: <http://www.abiove.com.br>.
3. Malacrida CR, Jorge N. Alterações do óleo de soja e da mistura azeite de dendê-óleo de soja em frituras descontínuas de batatas chips. *Braz J Food Technol* 2003; 6(2): 245-49.
4. Ramalho VC, Jorge N. Antioxidantes utilizados em óleos, gorduras e alimentos gordurosos. *Quim Nova* 2006; 29(4): 755-60.
5. Botterweck AA, Verhagen H, Goldbohm RA, Kleinjans J, Van Den Brandt PA. Intake of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene and stomach cancer risk: results from analyses in the netherlands cohort study. *Food Chem Toxicol* 2000; 38(1): 599-605.
6. Almeida-Doria RF, Regitano-d'Arce MAB. Antioxidant activity of rosemary and oregano ethanol extracts in soybean oil under thermal oxidation. *Cienc Tecnol Aliment* 2000; 20(2): 1-14.
7. Reische DW, Lillard DA, Eitenmiller RR. Antioxidants. In: Akoh CC, Min DB. *Food lipids: chemistry, nutrition and biotechnology*. Marcel Dekker, New York, 2002, p. 489-516.
8. Brasil. Ministério da Saúde. Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos. Resolução nº 04/88. In: Associação Brasileira das Indústrias de Alimentação. *Compêndio da Legislação de Alimentos*. São Paulo: ABIA, 2001. v. 1, p. 326.
9. Pérez-Jiménez J, Saura-Calixto F. Literature data may underestimate the actual activity of cereals. *J Agric Food Chem* 2005; 53(13): 5036-40.
10. Pereira RB. Avaliação da atividade antioxidante de sementes de frutas cítricas [Dissertação de mestrado]. São Paulo, São Paulo: Universidade de São Paulo, 1996. 90 pp.
11. Elmastas M, Isildak O, Turkekul I, Temur N. Determination of antioxidant activity and antioxidant compounds in wild edible mushrooms. *J Food Compos Anal* 2007; 20(3): 337-45.
12. Yanishlieva NV, Marinova E, Pokorný J. Natural antioxidants from herbs and spices. *Eur J Lipid Sci Tech* 2006; 108(9): 776-93.
13. Sousa CMM, Silva HR, Vieira-Jr. GM, Ayres MCC, Costa CLS, Araújo DS, Cavalcante LCD, Barros EDS, Araújo PBM, Brandão MS, Chaves MH. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. *Quim Nova* 2007; 30(2): 351-55.



14. Ferrari CKB, Torres EAFS. Novos compostos dietéticos com propriedades anticarcinogênicas. *Rev Bras Cancerol* 2002; 48(3): 375-82.
15. Reda SY, Leal ES, Batista EAC, Barana AC, Schnitzels E, Carneiro PIB. Caracterização dos óleos das sementes de limão rosa (*Citrus limonia* Osbeck) e limão siciliano (*Citrus limon*), um resíduo agroindustrial. *Cienc Tecnol Aliment* 2005; 25(4): 672-6.
16. Fernandes JB, David V, Facchini PH, Silva MFGF, Filho ER, Vieira PC, Galhiane MS, Pagnocca FC, Bueno OC, Hebling MJ, Victor SR, Santos AMR. 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.
17. Ibraf. Instituto Brasileiro de Frutas. Disponível em: URL: <http://www.ibraf.org.br>.
18. Wangensteen H, Samuelsen AB, Malterud KE. Antioxidant activity in extracts from coriander. *Food Chem* 2004; 88(2): 293-7.
19. AOCS. American Oil Chemists' Society. Official methods and recommended practices of the American Oil Chemists' Society. Champaign: AOCS; 1993.
20. Banzatto DA, Kronka SN. Experimentação agrícola. 4. ed. Jaboticabal: Funep; 2006. p. 237.
21. Unesp. ESTAT – Sistema para Análises Estatísticas. Jaboticabal, Versão 2.0. 1 disquete; 1999.
22. Brasil. Resolução nº 482, de 23 de setembro de 1999. Regulamento técnico para fixação de identidade e qualidade de óleos e gorduras vegetais. Diário Oficial da União, Brasília-DF, v. 196. 13 out. 1999. Seção I, 82-7 pp.
23. Andreo D. Efeito antioxidante do extrato de gengibre (*Zingiber officinale*) adicionado ao óleo de soja sob aquecimento [Dissertação de Mestrado]. São José do Rio Preto, São Paulo: Universidade Estadual Paulista, 2007. 94 pp.
24. Cella RCF, Regitano-d'Arce MAB, Spoto MHF. Comportamento do óleo de soja refinado utilizado em fritura por imersão com alimentos de origem vegetal. *Cienc Tecnol Aliment* 2002; 22(2): 111-6.
25. Ramalho VC, Jorge N. Atividade antioxidante do  $\alpha$ -tocoferol e do extrato de alecrim em óleo de soja purificado. *Rev Inst Adolfo Lutz* 2006; 65(1): 15-20.