

# Determinação dos Índices Químicos e Atividade Antioxidante para Controle de Qualidade do Óleo de Gergelim

Liz P. do Rosário, Paulo V. L. de Sousa, Ellen Nayara M. B. Fernandes & Giuliana M. V. Verde.

O óleo de gergelim tem importância alimentícia, medicinal, farmacêutica e cosmética. O objetivo deste trabalho foi determinar os índices químicos - Índice de Acidez (IA), Índice de Saponificação (IS), Índice de Éster (IE) - e a atividade antioxidante do óleo de gergelim, comercializado no mercado municipal de Anápolis – GO e correlacioná-los com a qualidade do produto. Esses três parâmetros foram determinados por meio de testes descritos na Farmacopeia Brasileira e a atividade antioxidante, determinada pelo método do sequestro do radical livre DPPH. Observou-se um alto valor de IA e um de IS dentro dos parâmetros preconizados. Ao mesmo tempo, o baixo valor de IE corrobora com o elevado de IA. Esses resultados, portanto, revelam degradação hidrolítica acentuada do óleo.

**Palavras-Chave:** *óleo de gergelim; índices químicos; hidrólise; atividade antioxidante.*

Sesame oil has important food, medical, pharmaceutical and cosmetics applications. The objective of this study was to obtain the chemical indexes - Acid Value, Saponification Value and Ester Value – and antioxidant activity of sesame oil sold in Mercado Municipal Anapolis - GO and correlate them with the quality product. These three parameters were determined by testing the Brazilian Pharmacopoeia and the antioxidant activity determined by free radical sequestration method DPPH. There was a high value of acid value and saponification value within the established parameters. At the same time, the low ester value confirms the high acid value. These findings thus reveal a marked hydrolytic degradation of the oil.

**Keyword:** *sesame oil; chemical indexes; hydrolysis; antioxidant activity*

## Introdução

O gergelim (*Sesamum indicum* L.), família *Pedaliaceae*, é um arbusto anual, que apresenta flores brancas em forma de sino, com um toque de azul, vermelho ou amarelo com ou sem ramificações<sup>1</sup>. A planta possui uma variedade de cores, de branco-creme para carvão-preto. A cor da semente pode variar, mas elas geralmente são beges ou brancas quando descascadas<sup>2,3</sup>. Das sementes maduras, é extraído o óleo do gergelim: um líquido límpido, levemente amarelado, com sabor e odor agradáveis.

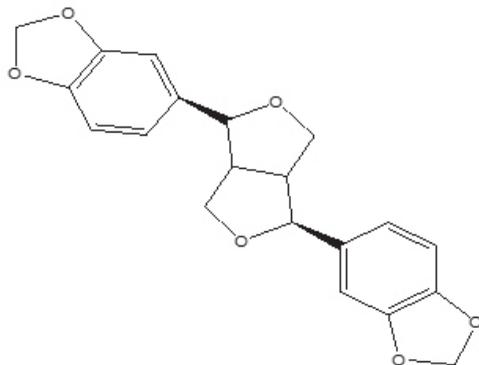
Tem sido cultivado há séculos, devido ao seu elevado teor de óleo comestível e proteína. A Índia é o maior consumidor mundial de gergelim e de muitas culturas oleaginosas, como amendoim, mostarda, semente de colza, semente de gergelim, dentre outras. Contudo, o maior exportador deste óleo é a China, e entre as oleaginosas, o gergelim tem sido cultivado, principalmente, na Ásia e na África. Os preços internacionais variam de US\$ 500 a 700/ tonelada de semente e o óleo extraído por meio de solventes atinge preços que variam de US\$ 800 a US\$ 1.000/tonelada<sup>4</sup>.

Esse óleo possui reconhecida importância cosmética, farmacêutica e alimentícia<sup>1,5</sup>. Apresenta, também, propriedade laxativa leve e emoliente, além de ser usado como ingrediente na produção de sabão, cosméticos e lubrificantes. Há muito tempo tem sido utilizado por suas propriedades cicatrizantes e por manter os níveis de HDL equilibrados e diminuir o de LDL<sup>1,2</sup>.

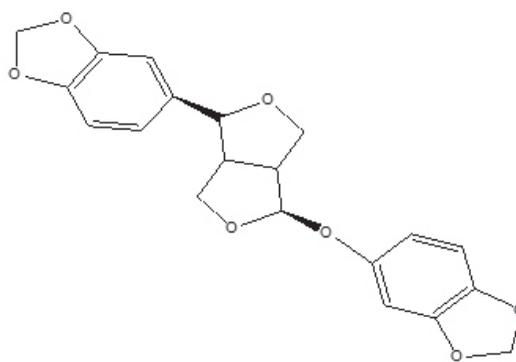
O óleo de gergelim é comercializado de forma ampla em feiras, supermercados e no Mercado Municipal de Anápolis-GO, com finalidades alimentícias e terapêuticas, já que é utilizado em preparações fitoterápicas, oriundas de grupos populares de saúde, bem como dos “raizeiros”. Esses, são pessoas consagradas pela cultura popular, no que diz respeito ao conhecimento sobre preparo, indicação e comercialização de plantas medicinais e que possuem espaço em ruas, feiras livres e mercados<sup>6</sup>, como no Mercado Municipal em questão.

O óleo de gergelim possui compostos que são antioxidantes naturais e apresentam potencial efeito na prevenção de doenças crônicas, pois são capazes de proteger sistemas biológicos contra a ação de espécies reativas de oxigênio e nitrogênio, responsáveis por danos oxidativos aos lipídeos, proteínas e ácidos nucleicos<sup>7,8</sup>. Além de apresentarem bioatividade no organismo humano, os antioxidantes naturais, presentes nos óleos vegetais, protegem tais óleos contra a ação de radicais livres, que iniciam e perpetuam a peroxidação lipídica, principal forma de degradação dos óleos vegetais e importante fonte de prejuízos para a indústria de alimentos<sup>9</sup>. Dessa forma, os antioxidantes naturais têm sido foco de interesse científico e tecnológico nas áreas de ciência de alimentos e nutrição, a partir de duas abordagens principais: promoção de maior estabilidade oxidativa dos óleos e bioatividade no organismo humano<sup>10</sup>.

**SESAMINA**



**SESAMOLINA**



**Figura 1.** Estrutura molecular dos componentes bioativos do gergelim.

Os compostos responsáveis por esses efeitos ainda não são totalmente conhecidos, porém, sugere-se que os antioxidantes naturais estejam entre os principais responsáveis. Por outro lado, os mecanismos pelos quais os antioxidantes dos alimentos contribuem para o sistema antioxidante endógeno também não estão completamente elucidados<sup>10</sup>. Nos triglicerídeos do óleo de gergelim, são encontrados os ácidos graxos: ácido oleico, linoleico, palmítico, esteárico e pequenas quantidades de mirístico, araquídico, lignocérico e hexadecenóico<sup>11</sup>. As sementes de gergelim contêm duas substâncias únicas, sesamina e sesamolina (Figura 1) que, durante o refinamento, são formados dois antioxidantes fenólicos, sesamol e sesaminol. Ambas as substâncias pertencem a um grupo de fibras benéficas especiais: as lignanas, que têm demonstrado um efeito redutor do colesterol nos humanos. Também evitam a elevação da pressão arterial e promovem o aumento de vitamina E em fontes animais<sup>1</sup>.

O óleo também é útil na elaboração industrial de produtos de perfumaria, cosméticos (condicionamento da pele, e agentes hidratantes, preparações capilares, óleos de banho e maquiagem), farmacêutica (veículo para a entrega da droga), inseticidas e tintas e vernizes<sup>5</sup>.

A capacidade antioxidante total de óleos vegetais comestíveis é determinada por sua composição físico-química e constitui um importante atributo de qualidade dos óleos vegetais por estar relacionada à sua estabilidade oxidativa<sup>10</sup>. O ensaio do DPPH (1,1-Diphenyl-2-picryl-hydrazil) é o mais amplamente utilizado para a determinação da capacidade antioxidante em diferentes óleos vegetais<sup>12,13,14</sup>.

Portanto, independente da finalidade de utilização do óleo de gergelim, fins medicinais e/ou alimentícios, é imprescindível a realização de ensaios que investiguem parâmetros de estabelecidos para seu controle de qualidade, tendo em vista a abrangência desse produto e a acessibilidade no Mercado Municipal. Assim, este trabalho teve como objetivo determinar os índices químicos como Índice de Acidez (IA), Índice de Saponificação (IS) e o Índice de Éster (IE) e avaliar a atividade antioxidante do óleo de gergelim comercializado no mercado municipal de Anápolis – GO, como contribuição nos aspectos voltados ao controle de qualidade de drogas e derivados vegetais.

## Materiais e Métodos

### OBTENÇÃO DA AMOSTRA

A amostra de óleo de gergelim foi adquirida em uma banca comercial no Mercado Municipal de Anápolis “Carlos de Pina”, localizado no setor Central do município de Anápolis, Goiás. A embalagem de origem tratava-se de um recipiente de plástico de cor branca-leitosa, com conteúdo de 250 ml e vedado com tampa plástica. Para as análises, as amostras foram preparadas de acordo com os respectivos protocolos.

### DETERMINAÇÃO DOS ÍNDICES QUÍMICOS ÍNDICE DE ACIDEZ (IA), ÍNDICE DE SAPONIFICAÇÃO (IS) E ÍNDICE DE ESTERIFICAÇÃO (IE)

O IA e IS foram executados, de acordo com o método da Farmacopeia Brasileira V 15, enquanto o IE, conforme a metodologia da Farmacopeia Brasileira IV16 e em triplicata. Esses testes foram realizados no Laboratório de Química Inorgânica e Análises Instrumentais da Universidade Estadual de Goiás.

### AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE PELO MÉTODO DO SEQUESTRO DO RADICAL LIVRE DPPH (1,1-DIPHENYL-2-PICRYL- HYDRAZIL)

A capacidade antioxidante foi avaliada, segundo método adaptado e descrito por Ayscough e Russel<sup>17</sup> (1965) e Maruno<sup>4</sup> (2009) usando o radical livre estável DPPH. O método baseia-se na transferência de elétrons, em que, por ação de um antioxidante (AH) ou uma espécie radicalar, o DPPH que possui cor púrpura é reduzido, formando difenil-picril-hidrazina, de coloração amarela, com conseqüente desaparecimento da absorção, podendo essa ser monitorada pelo decréscimo da absorvância. As leituras foram feitas em espectrofotômetro UV-Vis no comprimento de onda 515 nm.

## Curva de Calibração do DPPH

Inicialmente, foram preparados 75 ml de solução estoque de DPPH em metanol na concentração de 30µm,

mantida sob refrigeração e protegida da luz. Foram feitas diluições de 25, 20, 15, 10 e 5  $\mu\text{m}$ . A curva de calibração foi construída a partir dos valores de absorvância de todas as concentrações (5 a 30  $\mu\text{m}$ ), medidas em cubetas de vidro tendo como branco o metanol. As medidas de absorvância foram realizadas em triplicata e os dados plotados para a construção da reta.

## Leitura das Amostras

As amostras do óleo de gergelim foram diluídas em metanol nas concentrações de 15, 10, 5, 2 ( $\mu\text{g. ml}^{-1}$ ). As misturas reacionais foram preparadas, adicionando-se 0,1 ml das soluções das amostras e 3,9 ml da solução estoque de DPPH (30  $\mu\text{m}$ ). As medidas de absorvância foram feitas a 515 nm, 30 minutos após a junção das duas soluções. Como branco foi utilizado 3,0 ml de acetato de etila.

A capacidade antioxidante foi calculada pela equação abaixo como sendo o percentual de DPPH sequestrado em cada concentração:

$$\%AA = [1 - (A_{\text{amostra}} / A_{\text{controle}})] \times 100 \quad (1)$$

$A_{\text{amostra}}$  é a absorvância da mistura reacional e  $A_{\text{controle}}$  é a absorvância inicial da solução acetato de etila DPPH.

A concentração inibitória (EC50), quantidade de antioxidante necessária para decrescer a concentração inicial de DPPH em 50%, foi calculada através de regressão linear dos valores obtidos utilizando o programa Microsoft Office Excel. Os resultados, neste estudo, correspondem à média de três repetições ( $n=3$ )  $\pm$  desvio padrão da média. Os dados obtidos foram usados para construir curvas de DPPH sequestrado *versus* a concentração da amostra, de modo a determinar a Concentração Efetiva<sup>50</sup> (CE50), ou seja, a concentração necessária para sequestrar metade do teor inicial de DPPH, através da análise de regressão linear e interpolação desses. Todas as medidas foram realizadas em três experimentos independentes, cada um em triplicata, e os resultados foram expressos em  $\text{mg.L}^{-1}$  como média e desvio padrão.

## Resultados e Discussão

### DETERMINAÇÃO DE IA, IS E IE

Os resultados dos testes de IA e IS, bem como as especificações da Farmacopeia Brasileira V 15 para o óleo de gergelim, estão expostos no Quadro 1.

**Quadro 1.** Resultados dos testes de Índice de acidez e Índice de saponificação da amostra de óleo de gergelim.

TESTE	ESPECIFICAÇÃO	RESULTADO
Índice de acidez (IA)	Não mais que 2 ml de hidróxido de sódio 0,02 M SV são gastos para neutralizar os ácidos graxos livres presentes em 10 g de amostra <sup>15</sup> .	O valor de IA obtido ( $16,47 \pm 0,2517$ mL de NaOH 0,02 M SV para neutralizar os ácidos graxos de 10 g de amostra) foi superior ao preconizado.
Índice de saponificação (IS)	188 a 195 mg de KOH/g <sup>15</sup> .	O valor de IS encontrado ( $191,25 \pm 0,8801$ mg de KOH/g) está dentro dos padrões estabelecidos.

O IA é um parâmetro importante para a avaliação do estado de conservação do óleo. Um processo de decomposição – por hidrólise, fermentação e oxidação – geralmente altera a concentração de íons hidrogênio. A acidez, por sua vez, está associada com a natureza e qualidade do óleo, com seu grau de pureza e também com suas condições de conservação<sup>19</sup>.

Valores elevados de IA indicam uma hidrólise acentuada dos ésteres constituintes da matéria graxa. São causas da degradação: tratamentos químicos, integrantes dos processos industriais de extração e purificação, atividade bacteriana, ação catalítica (calor, luz), estocagem inadequada e presença de impurezas como a umidade, entre outros<sup>15</sup>. Logo, o alto valor de IA, observado nesta análise, indica uma decomposição hidrolítica pronunciada dos triglicerídeos componentes do óleo de gergelim.



Observou-se que as amostras analisadas de óleo de gergelim apresentaram relevante atividade antioxidante frente ao radical DPPH, de 82,05% (Figura 4). Compostos que apresentam alto potencial em sequestrar radicais livres, possuem baixo valor de EC50. O valor de EC50 foi de 16,67  $\mu\text{g}.\text{mL}^{-1}$ .

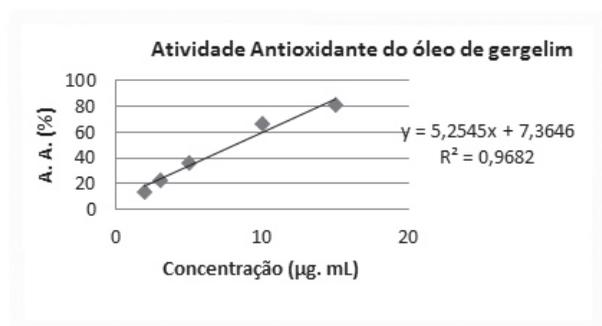


Figura 4. Gráfico da atividade antioxidante do óleo de gergelim.

Vários antioxidantes naturais já foram isolados de diferentes tipos de materiais vegetais, como sementes oleaginosas, cereais, legumes, frutas, folhas, raízes, temperos e ervas<sup>22</sup>. Embora compostos antioxidantes tenham sido identificados nas sementes de citros<sup>23</sup>, uva<sup>24</sup>, manga<sup>25</sup>, canola<sup>26,27,28</sup>, girassol<sup>29</sup>, primula<sup>30,31</sup>, gergelim<sup>32</sup>, linhaça<sup>33</sup> e tremoço<sup>34</sup>, estudos relacionados com a atividade antioxidante de sementes de frutos tropicais e subtropicais ainda têm sido pouco relatados.

Em outros estudos sobre a atividade antioxidante de plantas medicinais, Souza et al.<sup>34</sup>(2007) analisou a atividade antioxidante dos extratos etanólicos de cinco plantas: *Terminalia brasiliensis* (amêndoa-brava), *Cenostigma macrophyllum* (canela de velho), *Terminalia fagifolia* (capitão-do-mato), *Qualea grandiflora* (pau-terra-da-folha-grande) e *Copernicia prunifera* (carnaúba), encontrando EC50 de 44,53  $\mu\text{g}.\text{mL}^{-1}$ , 78,45  $\mu\text{g}.\text{mL}^{-1}$ , 42,23  $\mu\text{g}.\text{mL}^{-1}$ , 50,16  $\mu\text{g}.\text{mL}^{-1}$  e 111,14  $\mu\text{g}.\text{mL}^{-1}$ , respectivamente, mostrando que as espécies estudadas também possuem atividade antioxidante.

## Conclusão

Esta análise demonstrou um alto valor de IA e um valor de IE distante do de IS para a amostra de óleo de

gergelim de procedência comercial. Quando analisados em conjunto, esses resultados indicam uma acentuada decomposição do produto por hidrólise. Portanto, esses testes simples e preliminares apontam que esta amostra de óleo de gergelim não está em conformidade com parâmetros exigidos para sua comercialização e consumo. Fato que se torna preocupante, uma vez que não há como assegurar que todo o óleo de gergelim comercializado no Mercado Municipal passe por um processo analítico de controle de qualidade.

A análise do potencial antioxidante frente ao sequestro de DPPH indicou o potencial antioxidante do óleo de gergelim, corroborando estudos anteriores encontrados na literatura científica e contribuindo para a consolidação da pesquisa de atividade antioxidante como um dos parâmetros de qualidade a serem exigidos no controle de qualidade deste produto.

Assim, mesmo que a prática popular do comércio de plantas medicinais e seus derivados esteja imbricada na cultura do povo brasileiro, torna-se salutar que o poder público e agências sanitárias reguladoras criem condições reais para que os comerciantes e/ou raizeiros tenham condições acessíveis de atender às exigências sanitárias. Nessa perspectiva, é necessária a criação de laboratórios oficiais de Controle de Qualidade, ou de parcerias sólidas como as Instituições de Ensino de Anápolis que dispuserem de cursos de Farmácia, Química e afins.

## Referências

- Anilakumar, K. R. et al. Nutritional, Medicinal and Industrial Uses of Sesame (*Sesamum indicum* L.) Seeds - An Overview. *Agric. conspec. sci.* **2010**, 75, 159 – 167.
- Suja, K. P.; Abraham J. T.; Thamizh, S. N.; Jayalekshmy, A.; Arumughan, C. Antioxidant efficiency of sesame cake extract in vegetable oil protection. *Food Chem.* **2004**, 84, 393-400.
- Quasem, J. M.; Mazahreh, A. S.; Abu-Alruz, K. Development of Vegetable Based Milk from Decorticated Sesame (*Sesamum Indicum*). *Amer J Appl Sci.* **2009**, 6, 888-896.
- Maruno, M. Desenvolvimento de nanoemulsões à base de óleo de gergelim aditivados de óleo de framboesa para queimaduras da pele. Thesis, School of pharmaceutical sciences of ribeirão preto Ribeirão Preto, University of São Paulo, **2009**.
- Chakraborty, G. S.; Sharma, G.; Kaushik, K. N. Sesamum indicum: a review. *J herb med toxicol.* **2008**, 2, 15-19.
- Tresvenzol, L. M. et al. Estudo sobre o comércio informal de plantas medicinais em Goiânia e cidades vizinhas. *Revista*

- Eletrônica de Farmácia. **2006**, 3, 23-28.
7. Szydowska-Czerniak, A.; Karlovits, G.; Dianoczki, C.; Reeseg, K.; Szlyk, E. Comparison of two analytical methods for assessing antioxidant capacity of rapeseed and olive oils. *J Am Oil Chem Soc.* **2008**, 85, 141-49.
  8. Ramadan, M.F; Moersel, J.T. Screening of the antiradical action of vegetable oils. *J Food Compos Anal.* **2006**,19, 838-42.
  9. Chaiyasit, W.; Elias, R.J.; McClements, D.J.; Decker, E.A. Role of physical structures in bulk oils on lipid oxidation. *Crit Rev Food Sci Nutr.* **2007**, 47, 299-317.
  10. Castelo-Branco, V.N.; Torres, A. G. Total antioxidant capacity of edible vegetable oils: chemical determinants and associations with oil quality. *Rev. Nutr.* **2011**,24, 173-187.
  11. Cunha, A.P.; Cavaleiro, C.; Roque, O.R. Lípidos: Constituição química e estudo dos fármacos gordos. In *Farmacognosia e Fitoquímica*; Cunha, A.P; Fundação Calouste Gulbenkian, Lisboa, **2010**; pp 175-208.
  12. Espín, J.C.; Soler-Rivas, C.; Wichers, H.J. Characterization of the total free radical scavenger capacity of vegetable oils and oil fractions using 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical. *J Agric Food Chem.* **2000**, 48, 648-56.
  13. Tuberoso, C.I.G; Kowalczyk, A; Sarritzu, E; Cabras, P. Determination of antioxidant compounds and antioxidant activity in commercial oilseeds for food use. *J Agric Food Chem.* **2007**, 103, 1494-501.
  14. Valavanidis, A. et al. Comparison of the radical scavenging potential of polar and lipidic fractions of olive oil and other vegetable oils under normal conditions and after thermal treatment. *J Agric Food Chem.* **2004**,52, 2358-65.
  15. Brasil. Farmacopeia Brasileira, 5ª ed. Brasília: Agência Nacional de Vigilância Sanitária, **2010**.
  16. Brasil. Farmacopeia Brasileira, 4ª ed. Atheneu, São Paulo: Agência Nacional de Vigilância Sanitária, **1988**.
  17. AYSCOUGH, P.B.; RUSSELL, K.E. Spectroscopic studies of the reversible reaction between 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl and 2,4,6-tri-*t*-butylphenol. **1965**. *Canadian Journal of Chemistry*, v.43, p.3039-44.
  18. Reda, S. Y.; Carneiro, P.I.B. Óleos e gorduras: aplicações e implicações. *Revista Analytica.* **2007**, 27, 60-67.
  19. Mendonça, M. A. et al. Alterações físico-químicas em óleos de soja submetidos ao processo de fritura em unidade de produção de refeição no Distrito Federal. *Com. Ciências Saúde.* **2008**, 19, 115 – 122.
  20. Moyna, P.; Heinzen, H. Lípidos: química y productos naturales que los contienen. In *Farmacognosia: da planta ao medicamento*; Simões, C.M.O. et al.; Editora da UFSC: Florianópolis; Editora da UFRGS: Porto Alegre. **2010**; pp 435-466.
  21. Nascimento, C.J. Estudo químico e avaliação biológica de *Piper klotzschianum* Kunth (Piperaceae) e *Croton gregoioides* Baill (Euphorbiaceae). Thesis. Federal University of Bahia, **2010**.
  22. Ramarathnam, N.; Osawa, T.; Ochi, H.; Kawakishi, S. The contribution of plant food antioxidants to human health. *Trends in Food Science and Technology.* **1995**, 6, 75-82.
  23. Alessandra, B.; Marie-elisabeth, C.; Hubert, R.; Claudette, B. Antioxidant activity and phenolic composition of citrus peel and seed extracts. *J Agric Food Chem.* **1998**, 46, 2123-2129.
  24. Jayaprakasha, G. K.; Singh, R. P.; Sakariah, K. K. Antioxidant activity of grape seed (*Vitisvinifera*) extracts on peroxidation models in vitro. *Food Chemistry.* **2001**, 73, 285-290.
  25. Puravankara, D.; Boghra, V.; Sharma, R. S. Effect of antioxidant principles isolated from mango (*Mangifera indica* L.) seed kernels on oxidative stability of buffalo ghee (butterfat). *Journal of the Science of Food and Agriculture.* **2000**, 80, 522-526.
  26. Krygier, K., F. Sosulski and L. Hogge, **1982**. Free, esterified and insoluble-bound phenolic acids. I. Extraction and purification procedure. *J. Agric. Food Chem.*, 30: 330-334.
  27. Naczki, M.; Amarovicz, R.; Sullivan, A.; Shahidi, F. Current research development on polyphenolic on rapeseed/canola, a review. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* **1998**, 62, 489-502.
  28. Wanasundara, U. N.; Amarovicz, R.; Shahidi, F. Isolation and identification of an antioxidative component in canola. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* **1994**, 42, 1285-1290.
  29. Kubicka, E.; Jedrychowski, L.; Amarowicz, R. Effect of phenolic compounds extracted from sunflower seeds on native lipoxigenase activity. *Grasas y Aceites.* **1999**, 50, 3206-3209.
  30. Balasinska, B.; Troszynska, A. Total antioxidant activity of evening primrose (*Oenothera paradoxa*) cake extract measured in vitro by liposome model and murine L1210 cells. **1998**. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 46, p. 3558-3563.
  31. Wettasinghe, M.; Shahidi, F. Evening primrose meal, a source of natural antioxidants and scavenger of hydrogen peroxide and oxygen-derived free radicals. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* **1999**, 47, 1801-1812.
  32. Shahidi, F. Natural Antioxidants: An Overview “in” Natural Antioxidants Chemistry, Health Effects, and Applications. AOCS Press: Champaign, Illinois, p. 1-11. **1996**.
  33. Oomah, B. D.; Kenaschuk, E. O.; Mazza, G. Phenolic acids in flaxseed. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* **1995**, 43, 2019-2026.
  34. Tsaliki, E.; Lagouri, V.; Doxastakis, G. Evaluation of the antioxidant activity of lupin seed flour and derivatives (*Lupinus albus* ssp. *Graecus*). *Food Chemistry.* **1999**, 65, 71-75.
  35. Souza, C.M. et al Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. *Quimica Nova.* **2007**, 30, 351-355.

Liz P. do Rosário\*, Paulo V. L. de Sousa, Ellen Nayara M. B. Fernandes & Giuliana M. V. Verde.

Ciências Exatas e Tecnológicas. Universidade Estadual de Goiás.  
Anápolis, GO.

\*E-mail: liz\_paulinha@hotmail.com