

PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS INSATURADOS DO ÓLEO DE ROMÃ: UMA MATRIZ LIPÍDICA CANDIDATA A BIOINSETICIDA

Gabriel M. O. da Silva¹; David E. Q. Jimenez¹; Irlon M. Ferreira¹; Victor H. S. Marinho¹

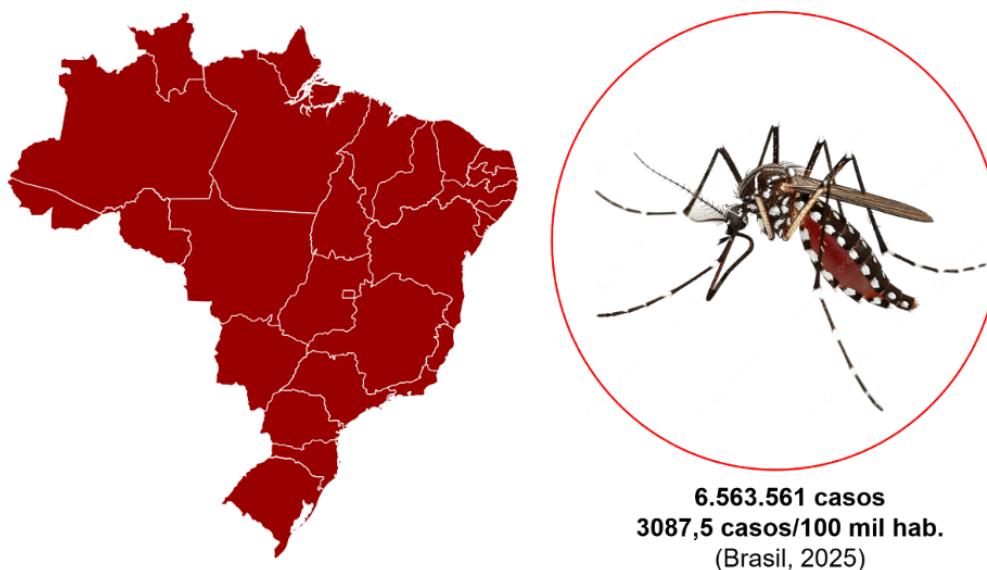
¹Laboratório de Biotáctise e Síntese Orgânica Aplicada (BIORG), Universidade Federal do Amapá - Unifap
gmarques.crc@gmail.com

Palavras-Chave: Ácido púnico, *Punica granatum*, Óleo de sementes

Introdução

O Boletim Epidemiológico da Comissão de Vigilância em Saúde do Mercosul (COVIGSAL) revela que, em 2024, o Brasil registrou 6.563.561 casos prováveis de Dengue, correspondendo a uma incidência de 3.087,5 casos por 100 mil habitantes, incidência 2,5 vezes maior que a da Argentina (1.237,1/100 mil) e a do Paraguai (1.359,0/100 mil), e cerca de 97 vezes maior que a do Uruguai (31,8/100 mil). O país também concentrou a maior taxa de mortalidade específica por Dengue entre os quatro países do bloco (3,0 óbitos por 100 mil habitantes) [1]. Esse cenário evidencia a magnitude da transmissão do vírus pelo mosquito *Aedes aegypti* no país, cuja ampla dispersão em contextos urbanos está associada a determinantes ambientais e sanitários deficientes [2,3]. O controle vetorial ainda depende majoritariamente do uso de inseticidas sintéticos, os quais apresentam longos períodos de meia-vida e alta afinidade pela matéria orgânica dos solos, causando poluição ambiental, desestabilização de ecossistemas e riscos de intoxicação a humanos e a espécies não-alvo [4]. Além disso, o uso contínuo desses compostos tem selecionado populações de *Ae. aegypti* resistentes, reduzindo progressivamente a eficácia das campanhas de controle químico [5,6].

Figura 1: Incidência de Dengue no Brasil em 2024 e seu vetor de transmissão, *Aedes aegypti*.



Fonte: autor (2026)



Diante desse cenário, extratos vegetais e óleos naturais vêm sendo investigados como alternativas de controle, por apresentarem atividade larvicida frente a diferentes espécies de mosquitos, associada a menor toxicidade a organismos não-alvo e menor indução de resistência [7,8]. Entre esses compostos, os ácidos graxos e seus derivados destacam-se pelo potencial bioinseticida já demonstrado: o ácido oleico isolado do óleo das sementes de *Jatropha curcas* apresentou atividade larvicida direta contra *Ae. aegypti* [9], enquanto ésteres metílicos de ácidos graxos alteraram a atividade da Na^+/K^+ -ATPase e a integridade de membranas em larvas de *Culex quinquefasciatus*, sugerindo um mecanismo de ação relacionado à ruptura da homeostase iônica e das membranas celulares larvais [10]. Esses achados indicam que matrizes lipídicas ricas em ácidos graxos insaturados constituem uma classe de bioinseticidas ainda pouco explorada.

Nesse contexto, a romã (*Punica granatum*) apresenta-se como matéria-prima promissora. Suas sementes acumulam elevadas proporções de ácido púnico (C18:3 - 9Z,11E,13Z), um ácido graxo insaturado conjugado incomum, ao qual são atribuídas diversas atividades biológicas já descritas para a espécie, como efeitos antioxidante, anti-inflamatório, antimicrobiano e imunomodulador [11–13]. Estudos recentes confirmam que esse ácido graxo pode corresponder a mais de 60 a 80% do óleo das sementes [14].

No que se refere especificamente ao controle de mosquitos, a romã já demonstrou bioatividade: extratos da casca, ricos em compostos fenólicos como a punicalagina, apresentaram atividade larvicida frente a *Culex pipiens* [15,16]. Entretanto, tais estudos avaliaram uma fração de composição predominantemente fenólica, frente a uma espécie distinta de mosquito. O potencial larvicida do óleo das sementes, matriz lipídica dominada pelo ácido púnico, frente a *Ae. aegypti* permanece inexplorado na literatura.

Diante desse contexto, a caracterização química do óleo das sementes de romã, com ênfase na identificação e quantificação de seus ácidos graxos constituintes, é etapa fundamental para subsidiar futuras avaliações de seu potencial larvicida frente a *Ae. aegypti*. Sendo assim, este trabalho tem como objetivo caracterizar, por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM) e por ressonância magnética nuclear (RMN), o perfil de ácidos graxos do óleo das sementes de romã, com vistas a subsidiar, em etapa futura, a avaliação de seu potencial bioinseticida frente a *Ae. aegypti*.

Material e Métodos

Preparo das amostras

Os frutos de romã foram adquiridos em comércio varejista na cidade de Macapá (AP). Os frutos foram lavados com água corrente e as sementes foram isoladas. As sementes foram fermentadas por 72 h em solução de água destilada e glicose (10:1 v/m) para facilitar a remoção da sarcotesta. Em seguida, as sementes foram friccionadas em peneira sob água corrente, para garantir a eliminação de resíduos da sarcotesta. Posteriormente, as sementes foram secas em estufa a 105 °C por 24 h, e trituradas em liquidificador.

Extração do óleo

A extração foi realizada em extrator Soxhlet clássico por 24 h (8 h/dia durante três dias), utilizando 20 g de sementes moídas e 200 mL de hexano. Ao extrato, adicionou-se sulfato de sódio anidro para remoção de água residual, seguido por filtração simples. O



excesso de solvente foi removido em evaporador rotativo sob pressão reduzida, com secagem complementar à temperatura ambiente.

Reação de transesterificação catalisada por lipase

Em balão de reação de 50 mL, adicionou-se 1 g de óleo de romã, 3 mL de álcool etílico P.A e 0,1 g (10% m/m) da enzima lipase Amano AK (*Pseudomonas fluorescens*). A mistura foi mantida sob agitação magnética por 72 h à temperatura ambiente. Em seguida, foi seca com sulfato de sódio anidro, filtrada, e o excesso de solvente foi removido em evaporador rotativo sob pressão reduzida.

Caracterização por Ressonância Magnética Nuclear de prótons (^1H RMN)

O óleo de romã foi caracterizado por RMN em espectrômetro Agilent Technologies 500 MHz Premium Shielded, operando a 500 MHz, utilizando clorofórmio deuterado (CDCl_3) como solvente e tetrametilsilano (TMS) como referência interna. Os deslocamentos químicos foram expressos em ppm.

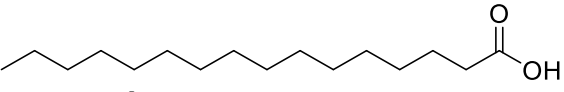
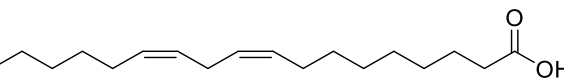
Caracterização por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG-EM)

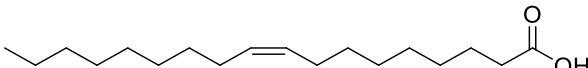
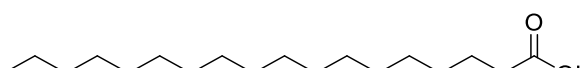
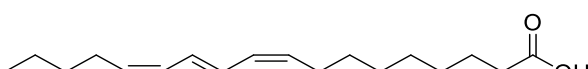
Os produtos do óleo transesterificado (FAEE) foram analisados por CG-EM em sistema Shimadzu GC2010 com detector de massas (MS2010 plus) em modo de ionização por elétrons (EI, 70 eV), equipado com coluna RTX-5MS (30 m $\times$ 0,25 mm $\times$ 0,25 μm). O programa de temperatura iniciou-se a 130 $^\circ\text{C}$ (2 min), com aumento a 5 $^\circ\text{C}/\text{min}$ até 290 $^\circ\text{C}$, mantida por 2 min. A análise totalizou 36 min, com injetor e detector operando a 210 $^\circ\text{C}$, injeção de 1 μL em modo *split* 1:15 e hélio como gás de arraste (1,0 mL/min). Íons na faixa m/z 40-500 foram monitorados entre 3 e 36 min. Os componentes foram identificados por comparação dos espectros com a biblioteca Wiley.

Resultados e Discussão

Cinco ácidos graxos majoritários foram identificados no óleo das sementes de romã (Tabela 1), com similaridade espectral superior a 84%. Verificou-se a predominância do ácido púnico (63,08%), seguido dos ácidos palmítico (13,14%), oleico (12,48%), esteárico (6,46%) e linoleico (4,83%), resultando em um perfil dominado por ácidos graxos polinsaturados (67,91%), frente a 19,6% de saturados e 12,48% de monoinsaturados, o que corrobora a natureza lipídica predominantemente polinsaturada já descrita para essa matriz.

Tabela 1: Perfil de ácidos graxos do óleo das sementes de romã

Pico	Ácido graxo correspondente	Tempo de retenção (min)	Área de integração (%)	Similaridade
1	 Ácido palmítico (C16:0)	14,702	13,14	95
2	 Ácido linoleico (C18:2)	17,255	4,83	93

3		17,343	12,48	94
Ácido oleico (C18:1)				
4		17,701	6,46	93
Ácido esteárico (C18:0)				
5		19,365	63,08	84
Ácido púnico (C18:3)				
% Saturado			19,6	
% Monoinsaturado			12,48	
% Polinsaturado			67,91	

Fonte: autor (2026)

Esse perfil rico em ácido púnico e gorduras polinsaturadas é consistente com relatos de óleos de sementes de romã de diferentes origens e métodos de extração (Tabela 2): Frascchetti *et al.* [17] caracterizaram o óleo extraído de duas cultivares (Granato e Roce) usando Soxhlet (G1 e R1) e CO₂/Propan-2-ol Supercrítico (G2 e R2); Siano *et al.* [18] obtiveram o óleo por prensagem a frio e avaliaram a influência do estresse térmico sob o seu perfil de ácidos; e Dimitros *et al.* [19], que estudaram o impacto do método de secagem das sementes nos constituintes do óleo.

Tabela 2: Comparação do teor de ácido púnico e do grau de saturação do óleo de romã com valores reportados na literatura.

		Ácido púnico (C18:3)	Saturado	Monoinsaturado	Polinsaturado
Este trabalho		63,08	19,60	12,48	67,91
Frascchetti <i>et al.</i> (2025)	G1	84,8 ± 0,1	3,10	5,30	91,60
	G2	84,7 ± 1,1	3,30	4,70	92,00
	R1	81,1 ± 1,5	2,90	7,20	89,90
	R2	80,3 ± 1,6	3,30	8,30	88,40
Siano <i>et al.</i> (2016)	50 °C	55,27 ± 2,40	8,17 ± 0,16	9,84 ± 0,29	74,32
	90 °C	8,66 ± 1,05	9,85 ± 0,66	9,09 ± 0,70	73,38
	170 °C	46,33 ± 3,05	6,98 ± 0,38	7,04 ± 0,50	70,16
Dimitros <i>et al.</i> (2026)	FD	85,11 ± 0,47	3,57 ± 0,22	3,02 ± 0,13	93,41 ± 0,34
	MD	79,78 ± 0,16	5,70 ± 0,09	3,76 ± 0,09	88,98 ± 2,71
	CD	83,46 ± 0,30	4,24 ± 0,29	2,91 ± 0,02	92,85 ± 0,32

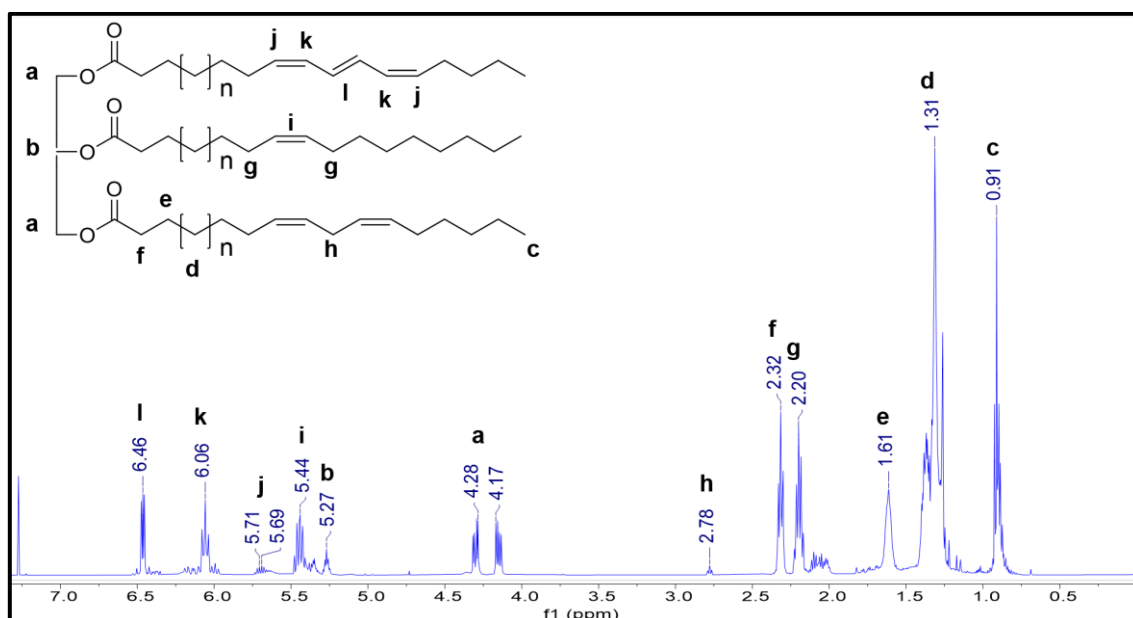
Fonte: autor (2026)

O valor de ácido púnico obtido (63,08%), embora dentro da faixa relatada na literatura (60-80%), situa-se no extremo inferior. O valor é inferior aos óleos de referência, incluindo

aqueles obtidos por protocolo de extração similar (hexano em Soxhlet), logo a hipótese do método é pouco provável. Siano *et al.* [18] demonstraram que a transesterificação ácida a 90 °C reduz drasticamente o ácido púnico (de 55,27% para 8,66%, com redistribuição para isômeros posicionais e geométricos), ao passo que a reação branda a 50 °C preserva o perfil nativo; como a transesterificação empregada neste trabalho foi enzimática, à temperatura ambiente, condição ainda mais branda que os 50 °C do estudo citado, a isomerização térmica é pouco plausível. Sendo assim, o valor é provavelmente atribuível à origem geográfica e cultivar do fruto, variáveis já reconhecidas como determinantes da composição de ácidos graxos do óleo [14].

O espectro de ^1H RMN (Figura 2) corroborou o perfil composicional. Os duplos dupletos (*dd*) em δ 4,17 e 4,28 foram atribuídos aos hidrogênios metilênicos diastereotópicos do glicerol, e o multipletos (*m*) em δ 5,27, ao hidrogênio metínico do mesmo esqueleto, sinais característicos de triacilgliceróis não derivatizados [21,22]. Os multipletos em δ 2,20 e 2,78 corresponderam, respectivamente, a hidrogênios alílicos e bis-alílicos das cadeias insaturadas, conforme atribuições clássicas descritas para óleos vegetais [22]. Os multipletos em δ 5,44, 5,69-5,71 e 6,06 foram atribuídos a hidrogênios olefinicos, ao passo que o multipletos em δ 6,46, ausente em óleos ricos apenas em ácidos graxos de insaturações isoladas, foi atribuído ao hidrogênio olefínico interno da dupla ligação trans central do sistema trienoico conjugado (9Z,11E,13Z) do ácido púnico, funcionando como sinal diagnóstico que corrobora a predominância desse ácido graxo.

Figura 2: Espectro de ^1H RMN (500 MHz, CDCl_3) do óleo das sementes de romã, com sinais rotulados (a-l) correspondentes às atribuições estruturais dos triacilgliceróis.



Fonte: Autor (2026)

Esse forte desblindamento é característico dos hidrogênios "internos" de duplas ligações conjugadas, que segundo cálculos de DFT e dados experimentais de ácidos linolênicos conjugados aparecem próximos ou além da região de compostos aromáticos [20]. Padrão semelhante de RMN de ^1H e ^{13}C para o ácido púnico ligado a triacilgliceróis do óleo



de sementes de romã foi relatado por Siano *et al.* [18], que associaram RMN, CG e espectrometria de massas na caracterização estrutural dessa matriz lipídica.

A convergência entre CG-EM e RMN de ^1H confirma que o óleo das sementes de romã é uma matriz lipídica rica em ácidos graxos polinsaturados, com destaque para o ácido púnico. Esse perfil reforça a candidatura do óleo a bioinseticida: ácidos graxos insaturados e seus derivados já demonstraram atividade larvicida direta contra *Ae. aegypti* e alteração da atividade da Na^+/K^+ -ATPase em larvas de *Culex quinquefasciatus* [9,10], mecanismo compatível com a natureza lipídica e o grau de insaturação aqui verificados. Os resultados obtidos fornecem, portanto, o embasamento químico necessário para a avaliação, em etapa futura, do potencial bioinseticida desse óleo frente a *Ae. aegypti*.

Conclusões

Este trabalho teve como objetivo caracterizar, por CG-EM e RMN de ^1H , o perfil de ácidos graxos do óleo das sementes de romã, de modo a subsidiar, em etapa futura, a avaliação de seu potencial bioinseticida frente a *Ae. aegypti*. Os resultados obtidos permitem concluir que esse objetivo foi plenamente alcançado. A análise por CG-EM revelou um perfil dominado por ácidos graxos polinsaturados (67,91%), com destaque para o ácido púnico (63,08%), seguido dos ácidos palmítico (13,14%), oleico (12,48%), esteárico (6,46%) e linoleico (4,83%). O espectro de ^1H RMN corroborou de forma consistente essa composição, evidenciando sinais característicos de triacilgliceróis não derivatizados e, sobretudo, o sinal diagnóstico em δ 6,46, atribuído ao hidrogênio olefínico interno do sistema trienoico conjugado do ácido púnico, confirmando sua predominância na matriz lipídica.

Embora o teor de ácido púnico obtido tenha se situado no extremo inferior da faixa relatada na literatura (60-80%), a análise comparativa com estudos prévios indica que essa variação é provavelmente atribuível à origem geográfica e cultivar do fruto utilizado, e não a artefatos do método de extração ou transesterificação empregados, uma vez que a reação enzimática branda à temperatura ambiente preserva o perfil nativo de ácidos graxos.

O elevado grau de insaturação identificado, associado à predominância do ácido púnico, é compatível com os mecanismos de ação larvicida já descritos na literatura para ácidos graxos insaturados, como a alteração da atividade da Na^+/K^+ -ATPase e a ruptura de membranas celulares em larvas de culicídeos. Dessa forma, a caracterização química aqui realizada fornece o embasamento necessário para a próxima etapa do projeto, voltada à avaliação experimental direta da atividade larvicida do óleo de romã frente a *Ae. aegypti*.

Referências

- [1] MERCOSUL/COVIGSAL. Boletim Epidemiológico Mercosul COVIGSAL. Vol. 3. Brasília (DF): Ministério da Saúde, 2025. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/centrais-de-conteudo/publicacoes/boletins/epidemiologicos/especiais/2025/boletim-epidemiologico-mercosul-covigsal.pdf/view>.
- [2] ALMEIDA, L. S.; COTA, A. L. S.; RODRIGUES, D. F. Sanitation, arboviruses, and environmental determinants of disease: Impacts on urban health. **Ciência e Saúde Coletiva**, 25(10), 3857–3868, 2020.
- [3] ZARA, A. L. S. A. et al. Estratégias de controle do *Aedes aegypti*: uma revisão. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, 2016.
- [4] RODRIGUES, A. M. et al. Different susceptibilities of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* larvae to plant-derived products. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, 52, 2019.



- [5] RAMACHANDRAN, M.; DEEPIKA, N.; JAYAKUMAR, M. Toxicity of *Ocimum americanum* L. extracts against *Aedes aegypti* larvae (Diptera: Culicidae) and their impact on insecticide resistance. **Archives of Insect Biochemistry and Physiology**, 113(1), e21961, 2022.
- [6] O'NEAL, S. T.; JOHNSON, E. J.; RAULT, L. C.; ANDERSON, T. D. Vapor delivery of plant essential oils alters pyrethroid efficacy and detoxification enzyme activity in mosquitoes. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, 157, 88–98, 2019.
- [7] SILVA, D. M. L.; EMANUEL, V.; MARTINS, P. Essential oils and plant extracts as alternative tools for chemical control of *Aedes* spp, *Anopheles* spp, and *Culex* spp. **J. Health Biol Sci**, 10(1), 1–15, 2022.
- [8] BENELLI, G. et al. Larvicidal activity of *Blumea eriantha* essential oil and its components against six mosquito species, including Zika virus vectors. **Parasitology Research**, 116(4), 1175–1188, 2017.
- [9] CANTRELL, C. L.; ALI, A.; DUKE, S. O.; KHAN, I. Identification of mosquito biting deterrent constituents from the Indian folk remedy plant *Jatropha curcas*. **Journal of Medical Entomology**, 48(4), 836–845, 2011.
- [10] SILVA, L. N. D. et al. The Influence of Fatty Acid Methyl Esters (FAMES) in the Biochemistry and the Na⁺/K⁺-ATPase Activity of *Culex quinquefasciatus* Larvae. **The Journal of Membrane Biology**, 249(4), 459–467, 2016.
- [11] GE, Shasha et al. A unique understanding of traditional medicine of pomegranate, *Punica granatum* L. and its current research status. **Journal of Ethnopharmacology**, 2021.
- [12] KOBYLÍŃSKA, Z. et al. Phytochemical Diversity of *Punica granatum* L. and Its Multi-Target Biological Functions. **Nutrients**, 18(8), 1306, 2026.
- [13] MENDES, P. M. et al. Therapeutic Potential of *Punica granatum* and Isolated Compounds: Evidence-Based Advances to Treat Bacterial Infections. **International Journal of Microbiology**, 2023, 4026440, 2023.
- [14] FERRAZ, L. P.; SILVA, E. K. Multi-stage ethanol-water biorefining of pomegranate pomace by-product enables time-resolved fractionation of fatty acids, phenolics and protein-rich residual biomass. **Bioresource Technology**, 442, 133734, 2025.
- [15] BAZ, M. M. et al. Chemical composition and bio-efficacy of agro-waste plant extracts and their potential as bioinsecticides against *Culex pipiens* mosquitoes. **Parasitology International**, 104, 102968, 2024.
- [16] SALEM, A. M.; FARAG, S. M.; GAD, H. A.; AL-SAYED, E.; EL-AHMADY, S. H. Anti-*Culex pipiens* activity of different pomegranate cultivars and determination of their bioactive compounds using LC-MS profiling. **Phytochemical Analysis**, 35(3), 507–520, 2024.
- [17] FRASCHETTI, C.; FILIPPI, A.; IAZZETTI, A.; FABRIZI, G.; CAIRONE, F.; CESA, S. Comparative Profiling of Volatile Compounds and Fatty Acids in Pomegranate Seed Oil: Soxhlet vs. CO₂/IPA Extraction for Quality and Circular Bioeconomy Goals. **Foods**, 14(17), 2951, 2025.
- [18] SIANO, F.; ADDEO, F.; VOLPE, M. G.; PAOLUCCI, M.; PICARIELLO, G. Oxidative Stability of Pomegranate (*Punica granatum* L.) Seed Oil to Simulated Gastric Conditions and to Thermal Stress. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 64(44), 8369–8378, 2016.
- [19] DIMITROS, I.; KRITIKOU, A. S.; PAPASTAVROPOULOU, K.; GIANNOGLOU, M.; KATSAROS, G.; THOMAIDIS, N.; VALDRAMIDIS, V.; DASENAKI, M. A Comprehensive Study of Pomegranate Seed Oil Bioactive Content: Assessing the Impact of Drying on Its Quality Parameters and Chemical Profile. **Journal of Food Science**, 91(1), e70873, 2026.
- [20] VENIANAKIS, T.; OIKONOMAKI, C.; SISKOS, M. G.; PRIMIKYRI, A.; GEROTHANASSIS, I. P. DFT Calculations of ¹H NMR Chemical Shifts of Geometric Isomers of Conjugated Linolenic Acids, Hexadecatrienyl Pheromones, and Model Triene-Containing Compounds. **Molecules**, 26(11), 3477, 2021.
- [21] HANGANU, A.; TODAȘCĂ, M.-C.; CHIRA, N.-A.; MAGANU, M.; ROȘCA, S. The compositional characterisation of Romanian grape seed oils using spectroscopic methods. **Food Chemistry**, 134(4), 2453–2458, 2012.



[22] LUNDBOM, J.; HEIKKINEN, S.; FIELDING, B.; HAKKARAINEN, A.; TASKINEN, M.-R.; LUNDBOM, N. PRESS echo time behavior of triglyceride resonances at 1.5T: detecting omega-3 fatty acids in adipose tissue in vivo. **Journal of Magnetic Resonance**, 201(1), 39–47, 2009.