



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
INSTITUTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA



Dissertação de Mestrado

KARLA BRITO OLIVEIRA

**ESTUDO QUÍMICO DE ÓLEOS DE SEMENTES
DE PLANTAS OLEAGINOSAS ENCONTRADAS
NA BAHIA**

Salvador – BA

2016

KARLA BRITO OLIVEIRA

**ESTUDO QUÍMICO DE ÓLEOS DE SEMENTES DE PLANTAS
OLEAGINOSAS ENCONTRADAS NA BAHIA**

**Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação
em Química, Instituto de Química, Universidade Federal da
Bahia, como requisito parcial para obtenção do grau de
Mestre em Química.**

Orientador: Prof. Dr. Wilson Araújo Lopes

Salvador – BA

2016

Sistema de Bibliotecas / IQ - UFBA

Oliveira, Karla Brito

Estudo químico de óleos de sementes de plantas oleaginosas encontradas na Bahia. / Karla Brito Oliveira. - 2016.
89 f. : il.

Orientador: Prof. Dr. Wilson Araújo Lopes.
Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal da Bahia. Instituto de Química, Salvador, 2016.

1. Sementes oleaginosas – Bahia. 2. Óleos e gorduras – Análise. 3. Ésteres metílicos. 4. Análise cromatográfica. I. Lopes, Wilson Araújo. II. Universidade Federal da Bahia. Instituto de Química. III. Título.

CDD: 663.85

CDU: 665.3

TERMO DE APROVAÇÃO

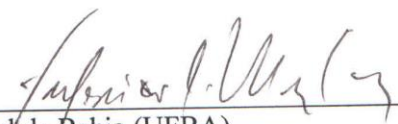
KARLA BRITO OLIVEIRA

“ESTUDO QUÍMICO DE ÓLEOS DE SEMENTES DE PLANTAS OLEAGINOSAS
ENCONTRADAS NA BAHIA”

Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Química,
Universidade Federal da Bahia, pela seguinte banca examinadora:

Prof. Dr. Wilson Araújo Lopes 
Doutorado em Química, Universidade Federal da Bahia (UFBA)
Universidade Federal da Bahia

Prof. Dr. Jorge Maurício David 
Doutorado em Química, Universidade de São Paulo (USP)
Universidade Federal da Bahia

Prof. Dr. Frederico de Medeiros Rodrigues 
Doutorado em Química, Universidade Federal da Bahia (UFBA)
Faculdade Maria Milza

Salvador, 16 de fevereiro de 2016.

*À Deus,
Aos meus pais e irmã,
Ao meu marido,
Aos Ausentes,
Aos amigos
Ao meu sogro e sogra.*

AGRADECIMENTOS

À Deus, Senhor dos senhores, Reis dos reis que nos orienta e concede a graça, a sabedoria e o conhecimento.

A toda minha família, especialmente aos meus pais Carlos Alberto Oliveira e Edeil Brito e a minha irmã Livia, os quais me apoiaram independentemente da circunstância.

A Jader, pelo apoio, cumplicidade, paciência na realização deste trabalho.

A Estefane por prestar suporte e colaborações fundamentais na finalização deste trabalho.

Aos amigos Claudiane, Everaldo, Garrido, Laís, Larissa, Rafaela, Willian e em especial a Grazielle por seu constante apoio, companheirismo e dedicação.

Aos amigos dado por Deus ao longo da vida pelo apoio, torcida e orações.

Em especial a Paulo e a Fábio por suas contribuições mais que valorosas.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Wilson A. Lopes, pela confiança, paciência e orientação.

Ao meu co-orientador, Prof. Dr. Frederico M. Rodrigues, pelas contribuições e confiança.

Aos colegas de laboratório que fazem e fizeram parte do desenvolvimento do trabalho.

Ao Programa de Pós-Graduação em Química da UFBA, pela oportunidade.

À Empresa Baiana de Desenvolvimento Agrícola, pela oportunidade e colaboração.

Aos colegas do Instituto de Química pela solidariedade e disponibilidade.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia (FAPESB) pela bolsa concedida.

A todos os professores que fizeram parte da minha formação acadêmica desde o maternal até a pós-graduação, em especial ao Professor Dr, Mauro Korn por me apresentar o mundo da ciência e tornar a química para mim a mais interessante delas.

SUMÁRIO

Lista de Figuras	VIII
Lista de Tabelas	X
Lista de Abreviatura e Siglas	XI
Resumo	XII
Abstract	XIII
1.0 INTRODUÇÃO	1
JUSTIFICATIVA	1
2.0 OBJETIVOS	3
2.1 OBJETIVO GERAL	3
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	3
3.0 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	4
3.1 OLEAGINOSAS	4
3.2 APLICABILIDADE DE ÓLEOS VEGETAIS.....	6
3.3 COMPOSIÇÃO DE ÓLEOS VEGETAIS	9
3.4 EXTRAÇÃO.....	10
3.5 TRATAMENTO E PROPRIEDADES DE ÓLEOS VEGETAIS.....	11
3.5.1 REFINO DE ÓLEO VEGETAL	11
3.5.1.1 Neutralização	12
3.5.1.2 Degomagem	12
3.5.2 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS.....	12
3.5.2.1 Índice de Acidez	13
3.5.2.2 Índice de Peróxido.....	133
3.5.2.3 Grau de Umidade	13
3.6 DERIVATIZAÇÃO DE ÓLEOS À ÉSTERES METÍLICOS DE ÁCIDOS GRAXOS.....	14
3.7 TÉCNICAS CROMATOGRÁFICAS DE ANÁLISE	16
3.7.1 CROMATOGRAFIA EM CAMADA DELGADA (CCD)	16
3.7.2 CROMATOGRAFIA LÍQUIDA EM COLUNA (CL).....	16
3.7.3 CROMATOGRAFIA GASOSA ACOPLADA A ESPECTROMETRIA DE MASSA (GC-MS).	17
3.8 QUIMIOMETRIA.....	18

3.9	PREDIÇÃO DE PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS POR MODELAGEM MATEMÁTICA	18
4.0	EXPERIMENTAL	20
4.1	MATERIAIS E MÉTODOS	20
4.1.1	COLETA E IDENTIFICAÇÃO BOTÂNICA	22
4.1.2	PREPARO DAS AMOSTRAS	22
4.1.3	EXTRAÇÃO DE ÓLEO DE SEMENTES	24
4.1.4	PURIFICAÇÃO DOS ÓLEOS	24
4.1.5	CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DOS ÓLEOS DE SEMENTES	24
4.1.6	DERIVATIZAÇÃO DE TRIACILGLICEROIS EM ÉSTERES METÁLICOS	25
4.1.7	CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DOS ÓLEOS VEGETAIS	26
4.1.8	ANÁLISE ESTATÍSTICA MULTIVARIADA	28
5.0	RESULTADOS E DISCUSSÃO	30
5.1	GRAU DE UMIDADE DAS SEMENTES	30
5.2	PERCENTAGENS DE ÓLEO NAS SEMENTES	31
5.3	PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS DOS ÓLEOS VEGETAIS	33
5.4	FORMAÇÃO DOS ÉSTERES METÁLICOS A PARTIR DA REAÇÃO DE TRANSESTERIFICAÇÃO	35
5.5	CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DOS ÓLEOS POR GC-MS	36
5.5.1	IDENTIFICAÇÃO DE ÉSTERES METÁLICOS COMUNS A TODAS AS SETE ESPÉCIES ESTUDADAS	46
5.5.2	IDENTIFICAÇÃO DE ÉSTERES METÁLICOS NÃO COMUNS A TODAS AS SETE ESPÉCIES ESTUDADAS	50
5.5.2.1	IDENTIFICAÇÃO DO CIS-10- HEPTADECENOATO DE METILA	51
5.5.2.2	IDENTIFICAÇÃO DE MIRISTOLEATO DE METILA	51
5.5.2.3	IDENTIFICAÇÃO DE LAURATO DE METILA	51
5.6	ANÁLISE EXPLORATÓRIA DE DADOS	52
5.7	PREDIÇÃO DAS PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS	59
6.0	CONCLUSÕES	63
7.0	PERSPECTIVAS PARA TRABALHOS FUTUROS	64
8.0	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	65

Lista de Figuras

Figura 1.	Produção mundial de óleo vegetal	2
Figura 2.	Estrutura do ácido docosa-hexaenoico (DHA)	6
Figura 3.	Matérias-primas utilizadas na produção do biodiesel	8
Figura 4.	Estrutura molecular de triacilglicerol	9
Figura 5.	Principais ácidos graxos saturados e insaturados	10
Figura 6.	Sistema Soxhlet em reciclo	11
Figura 7.	Estrutura fosfolipídica	12
Figura 8.	Reação de transesterificação	14
Figura 9.	Representação de uma placa cromatográfica	16
Figura 10.	Sementes das espécies oleaginosas estudadas	23
Figura 11.	Programa de aquecimento do forno na determinação de FAME por GC-MS em coluna DB-23 MS	27
Figura 12.	Sistema GC-MS utilizado na caracterização dos Ésteres Metílicos de Ácidos Graxos provenientes da derivatização dos óleos das sementes analisadas	28
Figura 13.	Esquema experimental	29
Figura 14.	Teor de óleo para as espécies estudadas	32
Figura 15.	Teor de óleo das 7 espécies de sementes analisadas	32
Figura 16.	(I) formação do íonsacilo. (II) Formação do pico base $m/z=74$ pelo rearranjo de McLafferty	37
Figura 17.	Cromatograma de íons totais da solução padrão	37
Figura 18.	Cromatograma de íons totais da semente de <i>H. tiliaceus</i> (Algodão de Praia).	39
Figura 19.	Cromatograma de íons totais da semente de <i>V. officinalis</i> (Bicuiba).	40
Figura 20.	Cromatograma de íons totais da semente de <i>B. glabra</i> (Castanha de Sabão).	41
Figura 21.	Cromatograma de íons totais da semente de <i>G. flexuosa</i> (Feijão de Boi).	42
Figura 22.	Cromatograma de íons totais da semente de <i>S. guianensis</i> (Limão Bravo).	43
Figura 23.	Cromatograma de íons totais da semente de <i>M. oleífera</i> (Moringa).	44
Figura 24.	Cromatograma de íons totais da semente de <i>J. curcas</i> (Pinhão Manso).	45

Figura 25.	Espectros de massa de ésteres metílicos saturados comuns as sete amostras em estudo.	46
Figura 26.	Espectros de massa de ésteres metílicos monoinsaturados comuns as sete amostras em estudo.	48
Figura 27.	Espectros de massa de ésteres metílicos com duas insaturações comuns as sete amostras em estudo..	49
Figura 28.	Espectros de massa de ésteres metílicos com três insaturações comuns as sete amostras em estudo..	50
Figura 29.	Espectro de massas de cis-10-heptadecenoato de metila para as amostras de AP, CV, FB, MO e PM.	50
Figura 30.	Espectro de massas de miristoleato de metila para as amostras de AP, BI e PM	51
Figura 31.	Espectros de massa de laurato de metila para as amostras de AP, BI, CV, FB e PM	51
Figura 32.	Resultados da normalização das concentrações de compostos	53
Figura 33.	Gráfico dos escores	54
Figura 34.	Gráfico de loadings	55
Figura 35.	Análise por grupamento hierárquico	56

Lista de Tabelas

Tabela 1.	Identificação botânica das amostras coletadas.	22
Tabela 2.	Grau de umidade das sementes.	30
Tabela 3.	Propriedades físico-químicas dos óleos brutos das sementes	34
Tabela 4.	Resultados da conversão dos óleos a ésteres metílicos.	35
Tabela 5.	Constituintes da solução padrão 5 µg/ mL.	38
Tabela 6.	Constituintes identificados no produto da transesterificação do óleo nas sementes de Algodão de Praia (<i>H. tiliaceus</i>).	39
Tabela 7	Constituintes identificados no produto da transesterificação do óleo nas sementes de Bicuiba (<i>V. officinalis</i>).	40
Tabela 8.	Constituintes identificados no produto da transesterificação do óleo nas sementes de Castanha de Sabão (<i>B. glabra</i>).	41
Tabela 9.	Constituintes identificados no produto da transesterificação do óleo nas sementes de Feijão de Boi (<i>G. flexuosa</i>).	42
Tabela 10.	Constituintes identificados no produto da transesterificação do óleo nas sementes de Limão Bravo (<i>S. guianensis</i>).	43
Tabela 11.	Constituintes identificados no produto da transesterificação do óleo nas sementes de Moringa (<i>M. oleífera</i>).	44
Tabela 12.	Constituintes identificados no produto da transesterificação do óleo nas sementes de Pinhão Manso (<i>J. curcas</i>).	45
Tabela 13.	Concentração majoritária dos FAME das amostras	52
Tabela 14.	Constituintes principais de FAME das amostras analisadas.	57
Tabela 15.	Número de Cetano conforme predição matemática de Klopfenstein.	59
Tabela 16.	Índice de iodo de FAME conforme aplicação da expressão proposto por Kobori e Jorge.	60

Lista de Abreviatura e Siglas

ANP -	Agência Nacional de Petróleo Gás Natural e Biocombustíveis;
AGL -	Ácido graxo livre;
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária;
AOCS -	Sociedade Americana de Óleos Químicos (do inglês, <i>American Oil Chemists' Society</i>);
ASTM -	Sociedade Americana de Testes e Materiais (do ingles, <i>American Society for Testing and Materials</i>);
AP -	Algodão de praia;
BI -	Bicuiba;
CV -	Castanha de Sabão;
CCD -	Cromatografia em Camada Delgada;
GC -	Cromatografia Gasosa (do inglês, <i>Chromatography Gas</i>) ;
GC-MS	Cromatografia Gasosa Acoplada a Espectrometria de Massa (do inglês, <i>Gas chromatography–mass spectrometry</i>)
EM	Ésteres Metílicos;
FAME -	Ésteres metílicos de ácidos graxos (do inglês, <i>Fatty Acid Methyl Esters</i>)
FB -	Feijão de Boi;
HCA -	Análise por Agrupamento Hierárquico (do inglês,);
IAL -	Instituto Adolfo Lutz;
IA -	Índice de Acidez;
II -	Índice de Iodo;
IP -	Índice de Peróxidos;
ISTA-	Associação Internacional de Análise de Sementes (do inglês, <i>International Seed Testing Association</i>)
LM -	Limão Bravo;
MP -	Matéria Prima;
M -	Moringa;
NIST	Instituto Nacional de Padrões e Tecnologia (do inglês, <i>National Institute of Standards and Technology</i>);
PCA-	Análise dos Componentes Principais (do inglês,);
PM -	Pinhão Manso;
R -	Radical graxo do éster;
t _R -	Tempo de retenção;

Resumo

O presente trabalho avaliou o perfil químico de óleos oriundos de sementes de plantas oleaginosas do Estado da Bahia, das culturas de Algodão de Praia (*Hibiscus tillaceus*), Moringa (*Moringa oleífera*), Feijão de Boi (*Cappari flexuosa*), Pinhão Manso (*Jatropha curcas*), Limão Bravo (*Siparuna guianensis*), Castanha de Sabão (*Bombacopsis glabra*) e Bicuiba (*Virola officinalis*). Inicialmente, as sementes foram avaliadas quanto ao teor de óleo, onde as espécies estudadas apresentam, respectivamente, as porcentagens em massa de 25,1; 35,1; 36,2; 51,2; 51,2; 57,0 e 58,6%. Os óleos obtidos tiveram suas propriedades físico-químicas avaliadas quanto ao índice de acidez, grau de umidade e índice de peróxido e, posteriormente, foram submetidas a reações de transesterificação por rota metílica, para a produção de ésteres metílicos. Posteriormente, os produtos das reações foram analisados por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (GC-MS), os ésteres obtidos foram identificados e suas porcentagens foram determinadas. Os seguintes ésteres metílicos foram identificados: éster do ácido oleico para Algodão de Praia (15,9%), Moringa (55,9%), Feijão de Boi (41,9%), Pinhão Manso (42,9%), Castanha de Sabão (26,7%); éster do ácido linoleico para Algodão de Praia (41,76%) e Pinhão Manso (29%); éster do palmitato para Algodão de Praia (26,6%), Castanha de Sabão (42,3%) e Feijão de Boi (27,7%). Também, a espécie Bicuiba teve destaque apresentando 80% da composição de ésteres metílicos dos ácidos láurico, mirístico, miristoleico e palmítico. As amostras foram diferenciadas mediante análise exploratória de dados por análise dos componentes principais (PCA) e por análise de agrupamento hierárquico (HCA), de maneira que foi possível discriminar as sete sementes estudadas em grupos distintos e definir os ésteres metílicos de ácidos graxos (FAME) de maior significância para definição dos grupos. Sendo FAME C16:1, C12:0, C14:0 para o bicuiba; C24:0, C22:0, C20:0 para moringa; C18:3 para feijão de boi; C18:0 LB; C18:0, C18:2, C18:1; C18:2 para castanha de sabão e C17:1 algodão de praia. Identificados os produtos das reações de transesterificação/esterificação por GC-MS, as misturas de FAME de cada oleaginosa foram avaliadas quanto ao índice de iodo e número de cetano a partir da aplicação de modelos matemáticos da literatura aberta. A partir dos cálculos efetuados foi possível estimar a capacidade redutora de autoignição de cada uma das amostras, onde a bicuiba destacou-se com bom potencial antioxidante (39,1 g I₂ 100 g⁻¹) e a moringa com alta capacidade de autoignição (82,6). Assim, através dos estudos realizados foi possível apontar o potencial de sementes de plantas oleaginosas para serem utilizadas como matérias-primas para possível aplicação na produção de cosméticos, fármacos, alimentos e biodiesel.

Palavras-chave: Sementes Oleaginosas; Óleos vegetais; Triacilglicerol; Ésteres metílicos de ácidos Graxos; Identificação de Ésteres metílicos.

Abstract

This study evaluated the chemical profile of oil derived from oil plants seeds of Bahia, Brazil, Algodão de Praia (*Hibiscus tillaceus*), Moringa (*Moringa oleifera*), Feijão de Boi (*Capparis flexuosa*), Pinhão Manso (*Jatropha curcas*), Limão Bravo (*Sibaruna guianensis*), Castanha de Sabão (*Bombacopsis glabra*) e Bicuiba (*Virola officinalis*). Initially the oil content of the seeds were evaluated, where the species present were studied by determining the mass of percentages of 25.1; 35.1; 36.2; 51.2; 51.2; 57.0 and 58.6%, respectively. The properties of the obtained oils were evaluated in their aspects physico-chemical for acidez level, degree of humidity and peroxide level and subsequently underwent transesterification reactions by methyl route in basic conditions, to produce methyl esters. Subsequently, the products of the reactions were analyzed by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS), the esters obtained were identified and their percentages were determined. The following methyl esters were identified: ester of oleic acid to Algodão de Praia (15.9%), Moringa (55.9%), Feijão de Boi (41.9%), Pinhão Manso (42.9%), Castanha de Sabão (26.7%); ester of linoleic acid to Algodão de Praia (41.76%) and Pinhão Manso (29%); ester palmitate to Algodão de Praia (26.6%), Castanha de Sabão (42.3%) and Feijão de Boi (27.7%). Also, the Bicuiba species stood out presenting 80% of the composition of methyl esters of acids lauric, myristic, myristoleic and palmitic. The samples were differentiated by exploratory data analysis by principal component analysis (PCA) and hierarchical cluster analysis (HCA), so that it was possible to discriminate seven seeds studied in different groups and define the methyl esters of fatty acids (FAME) of greater significance to define the groups. As FAME C16: 1, C12: 0, C14: 0 to bicuiba; C24: 0, C22: 0, C20: 0 for moringa; C18: 3 for beef beans; C18: 0 LB; C18: 0, C18: 2, C18: 1; C18: 2 to soap nuts and C17: 1 beach cotton. Identified transesterification reactions / esterification the products of GC-MS, FAME of mixtures each oilseed were assessed for value iodine and number cetane from the application of mathematical models in the open literature. From the calculations it was possible to estimate the reductive capacity autoignition each sample, where the bicuiba highlighted with good antioxidant potential (39.1g I2 100 g⁻¹) and jug with a high capacity for *self ignition* (82.6). Thus, through the studies it was possible to point out the potential of plant seed oil to be used as raw materials for application possible in cosmetics, drugs, products food and biodiesel.

Keywords: oilseeds; vegetable oils; triacylglycerol; methyl esters of fatty acids; Identification of methyl esters.

1.0 INTRODUÇÃO

Uma das principais fontes de energia utilizada pelo homem se encontra entre os lipídeos (BOBBIO; BOBBIO, 2003). Estes estão presentes em muitos organismos vivos principalmente na sua forma simples como óleos e gorduras que desempenham importantes funções como compostos de armazenamento, ação lubrificante, fonte calórica e nutricional (LEHNINGER, NELSON e COX, 2008). Sendo assim, óleos e gorduras são componentes importantes que ocorrem em diversas matrizes, a exemplo das polpas de frutos, tecidos animais, peixes, algas e sementes (ANDERSEN; WEINBACH, 2010; DEMIRBAS, 2011). Dentre os diversos tipos de óleos, os oriundos de vegetais ganham destaque na literatura por serem utilizados na alimentação como também empregados na fabricação de diversos produtos, como tintas, revestimentos, fármacos, cosméticos, lubrificantes, sabão e, mais recentemente, na produção de biodiesel, dentre outros (ANTUNES, 2011; LISA; HOLCAPEK, 2008). Entretanto, apesar dos óleos de sementes vegetais terem ampla aplicabilidade e existir uma vasta diversidade de plantas ricas em óleo, segundo Latha e Sathish (2012) poucas são exploradas para fins comestíveis ou industriais.

Atualmente, a matéria-prima para produção de óleo vegetal no cenário mundial encontra-se fortemente concentrada nas culturas de palma e de soja que, juntas, representam 62.8% de toda produção (Figura 1), enquanto que no Brasil a produção está concentrada principalmente na cultura da soja. Cerca de 90 % dos atuais seis milhões de toneladas de óleo vegetal produzidos anualmente originam-se dessa oleaginosa (MAPA, 2008). Em contrapartida, os óleos produzidos a partir de coco e do palmiste (extraídos da amêndoa de palma) juntos compreendem cerca de 7% do óleo de plantas utilizado anualmente no mundo. Dessa maneira, óleos obtidos de culturas com produtividade em menor escala são geralmente submetidos a altos custos de produção, o que de certo modo, restringem a sua utilização a um número limitado de aplicações com produto de mercado pouco competitivo, já que o preço é elevado (CARLSSON, 2009).

Figura 1. Produção mundial de óleo vegetal.

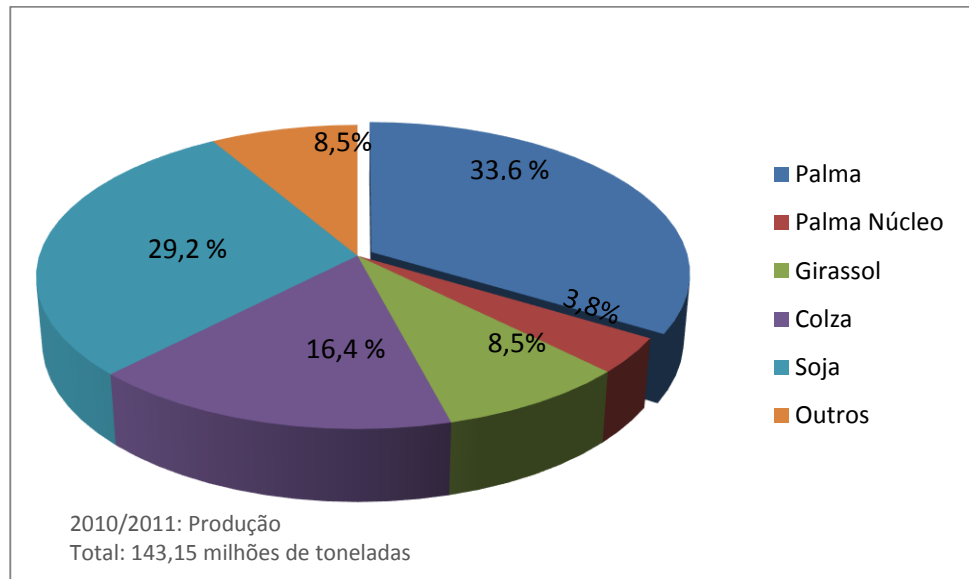


Ilustração modificada para dissertação [*Thin oil products, 2011*]

Mediante as razões mencionadas o presente trabalho propõe estudar o perfil químico de óleos oriundos de sementes de plantas encontradas no Estado da Bahia como alternativas de matéria-prima com perspectivas para fins comestíveis, cosméticos ou industriais.

2.0 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Estudo químico de óleos de sementes de plantas oleaginosas encontradas na Bahia como alternativas de matéria-prima com perspectivas para fins comestíveis, cosméticos e /ou industriais.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Determinar o teor de óleo em sementes de plantas oleaginosas de Algodão de Praia (*Hibiscus tiliaceus*), Moringa (*Moringa oleifera*), Feijão de Boi (*Capparis flexuosa*), Pinhão Manso (*Jatropha curcas*), Limão Bravo (*Siparuna guianensis*), Castanha de Sabão (*Bombacopsis glabra*) e Bicuiba (*Virola officinalis*);

Investigar as propriedades físico-químicas dos óleos vegetais extraídos das sementes de plantas oleaginosas;

Caracterizar quimicamente os óleos de semente de plantas oleaginosas a partir da identificação de ésteres metílicos de ácidos graxos;

Correlacionar a composição dos ésteres metílicos de ácidos graxos obtidos de óleos vegetais com suas composições propriedades físico-químicas.

3.0 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 OLEAGINOSAS

O Brasil conta com uma vasta diversidade de plantas oleaginosas, onde boa parte desta diversidade de plantas oleaginosas está no Nordeste e precisa ser mais bem estudada (MAPA, 2007). As oleaginosas Castanha de Sabão (*Bombacopsis glabra*), Moringa (*Moringa oleífera*), Pinhão Manso (*Jatroba curcas*), Algodão de Praia (*Hibiscos tiliaceus*), Feijão Bravo (*Capparis flexuosa*), Limão Bravo (*Siparuna guianensis*) e Bicuiba (*Virola officinalis*) são encontradas em diversos do nordestes, no entanto com a exceção de pinhão manso e moringa, tem-se poucos estudos sobre a composição química dos óleos das sementes dessas oleaginosas.

O algodão da praia (*Hibiscus tiliaceus L.*) é uma planta nativa comum do litoral Oriental da Austrália do Norte, Oceania e Sudeste Asiático e também se apresenta como espécie selvagem em várias partes do mundo incluindo o Sul-Occidental da Austrália e na África Austral (MAGANHA et al., 2010.). A planta é conhecida também como algodão-da-índia (ROCHA e NEVES, 2000) e pertence ao maior gênero da família *Malvaceae*, com representantes de sua espécie de importância econômica, como produtoras de fibras têxteis, fornecedoras de madeira. São utilizadas na medicina popular como também é utilizada em ornamentações (SILVA, 2004.).

O algodoeiro-da-praia foi introduzido e naturalizado no Brasil e se espalhou por diversas regiões, principalmente em praias e mangues, desde o Pará até, Santa Catarina. Segundo LIU et al (2014) e LU et al (2014) a cultura do algodoeiro-da-praia, em regiões da Paraíba, pode chegar a 2.500 árvores por hectare, a depender das condições do solo.

O Limão Bravo (*Siparuna guianensis*), encontra-se na Nicarágua e está presente por todo o norte da América do Sul alcançando o Paraguai. Ocorre em regiões de planícies de florestas primárias e secundárias elevadas (RENNER; HAUSNER, 2005). No Brasil, as árvores de limão bravo encontram-se mais precisamente distribuídas nas florestas e são utilizadas na medicina tradicional para o tratamento de doenças do estômago e da pele (FACUNDO et al., 2012).

O feijão-bravo (*Capparis flexuosa*) é uma espécie oriunda da Paraíba (NETO et al., 2011), forrageira de porte arbustivo-arbóreo com folhas perenes que se desenvolve em muitas áreas da região semiárida brasileira. Possui sistema de resistência a seca peculiar à sua espécie (SILVA, 2009), além de também apresentar-se como boa espécie forrageira (CRUZ

et al., 2007). A produção de plantas por ha⁻¹ são de 85 na caatinga situada no Rio Grande do Norte (AMORIN, SAMPAIO e ARAÚJO, 2009). A planta de feijão-bravo apresenta certas atividades como antimicrobiana, anti-inflamatória, anti-oxidante, imunomoduladora e propriedades antivirais (TLILI et al., 2010).

A castanha de sabão (*Bombacopsis glabra* (Pasq.)), também conhecida como castanha do Maranhão, é uma espécie que ocorre nas formações florestais do complexo atlântico (PAULA, CRUZ e BARBOSA, 2006). Segundo Lorenzi (2014) a espécie é inerente ao Nordeste e Sudeste do Brasil. E a sua produção anual é de cerca de 63 frutos por planta, o que corresponde a um número estimado de 570 kg de sementes por hectare, com um total de 400 indivíduos (BREYNER, 1993. Apud CHAVES, 2012).

A moringa (*Moringa oleífera*) é uma espécie originária do sub Himalaia, no noroeste da Índia (ABDULKARIM, 2205), mas foi distribuída e cultivada na Ásia, África e América Latina, inclusive no Brasil (MORTON, 1991), onde apresenta produção de óleo de 1 t ha⁻¹ (KIBAZOHI e SANGWAN, 2011). Segundo Mofijur et al, 2014, as sementes de moringa destacam-se como importante fonte de óleo não comestível que pode ser utilizado como matéria-prima na produção de biodiesel.

O pinhão manso (*Jatropha curcas*) é uma espécie nativa da América Central, resistente à seca, que apresentam densidade estimada de 1.100 a 2.500 plantas por hectare, com uma produção de sementes equivalente a 2 - 3 t ha⁻¹ e que apresentam teor de óleo de até 55% (FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION, 2010). Sua plantação mundial é de 1 a 2 milhões de hectares (85% Ásia, 13% África e 2% na América Latina, especialmente no Brasil) e movimenta 1 milhão de dólares por ano em pesquisa no mundo (GEXSI, 2008).

A bicuíba (*Virola officinalis*) é uma árvore da numerosa família das *Myristicaceae* (PESCE, 2009; SOUZA; PEIXOTO; OLEDO, 1995). As sementes analisadas são distribuídas em floresta pluviais, suas árvores oferecem 50 a 70 L de sementes por ano com expectativa de brotar de 150 a 180 plantas por hectare (PESCE, 2009).

Essas plantas oleaginosas são bem conhecidas na região nordeste, no entanto, têm-se poucos estudos de caracterização da composição química do óleo das sementes que pode orientar aplicações de maior valor agregado na indústria de alimentos, cosméticos e biocombustíveis.

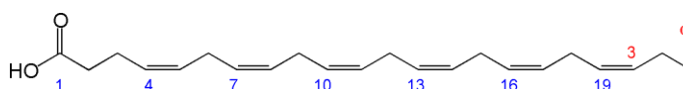
3.2 APLICABILIDADE DE ÓLEOS VEGETAIS

A aplicabilidade de óleos vegetais está diretamente relacionada com sua composição química. Por isso os óleos vegetais são intensamente estudados com relatos em diversas áreas de aplicação, desde a produção de lubrificantes, passando por isolantes até a fabricação de fármacos e cosméticos.

Um dos óleos vegetais intensivamente investigados é o óleo obtido da semente de mamona - *Ricinus communis* L. (Farm. Euphorbiaceae), vulgarmente conhecido como óleo de rícino. Esse possui em sua composição, ácidos como o ricinoleico [ácido (*R*)-12-hidroxioléico], iso-ricinoleico, esteárico e desidroxiesteárico, sendo que 70-80 % do total de é representado pelo ácido ricinoleico, principal responsável por suas propriedades físico-químicas. O óleo de rícino é utilizado para produzir lubrificantes de aviões por sua baixa temperatura de congelamento, entre outras aplicações (EMBRAPA et al., 2016).

Outra importante propriedade de certos óleos vegetais é sua aplicação como fonte nutricional. Por exemplo, a semente de linhaça (*Linum usitatissimum*) que possui óleos em sua constituição, é recomendado na dieta principalmente durante a gestão e a lactação, pois é fonte do ácido α -linolênico (ômega 3) que por sua vez, origina o ácido docosa-hexaenoico (C22:6 n-3) – DHA (Figura 2.) presente nas membranas celulares do sistema nervoso viabilizando as sinalizações bioquímicas e funcionando como ligantes naturais de receptores nucleares específicos que afetam a resposta de genes (ALMEIDA, BOAVENTURA, GUZMAN-SILVA, 2009; LEE et al., 2015).

Figura 2. Estrutura do ácido docosa-hexaenoico (DHA)



Além das aplicações como lubrificantes e fonte nutricional, os óleos vegetais são muito empregados em cosméticos, principalmente, aqueles abundantes em ácido linoleico que é o ácido graxo mais utilizado em produtos cosméticos. Entre as propriedades do ácido linoleico pode-se citar a hidratação da pele, como também auxilia no processo de cicatrização, tratamento de dermatoses e queimaduras solares, assim como é utilizado para o tratamento de acne *vulgaris* (LAUTENSCHLAGER, 2003 apud VERMAAK, 2011). Tal evidência só reforça o fato da importância de propor novos óleos vegetais como matéria-prima na produção

de cosméticos, visto que o ácido linoleico é um dos ácidos que mais ocorre na natureza (FERREIRA et al., 2011).

Além de serem empregados na produção de diversos produtos, óleos vegetais podem ser precursores de derivados importantes da indústria oleoquímica. Sínteses importantes a partir dos ácidos graxos das moléculas do triacilglicerol, da matéria prima vegetal geram produtos de destaque na indústria como as reações de metátese para modificação de óleos vegetais para obtenção de materiais poliméricos. Grande parte dos ácidos graxos e seus derivados apresentam em sua estrutura molecular, ligações carbono-carbono insaturadas. Desta forma, esses substratos vêm sendo estudados como matérias-primas para produção de compostos de maior valor agregado, através de transformações nas quais a etapa principal está sedimentada em reações de metátese da porção olefínica da molécula (SUAREZ et al., 2007). Ainda na área da oleoquímica, estudos realizados sugerem que os óleos vegetais com um elevado teor em ácido linolênico podem ter maior potencial como uma alternativa para os revestimentos de poliuretano à base de petróleo (KONG, 2013).

Por outro lado, investigar a composição também é importante porque óleos vegetais podem conter ácidos tóxicos que precisam ser removidos antes de serem comercializados ou consumidos, como é o caso do óleo de colza ou canola [*Brassicanapus* L. (Fam. Brassicaceae)] que contém um elevado percentual de ácido erúico (C22:1 ω 9), que é tóxico e nocivo à saúde humana (OETTEERER; ARCE e SPOTO, 2006).

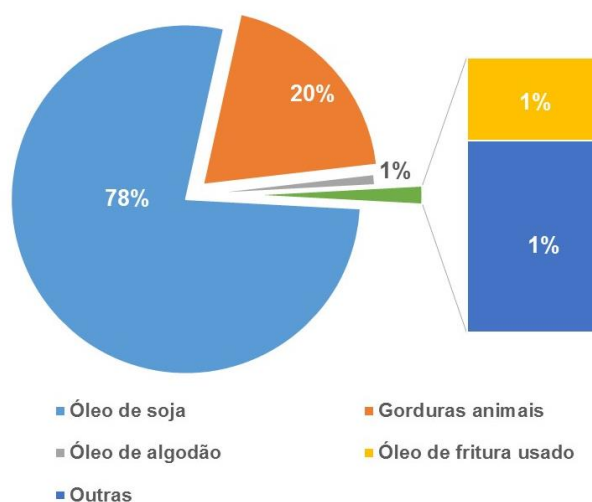
O organismo humano não é capaz de sintetizar certos ácidos graxos necessários para manter e regular as funções fisiológicas normais, os chamados ácidos graxos essenciais (AGE). Por essa razão, a ingestão de alimentos que contenham esses ácidos é de suma importância. Por exemplo, os ácidos graxos essenciais como o linoleico (ômega-6) e o α -linolênico (ômega-3) estão presentes nos óleos vegetais de dendê, canola, girassol milho, oliva e soja. Outros AGE importantes para dieta humana são os ácidos araquidônico (ômega-6), eicosapentanóico (ômega-3) e o docosa-hexaenóico (ômega-3). É fundamental ressaltar que em virtude da impossibilidade de inserção de insaturações na extremidade metílica da molécula os ácidos da série ômega-6 são derivados do ácido linoleico, enquanto que os ácidos da série ômega-3 são derivados do ácido α -linolênico (ômega-3) (DOLINSKY, 2009).

O óleo da linhaça é utilizado como secante por conter em até 50 % da sua constituição o ácido linolênico, enquanto que o óleo da *Myristica fragrans* (noz-moscada), que possui atividade antimicrobiana, chega a conter em até 80 % do total dos ácidos existentes em sua composição, o ácido mirístico (BOBBIO; BOBBIO, 2003; INDU, 2006).

Uma importante aplicação de óleos vegetais para geração de produtos com valor econômico agregado está na produção de biodiesel que é uma mistura de ésteres alquílicos

de ácidos graxos, obtidos por transesterificação de óleos ou gorduras, com álcoois de cadeia curta tais como metanol e etanol” (PINTO et al., 2005). Segundo o Ministério de Minas e Energia (2015) “biodiesel é um combustível biodegradável derivado de fontes renováveis, que pode ser obtido por diferentes processos tais como o craqueamento pela transesterificação”. O biodiesel é produzido a partir de óleos vegetais ou gorduras animais. Atualmente apenas os óleos provenientes de soja, palma, colza, girassol, amendoim e algodão são convertidos a biodiesel em escala industrial (ORTEGA; TAKAHASHI, 2010). Segundo a Agência Nacional de Petróleo, Gás e Biocombustíveis – ANP (2015) o biodiesel é o segundo principal biocombustível líquido do Brasil. A mistura de diferentes proporções de biodiesel com o diesel de petróleo também é caracterizada como biocombustível. No Brasil a produção do biodiesel concentra-se no óleo de soja como a principal matéria-prima (Figura 3).

Figura 3. Matérias-primas utilizadas na produção do biodiesel



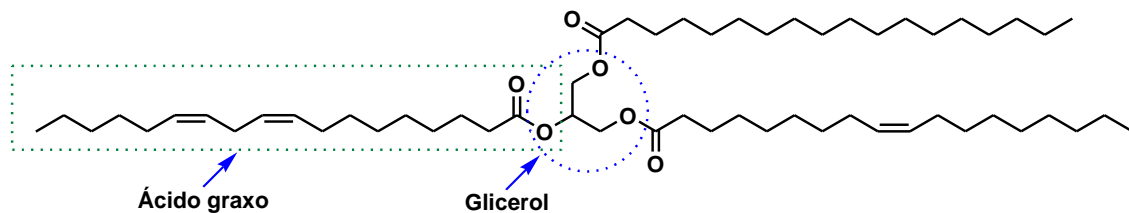
Fonte: Boletim do Biodiesel de 2015.

Dessa maneira, a importância de estudar a composição dos ácidos constituintes também em óleos vegetais de novas espécies é uma forma de contribuir não apenas para a sociedade acadêmica, e o setor industrial que terá maior diversidade de produtos com valor economicamente agregado, mas principalmente para a população em geral que terá a possibilidade de ter maiores variedades de produtos úteis a sua disposição.

3.3 COMPOSIÇÃO DE ÓLEOS VEGETAIS

Os óleos e gorduras são lipídios simples, constituídos predominantemente por triacilglicerol e por ácidos graxos livres em baixas concentrações (Figura 4), produto resultante da reação entre ésteres e o glicerol.

Figura 4. Estrutura molecular de triacilglicerol.



Fonte: *Property analysis of triglyceride-based thermosets Polymer*, 2005.

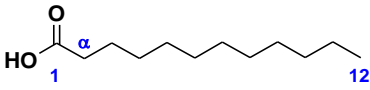
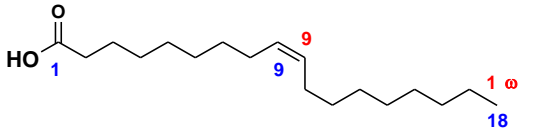
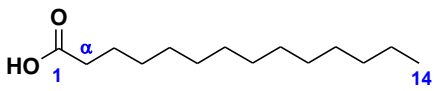
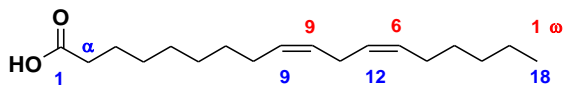
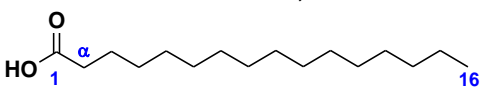
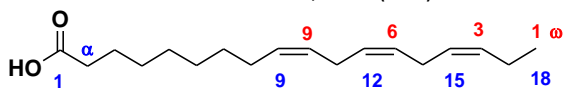
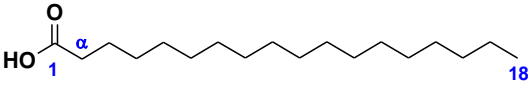
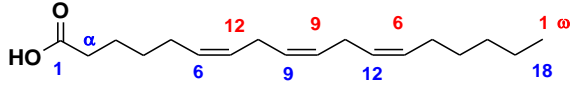
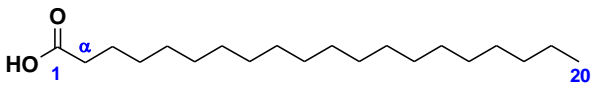
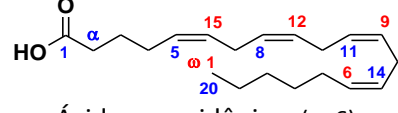
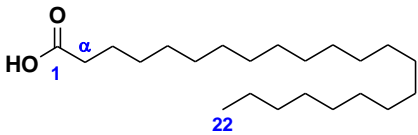
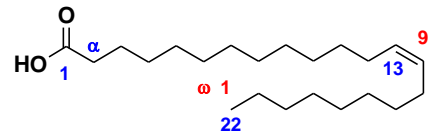
Óleos, gorduras e ceras possuem pontos de fusão distintos como consequência da diferente intensidade das forças intermoleculares de Van Der Waals que atuam nos óleos, nas gorduras e nas ceras (NELSON; COX, 2014). A intensidade das interações é fortemente influenciada pelo comprimento e grau de insaturação da cadeia carbônica. As gorduras e ceras contêm um número menor ou não tem insaturações em suas cadeias carbônicas, enquanto os óleos possuem um número maior de insaturações. Essas diferenças resultam em menores temperaturas de fusão dos óleos quando comparados com gorduras e ceras de cadeia carbônica do mesmo comprimento, conferindo-lhes, assim, o estado líquido, diferentemente das gorduras e ceras que se apresentam sólidas à temperatura ambiente (FENNEMA, 2000).

Além da fração de triacilglicerol que representam 95 – 97 % de sua composição, os óleos *in natura* contêm vários outros componentes em menor proporção, a chamada fração insaponificável constituída por álcoois graxos, corantes, metais, tocoferol (importante antioxidante), proteínas, esteróis e vitaminas (HIDALGO; ZAMORA, 2003).

Os ácidos graxos que compõem os óleos vegetais são encontrados na forma livre ou constituindo o triacilglicerol. Os ácidos graxos são responsáveis pelas principais características e propriedades físico-químicas dos triacilgliceróis. Salvo algumas exceções, os ácidos graxos encontrados na natureza são geralmente de alto peso molecular (DOLINSKY, 2009; BOBBIO; BOBBIO, 2003). Os principais ácidos graxos saturados encontrados em óleos vegetais são o ácido tetradecanoico (mirístico), dodecanoico (láurico), hexadecanoico (palmítico), octadecanoico (Esteárico), araquídico (eicosanoico), docosanoico (behênico) e, em pequenas concentrações, o tetracosanoico (lignocérico). Por outro lado, os ácidos graxos insaturados mais comuns na natureza são o 9-E-octadecenóico (oleico), 13-docosenoico

(erúcico), 9,12- Octadienoico (linoleico) e o 9,12,15-Octadienoico (linolênico) (BOBBIO; BOBBIO, 2006) (Figura 5). Para caracterizar os diferentes tipos ácidos graxos encontrados nos óleos vegetais e determinar suas aplicações uma das etapas mais importantes é o isolamento ou extração desses compostos da matriz vegetal.

Figura 5. Principais ácidos graxos saturados e insaturados.

Saturados	Insaturados
 <p>Ácido láurico, 12:0</p>	 <p>Ácido oleico, 18:1 (ω-9)</p>
 <p>Ácido mirístico, 14:0</p>	 <p>Ácido linoleico, 18:2 (ω-6)</p>
 <p>Ácido palmítico, 16:0</p>	 <p>Ácido α-linolênico, 18:3 (ω-3)</p>
 <p>Ácido esteárico, 18:0</p>	 <p>Ácido γ-linolênico, 18:3 (ω-6)</p>
 <p>Ácido araquídico, 20:0</p>	 <p>Ácido araquidônico, (ω-6)</p>
 <p>Ácido behênico, 22:0</p>	 <p>Ácido erúcico, 22:1 (ω-9)</p>

3.4 EXTRAÇÃO

A extração dos ácidos graxos livres e dos triacilgliceróis é uma etapa fundamental nos estudos de caracterização e quantificação desses compostos em diferentes matrizes vegetais. Dessa maneira, dentre as muitas técnicas analíticas para extração do analito da matriz da que o contém está a extração por Soxhlet.

A extração por Soxhlet é bem conhecida, aceita e extremamente eficiente para o isolamento de constituintes de matrizes sólidas (RAMOS, 2012). O aparelho de vidro utilizado no processo foi criado pelo químico alemão, Soxhlet, em 1882 (Brum) SELLA (2007) (Figura 6), nesse aparelho, os analitos da amostra sólida são transferidos para fase líquida através de extrações sucessivas, usando a mesma porção do solvente orgânico, em processo

contínuo. A extração sólido-líquido por Soxhlet ocorre por processos físico-químicos e é extremamente útil para extrair os analitos de alto peso molecular tais como os triacilgliceróis e solúveis no solvente orgânico apropriado. Também, é útil para separar os analitos de certos interferentes da matriz tais como os pigmentos e proteínas encontrados nos óleos vegetais (CASTRO e CAPOTE, 2010).

Figura 6. Sistema extrator Soxhlet em reciclo.

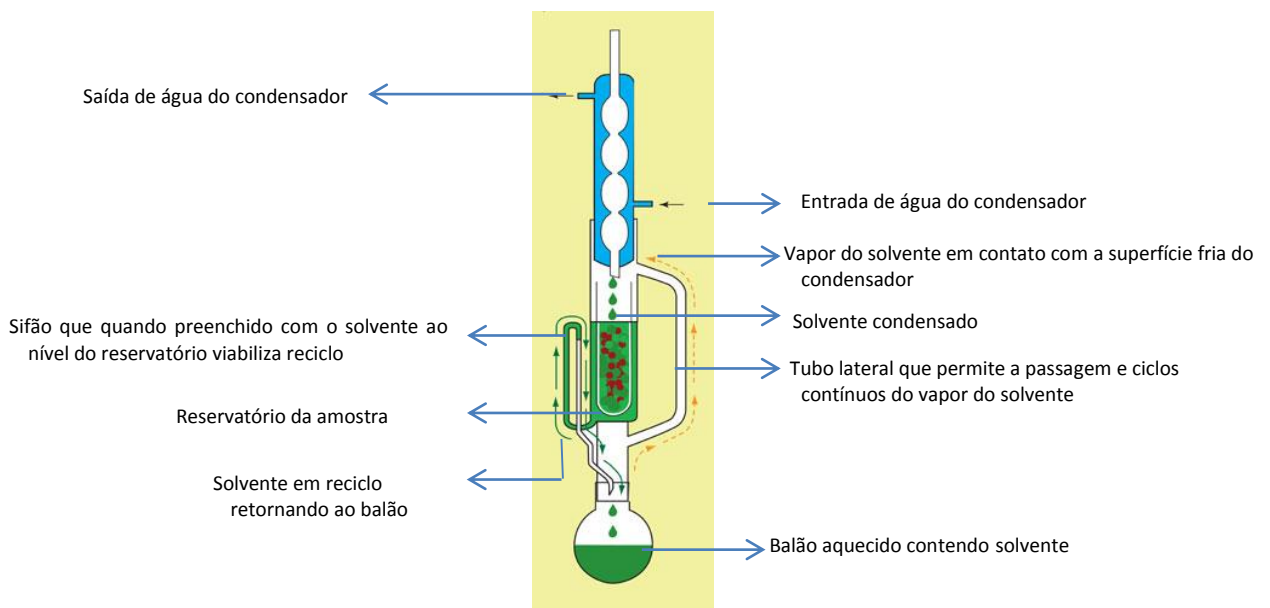


Ilustração modificada [Royal Society of Chemistry, 2015].

3.5 TRATAMENTO E PROPRIEDADES DE ÓLEOS VEGETAIS

O óleo vegetal contém impurezas como os ácidos graxos livres que são prejudiciais à qualidade e estabilidade do produto, sendo necessário a sua remoção durante o processo de refino que envolve a remoção do solvente, a degomagem, o branqueamento, a desacidificação e a desodorização (MONNERAT; KATO, 1999 apud REDA; CARNEIRO, 2007). Após o refino do óleo, objetivando avaliar a qualidade, estabilidade e conservação, há a necessidade de caracterização e avaliação através de análises físico-químicas (FILHO; VASCONCELOS, 2011).

3.5.1 REFINO DE ÓLEO VEGETAL

O refino de óleos vegetais envolve etapas que são importantes e definidores da qualidade final do produto como a neutralização e a degomagem.

3.5.1.1 Neutralização

O processo de neutralização de óleos vegetais geralmente é feito pelo tratamento com hidróxido de sódio (NaOH), permitindo a remoção de ácidos graxos livres e de outros componentes ácidos indesejáveis que comprometem a qualidade final do produto.

3.5.1.2 Degomagem

A degomagem de óleos vegetais é um processo que consiste na remoção dos fosfolipídios através da hidratação, fazendo com que aumente a sua densidade e, conseqüentemente, ocorra à separação por precipitação. Os fosfolipídios apresentam estrutura química muito semelhante aos triacilgliceróis, diferenciando-se pela substituição de um grupo alquila por um grupo fosfato.

Figura 7. Estrutura fosfolipídica.

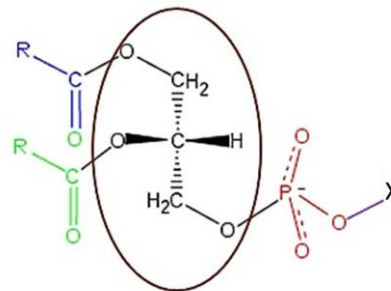


Ilustração modificada [TIETZ, 2012].

A técnica de degomagem é largamente aplicada na área industrial para refino de óleos vegetais por sua eficiência e seu baixo custo (HARTMAN e LAGO, 1996).

3.5.2 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS

A eficiência do processo de refino dos óleos vegetais e controle de qualidade são determinados por parâmetros físico-químicos tais como o índice de acidez, índice de peróxido e grau de umidade.

3.5.2.1 Índice de acidez

Índice de acidez é um parâmetro importante para avaliar a decomposição do óleo vegetal, seja por hidrólise, oxidação ou fermentação. O processo de decomposição dos

triacilgliceróis é acelerado por aquecimento e pela luz, sendo a rancidez (oxidação lipídica) quase sempre é acompanhada pela formação de ácidos graxos livres. O método de determinação da acidez é aplicável a óleos vegetais brutos ou refinados e gorduras animais (LUTZ, 1995.).

3.5.2.2 Índice de Peróxido

O índice de peróxido determina todas as substâncias que oxidam o iodeto de potássio nas condições do teste (titulação de retorno), em termos de miliequivalentes de peróxido por 1000 g de amostra. As substâncias resultantes da oxidação lipídica são geralmente consideradas como peróxidos ou outros produtos similares (AOCS, 1997). A oxidação lipídica promove a formação de substâncias que desenvolvem a rancidez tornando os alimentos impróprios para o consumo, afetando não só a qualidade nutricional, mas também a sua integridade e segurança através da formação de compostos poliméricos potencialmente tóxicos (RAMALHO; JORGE, 2005).

3.5.2.3 Grau de Umidade

A determinação da umidade é um parâmetro importante a ser avaliado em óleos vegetais visto que a presença de certa quantidade de água pode propiciar a reação de lipólise, ou seja, a hidrólise das moléculas de triacilglicerol, propiciando a liberação de ácidos graxos livres que estão mais suscetíveis à oxidação do que esterificados com o glicerol. A reação de hidrólise pode ocorrer por aquecimento e também em consequência da ação enzimática em presença de água. Os ácidos graxos livres, por sua vez, sendo oxidados favorece a produção do ranço (FILHO; VASCONCELOS, 2011). A determinação da umidade pode ser realizada através de métodos gravimétricos, por diferença de pesagem, como também através do uso de equipamentos como o infravermelho (BRASIL, 2002).

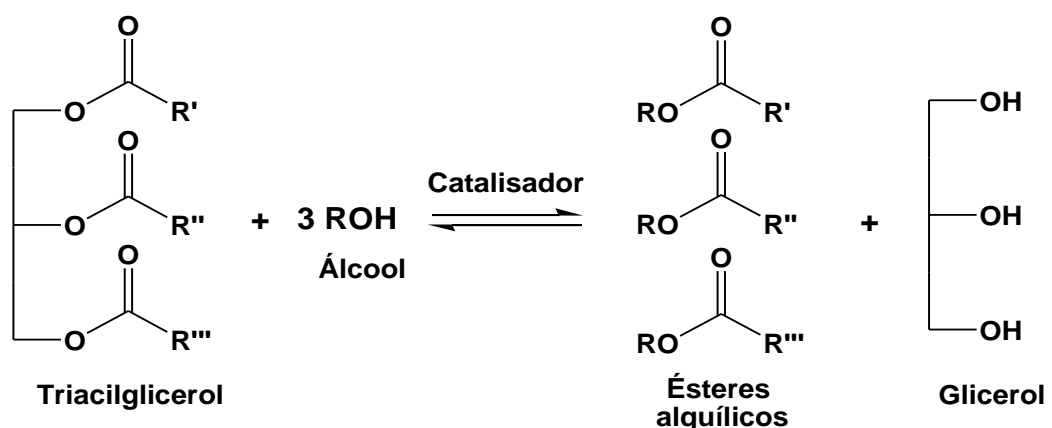
Além da determinação de parâmetros físico-químicos como índice de acidez, peróxido e umidade a análise química da composição de ácidos graxos e triacilgliceróis é muito importante para aplicabilidade dos óleos vegetais. Os ácidos podem ser analisados diretamente ou na forma de ésteres metílicos sendo necessário nesse caso uma etapa de derivatização.

3.6 OBTENÇÃO DE ÉSTERES METÍLICOS DE ÁCIDOS GRAXOS

Os óleos vegetais podem ser submetidos a reações de transesterificação quando se almeja obter, por exemplo, ésteres alquílicos ou ainda quando se deseja tornar os analitos de interesse com características compatíveis com o equipamento a ser analisado. No caso da análise por cromatografia gasosa, compostos contendo grupos funcionais fortemente polares ou com alta massa molar, como é o caso dos triacilgliceróis precisam ser convertidos em compostos mais voláteis e termicamente estáveis, é necessária a transformação em substâncias mais voláteis e termicamente estáveis através de derivatização em ésteres metílicos (COLLINS; BRAGA; BONATO, 2006).

Muitos procedimentos distintos são descritos na literatura aberta para a reação de transesterificação de lipídios, tanto em meio ácido como em meio básico. Por exemplo, são relatados procedimentos que realizam a reação de saponificação do triacilglicerol seguida da acidificação e reação com diazometano dissolvido em éter (LAAKSO; LAAKSO; HILTUNEN, 2002). Assim, a derivatização do triacilglicerol e de ácidos graxos livres dos óleos vegetais a ésteres ocorrem através das reações de transesterificação e esterificação. Em procedimento clássico, na reação de transesterificação o triacilglicerol é dissolvido em excesso de álcool numa razão molar de 1:3, na presença de um catalisador (ácido ou básico), formando ésteres de alquila (SOLOMONS, 2012) (Figura 8).

Figura 8. Reação de transesterificação.



Fonte: DEMIRBAS, 2007.

A mistura de ésteres metílicos dos óleos vegetais obtidas através de transesterificação é passível de análise por cromatografia gasosa com diferentes sistemas de detecção.

3.7 TÉCNICAS CROMATOGRÁFICAS DE ANÁLISES

A cromatografia é uma técnica empregada de forma ampla e que permite a separação, identificação e determinação de componentes químicos em misturas complexas (SKOOG et al.,2008). É um método físico-químico de separação baseado na distribuição dos componentes de uma mistura entre duas fases, uma fase móvel, responsável em promover deslocamento da amostra (migração) por interação físico-química ou não, e uma fase fixa, denominada de estacionária, onde ocorre a retenção dos constituintes da amostra de maneira seletiva, resultando em migrações diferenciais dos compostos (COLLINS; BRAGA; BONATO, 2006).

A cromatografia pode ser classificada quanto ao meio físico em que ocorre a separação: coluna ou planar. A cromatografia em coluna é subdividida quanto ao estado físico da fase móvel em líquida (CL) ou gasosa (CG), enquanto que a cromatografia planar é subdividida em cromatografia em papel (CP) e cromatografia em camada delgada (CCD). (COLLINS, BRAGA e BONATO, 2006).

3.7.1 CROMATOGRAFIA EM CAMADA DELGADA (CCD)

Na cromatografia planar ocorre o mesmo princípio de distribuição dos componentes da amostra entre duas fases com separações dos componentes por migração diferencial. Durante o desenvolvimento cromatográfico ocorre a distribuição dos componentes da amostra entre as duas fases, onde a interação com fase estacionária se dará por adsorção Após o desenvolvimento, o eluente (solvente ou mistura de solventes) é evaporado e a placa é revelada para visualização das manchas cromatográficas e determinação dos fatores de retenção (R_f) que são comparados aos de padrões ou valores referência para as condições utilizadas (SPANGENBERG, POOLE e WEINS, 2011) (Figura 9).

Figura 9. Representação de uma placa de cromatografia em camada delgada - CCD.

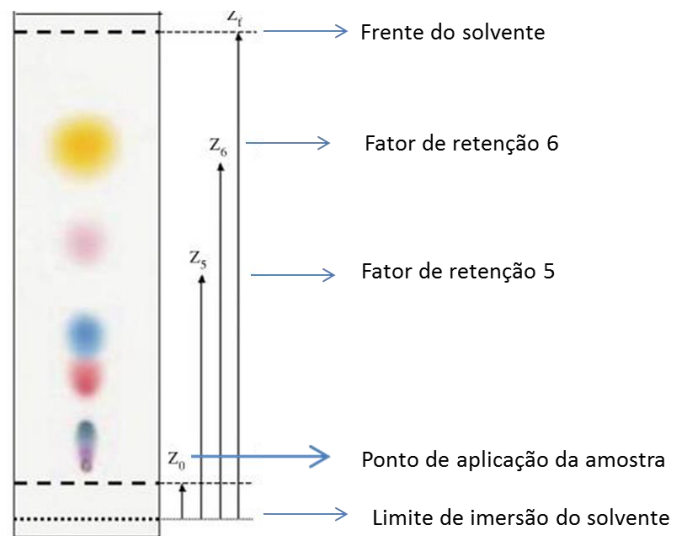


Ilustração modificada [Royal Society of Chemistry, 2015].

3.7.2 CROMATOGRAFIA LÍQUIDA EM COLUNA (CL)

A cromatografia em coluna é a principal técnica de separação cromatográfica utilizada para fins preparativos. O princípio da separação dos componentes é o mesmo observado na CCD. Na cromatografia preparativa em coluna utilizam-se tubos de vidro com diâmetro de 6 - 50 mm contendo o adsorvente sólido (fase estacionária) e, após a aplicação da amostra, a separação ocorre por um fluxo contínuo do eluente (fase móvel) até que todos compostos tenham sido eluídos da coluna. As frações são coletadas em volumes correspondentes à capacidade da coluna, em seguida são analisadas e os constituintes de cada fração são geralmente detectados por CCD (SPANGENBERG; POOLE; WEINS, 2011; COLLINS; BRAGA; BONATO, 2006).

3.7.3 CROMATOGRAFIA GASOSA ACOPLADA À ESPECTROMETRIA DE MASSA (GC-MS).

A cromatografia gasosa é uma das principais técnicas para a separação, identificação e quantificação de substâncias orgânicas em amostras complexas. A incorporação de novas tecnologias permitiu a construção de colunas capilares de sílica fundida com fases estacionárias imobilizadas e termicamente estáveis, tornaram a CG é uma técnica capaz de resolver as mais complexas e difíceis separações. Também, permitiram a diminuição dos

limites de detecção, maior rapidez, precisão e exatidão na identificação e quantificação de constituintes químicos de amostras de natureza variada. (LANÇAS, 2004).

A miniaturização e modernização dos instrumentos, com o desenvolvimento de detectores altamente sensíveis e a utilização de técnicas acopladas como cromatografia gasosa – espectrometria de massas (GC-MS) permitiu um considerável aumento da seletividade e eficiência desta poderosa técnica de análise química. O acoplamento da cromatografia com a espectrometria de massas combina as vantagens da separação cromatográfica com os recursos da identificação por espectrometria de massas, sendo bastante utilizada na determinação de constituintes químicos em baixas concentrações, das mais diversas matrizes.

A determinação de Ésteres Metílicos de Ácidos Graxos (FAME) por GC está entre as análises mais comuns na investigação dos lipídios e a detecção com Espectrômetro de Massas (MS) tem sido utilizado em análises qualitativas e quantitativas (DOODS, 2005).

A técnica de GC-MS é um sistema acoplado que associa a função da cromatografia gasosa em separar constituintes de uma amostra com a capacidade de detecção da MS através da relação massa carga (m/z) de espécies carregadas que foram produzidas por uma fonte de íons (*The Center Forensic Science Research of Education*, 2015). A partir da análise comparativa entre os espectros gerados e os espectros de massas sugeridos da Biblioteca NIST é possível identificar a composição da amostra em estudo.

3.8 QUIMIOMETRIA

Em 1975, a sociedade quimiométrica definiu a quimiometria como a disciplina química que utiliza métodos matemáticos e estatísticos para descrever e selecionar procedimentos de medidas e experimentos adequados para proporcionar a máxima informação química mediante a análise de dados químicos (MILLER e MILLER, 2006).

Na busca para identificação de informações químicas em um grande conjunto de sinais analíticos proveniente de amostras com matrizes complexas, tem-se frequentemente explorado os dados instrumentais de diversos equipamentos, inclusive os obtidos por GC. À análise exploratória é realizada através da análise multivariada de dados (LI et al., 2013). A análise multivariada permite converter os sinais instrumentais em informações químicas.

Nas análises por GC-MS um grande número de compostos pode ser detectado e identificado o que gera muitas variáveis (sinais analíticos) para serem comparadas. As técnicas de análise multivariada facilitam a análise de dados e identificação de padrões de

amostras. Por exemplo, o uso de técnicas quimiométricas, tais como análise de agrupamento hierárquico (HCA) e Análise de Componentes Principais (PCA), constitui-se como uma ferramenta eficiente para identificar tendência de agrupamento entre amostras, como por exemplo, amostras de óleos vegetais (ESBENSEN, 1994).

A Análise de Componentes Principais (PCA) utiliza algoritmos que se baseiam em um valor elevado de variância, ou seja, grande número de informações de maneira a correlacioná-las a partir dos componentes principais que podem ser analisados a partir de gráficos. Os gráficos de *escores* e de *loadings*.

Os gráficos de *escores* e *loadings* refletem as inter-relações entre as amostras, entre as variáveis e entre amostras e variáveis, onde os *scores* permite identificar se as amostras são similares ou não, enquanto que os *loadings* revelam quais variáveis possuem maior relevância e a correlação entre essas variáveis (PICÓ, 2010).

O HCA, assim como PCA é uma ferramenta exploratória e é utilizada para validar o agrupamento obtido por PCA. O HCA enfatiza o agrupamento natural de amostras similares através da correlação entre as variáveis (SANTOS et al., 2002).

A quimiometria a partir da análise por agrupamento em conjunto com diversas análises instrumentais, sobretudo nas análises por GC permite a identificação de diversos padrões de amostras, possibilitando caracterizar os mais variados tipos de amostras, a exemplo de óleos e por isso muitos pesquisadores têm usado essas análises (HCA e PCA) para discriminar amostras de óleos vegetais através da composição de FAME (LI et al., 2013; SANTOS et al., 2011; BERLIOZ, 2006).

3.9 PREDIÇÃO DE PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS POR MODELAGEM MATEMÁTICA

No intuito de avaliar qualidade de processos de sínteses, a qualidade de produtos finais e obter o perfil das propriedades físico-químicas de ésteres metílicos, a modelagem matemática é amplamente utilizada por pesquisadores (BAROUTIAN et al., 2012; CERIANI et al., 2007). A predição de propriedades físico-químicas através do uso de modelos matemáticos permite obter um prospecto do perfil de ésteres metílicos obtidos a partir da transesterificação óleos de sementes e de microalgas em microescala, de maneira a minimizar tempo e custos de análises, uma vez que os métodos de análises de propriedades físico-químicas demandam grandes volumes de amostras, equipamentos específicos e tempo. Dessa maneira, a aplicação da modelagem matemática é uma alternativa útil para avaliação da relação que existe entre propriedades físico-químicas e composição de sementes oleaginosas.

Tong et al. (2011) avaliaram a facilidade de iniciar autoignição de ésteres metílicos através do número de cetano (CN) calculado utilizando um modelo matemático:

$$CN = 1,068 (CN_i w_i) - 6,747$$

Onde:

CN_i = número de cetano individual;
 w_i = fração mássica individual do FAME).

Valdes, Verduzco e Hernández (2015) definiram a viscosidade dinâmica de FAME (μ_{FAME}) através da expressão:

$$\mu_{FAME} = \frac{29.4338}{1 + \exp(n_{s1\mu})} + 0.5934$$

Onde:

$n_{s1\mu}$ = função que descreve correlação entre temperatura e composição de FAME).

Su e Liu (2011) demonstraram dentre diversas propriedades físico-químicas a temperatura mínima de queima, temperatura de fulgor (T_f) aplicando o modelo:

$$T_f = 23.362N_c + 4.854N_{DB}$$

Onde:

N_{DB} = média ponderada referente a duplas ligações).

As aplicações dos modelos anteriormente citados demonstram que através da correlação que há entre composição e propriedades físico-químicas é possível prever o perfil de certas oleaginosas através da modelagem matemática.

4.0 PARTE EXPERIMENTAL

4.1 MATERIAIS E MÉTODOS

Os materiais empregados na execução dos protocolos experimentais estão apresentados a seguir.

✓ **Vidrarias, utensílios e equipamentos:**

Balança analítica, AUY220, Shimadzu analytical;

Balão volumétrico de vidro de 2 e 5 mL, Vidrolabor;

Barra magnética para reações em tubo de ensaio (3 mm de diâmetro X 4,5 mm de comprimento);

Barra magnética para reações em tubo de ensaio (5 mm de diâmetro X 15 mm de comprimento);

Bateria de chapas aquecedoras com 6 provas em alumínio,502/06, DUTRAL

Béquer de vidro de 10, 50, 250 e 1000 mL;

Bomba de vácuo e compressores rotativos, MA 048, PRIMAR

Bomba de vácuo e compressores rotativos,141, PRIMAR;

Cápsulas de alumínio com tampa de 120 mL;

Centrifuga refrigerada, MPW-351R-Med, Instruments;

Placa de CCD em alumínio, sílica gel 60 F254, espessura 0,20 mm, Merck;

Dessecador completo de 250 mm, UNIGLAS;

Espátula metálica;

Estufa de secagem, 315, Fanem;

Estufa de secagem,116, Fabbe;

Freezer 172 L, F170,Electrolux;

Funil analítico em vidro de 30 mL;

Funil de separação em vidro 125 mL;

Micropipetas de 1000µL a 5000 µL, Discovery Comfort;

Micropipetas de 2 a 200µL, Discovery Comfort;

Moinho de facas em aço inox, MA, 048-MARCONI;

Papel de filtro qualitativo de 20 mesch

Peneiras de arame de 0,5 a 4mm mesch

Pipeta paster em vidro de 2 e 5 mL;

Placa aquecedora / agitadora, HS 7, IKA C-MAG;

Proveta graduada de 10, 20 e 250 mL;

Recipiente refratário;

Rotaevaporador,RV 10 digital,IKA;

Seringa de vidro de10 µL , Hamilton;

Sílica gel tipo *flash*-35, 70 μ m, ACROS;
Sistema evaporador de amostra em 4 vias em aço inox;
Sistema Soxhlet com 6 condensadores de bolas, 6 Balões de fundo chato de 250 mL, 6 corpos soxhlet, Vidrolabor;
Termômetro de 10 a 250°C, INCOTERM;
Tubo de ensaio para reações com tampa tipo rosca em polipropileno (20 mL), pyrex;
Vial de 4 mL, Supelco;
Vortex, V1 até 6 rpm, IKA.

✓ **Reagentes, solventes, padrão analítico e gases para pré-concentração:**

Acetato de etila, ref.9015-03; J.T. Baker;
Ácido Acético, grau analítico, VETEC;
Ácido Clorídrico, 37%, F. MAIA;
Álcool Etílico, grau analítico, Cromoline;
Amido solúvel, grau analítico, VETEC;
Biftalato de Potássio, grau analítico, VETEC;
Cloreto de metila (CH₂Cl₂); J.T. Baker;
Cloreto de sódio anidro, 99%, VETEC;
Clorofórmio, grau analítico, Cromoline;
Dicromato de Potássio, grau analítico, VETEC;
Éter de Petróleo de grau analítico, Cromoline;
Éter etílico dietílico, grau analítico, VETEC;
Fenolftaleína, grau analítico, F. MAIA;
Gás Nitrogênio comercial, 4.6 FID, White Martins;
Hidróxido de sódio, grau analítico, F. MAIA;
Iodeto de Potássio, grau analítico, VETEC;
Iodo resublimável com pureza de 97%, Synth;
Metanol, ref. 9002-03; J.T. Baker;
Metóxido de sódio, 30% m/v, ref.33040, Merck;
Mistura de 35 EM de C₄-C₂₄, 10 mg L⁻¹ em CH₂Cl, 97%, Supelco;
n-Hexano, ref. 9020-03; J.T. Baker;
Nitrogênio gasoso comercial, 4.6 FID, grau analítico, White Martins;
Sulfato de sódio anidro, grau analítico, VETEC;
Tiosulfato de sódio -Grau analítico- F. MAIA;
Trifluoreto de boro, 14% m/v, ref. 330321, Supelco;

4.1.1 COLETA E IDENTIFICAÇÃO BOTÂNICA

As amostras – frutos com as sementes - foram coletadas em propriedades privadas de pequenos agricultores pela equipe técnica do herbário da Empresa Baiana de Desenvolvimento Agrícola (EBDA), acondicionadas em sacos de papel e transportadas para o laboratório da EBDA. A identificação botânica das espécies oleaginosas foi realizada nos herbários Nonato Marques da EBDA e Alexandre Leal Costa do Instituto de Biologia da UFBA, com o auxílio da Botânica Marta Pereira (Tabela 1).

Tabela 1. Identificação botânica das amostras coletadas:

Nº EXCICATA	ESPÉCIES/FAMÍLIA	NOME VULGAR	LOCAL DE	DATA DA COLETA
465	<i>Hibiscus tiliaceus</i> Linn MALVACEAE	Algodão da praia	Orla do Largo da Mariquita	Setembro 2011
3262	<i>Moringa oleifera</i> Lam. MORINGACEAE	Moringa	Irecê Serrinha	2010 Março 2012
Não dispõe	<i>Virola officinalis</i> M.MYRISTICACEAE	Bicuíba, Bicuíba	Irecê (frutos procedentes de Jacobina e Miguel Calmon)	Abril 2012
7998	<i>Siparuna guianensis</i> SIPARUNACEAE	Limão bravo Limão de cotia e Cassussú	Itiúba Nova Soure	Novembro 2010
10656	<i>Capparis flexuosa</i> L. CAPPARACEAE	Feijão de boi	Irecê	Junho 2011
8418	<i>Copaiba martii</i> Hayne FABACEAE	Miroró	Nova Soure	Dezembro 2011
8756	<i>Peltophorum debium</i> (Sprengel) FABACEAE	Canafístula	Senhor do Bonfim	Abril 2011
823	<i>Mucuna pluricostata</i> FABACEAE	Café Beirão	Senhor do Bonfim	Dezembro 2011
256	<i>Duguetia lanceolata</i> ANNONACEAE	Pindaíba	Senhor do Bonfim	Abril 2011
326	<i>Jatropha curcas</i> L EUPHORBIACEAE	Pinhão manso	Alagoinhas	Março 2012
Não dispõe	<i>Bombacopsis glabra</i> (Pasq.) Robyns	Castanha de sabão	Conceição do Jacuipe	Dezembro 2012

4.1.2 PREPARO DAS AMOSTRAS

As sementes são dotadas de duas partes, sendo a interna chamada endocarpo ou amêndoa e a parte externa chamada tegumento ou casca, esta última está envolvida pelo endocarpo do fruto. Por isso, se fez necessário remover as sementes dos tegumentos. Os

materiais e procedimentos utilizados variaram de acordo a morfologia de cada planta. Os procedimentos adotados foram seguidos de acordo com “Regras de Análise de Sementes”, recomendadas pelo Ministério de Agricultura e Pecuária (MAPA, 2009).

O grupo amostral de trabalho foi determinado conforme o método das divisões sucessivas (Método Manual) preconizado pelas Regras de Análise de Sementes (MAPA, 2009). Compondo o grupo amostral, as sementes foram selecionadas quanto ao seu estado de conservação. As sementes sadias foram separadas das infectadas por ataques de insetos ou que sofreram outros danos como o esmagamento (Figura 10).

Figura 10. Sementes das espécies oleaginosas estudadas



As sementes pré-selecionadas foram analisadas quanto ao grau de umidade e submetidas ao processo de secagem a $103^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ por 17 h conforme o método da estufa de acordo as Regras de Análise de Sementes (MAPA, 2009). Em seguida, as amostras devidamente desumidificadas foram submetidas ao processo de trituração em moinho de navalhas.

4.1.3 EXTRAÇÃO DE ÓLEO DE SEMENTES

A extração do óleo de cada uma das sementes foi realizada utilizando um sistema de Soxhlet. 10,0 g de amostra foram acondicionadas em um cartucho preparado com papel de filtro qualitativo que foi inserido no aparelho de Soxhlet e extraído com 250 mL de éter de petróleo. O procedimento de extração foi realizado por 4 h totalizando 16 ciclos, conforme a metodologia oficial descrita pela *American Oil Chemists Society* (AOCS). O extrato etéreo foi submetido a rotaevaporação, o solvente foi recuperado e o extrato transferido com sucessivas lavagens de solvente (éter de petróleo) para um recipiente reserva. Em seguida o extrato foi submetido a um fluxo constante de nitrogênio gasoso para eliminar o solvente residual. O teor de óleo bruto foi calculado em seis réplicas por diferença de passagem entre o recipiente contendo o extrato seco e o recipiente vazio, seco e devidamente desengordurado, de acordo com as expressões a seguir:

$$\text{4.3.1 Teor de óleo (\%)} = [(M_2/M_1) \times 100]$$

M_1 = massa da amostra no cartucho

M_2 = massa do óleo seco

$$M_2 = M_o - M_b$$

M_o - massa do recipiente contendo o óleo seco

M_b - massa do recipiente vazio

$$\text{4.3.2 Teor de impurezas proveniente do óleo (\%)} = (M_3/M_p) \times 100$$

$$M_3 = M_i - M_p$$

M_i - massa do papel de filtro contendo as impurezas previamente seco

M_p - massa do papel de filtro vazio previamente seco

4.1.4 PURIFICAÇÃO DOS ÓLEOS

Para purificar as amostras os processos de degomagem e neutralização foram aplicados. A degomagem foi realizada de acordo com o método ISTA e a neutralização conforme o método AOCS. Vale destacar que a degomagem e neutralização foram realizadas após avaliar os resultados das análises físico-químicas. Assim, nem todas as amostras tiveram a necessidade de serem neutralizadas e degomadas.

4.1.5 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DOS ÓLEOS DE SEMENTES

A caracterização físico-química dos óleos em estudo foi realizada segundo os métodos normatizados, conforme descritos a seguir:

a) Índice de acidez (IA), método AOCS Cd-3d-63

A amostra de óleo diluída em 25 mL da mistura éter etílico-álcool (2:1) foi titulada contra solução padronizada de hidróxido de sódio 0,01 mol L⁻¹. O resultado foi expresso em mg KOH g⁻¹.

b) Teor de umidade (U%), método AOCS Ca 2c-25

1g da amostra foi submetida ao aquecimento por 30 min a 130°C. O resultado foi obtido com base na análise gravimétrica, por diferença de pesagem, e o procedimento foi realizado até obtenção de peso constante.

c) Índice de Peróxido (IP), método AOCS Cd-8-53

A amostra diluída em 30 mL da solução ácido acético clorofórmio (3:2) foi submetida a titulação de retorno, onde utiliza-se iodeto de potássio, amido como indicador e tiosulfato de sódio 0,01 N como agente titulante. O resultado expressa todas as substâncias que oxidam KI em termos de miliequivalente de peróxido por 1000g de amostra.

4.1.6 DERIVATIZAÇÃO DE TRIACILGLICEROIS EM ÉSTERES METÍLICOS

Para obtenção dos ésteres metílicos foram pesados em um tubo de reação (PYREZ) 0,075 g de óleo que foram misturados a 3,5 mL de metóxido de sódio (NaOCH₃) 0,5 mol L⁻¹. A reação ocorreu em banho-maria por 10 min. Em seguida, após resfriar o tubo de ensaio, foram adicionados 6,0 mL da solução de trifluoreto de boro (BF₃) 12% v/v e a reação ocorreu por mais 40 min em banho maria (JOSEPH; ACKMAN, 1992). O produto da reação foi transferido para um funil de separação e a partição foi realizada com três frações de 6 mL de n-hexano. O extrato obtido e coletado em vial de 20 mL foi submetido a secagem em fluxo constante de gás nitrogênio para então ser purificados por cromatografia de adsorção em coluna preparativa. A conversão foi monitorada por Cromatografia em Camada Delgada (CCD) e a conversão foi calculada por diferença de pesagem.

4.1.7 CARACTERIZAÇÃO DO PERFIL QUÍMICO DOS ÓLEOS VEGETAIS

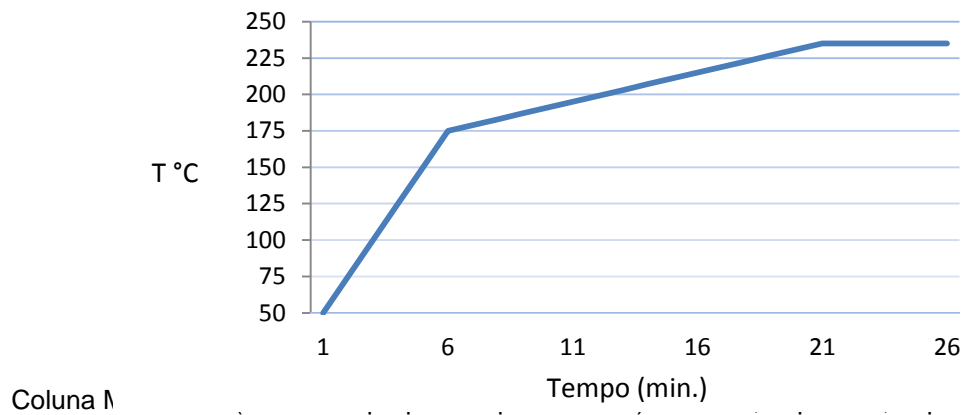
A identificação dos compostos dos óleos vegetais extraídos de sementes de plantas oleaginosas foi realizada de maneira indireta a partir da análise de ésteres metílicos, produto das reações de transesterificação, através da cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas. Por sua vez, a identificação dos ésteres metílicos das amostras foi realizada com base na comparação entre os espectros de massas gerados e os espectros de massas disponíveis na biblioteca NIST, como também por comparação entre os tempos de retenção dos analitos das amostras e os respectivos tempos de retenção dos 35 EM da solução padrão de 5 mg L⁻¹. Solução essa obtida da *Sigma Aldrich* com ésteres metílicos com cadeias carbônicas que variaram de C₄ - C₂₄.

As amostras diluídas na proporção de 1:10 em cloreto de metileno foram injetadas em sistema GC-MS, nas seguintes condições:

CROMATÓGRAFO À GÁS GC2010 PLUS	
PARÂMETROS	CONDIÇÕES
Temperatura do Injetor	250 °C
Volume de injeção	1µL
Taxa do modo de injeção split	1/10
Fase móvel (grau analítico 5.0)	He _(g) ultra puro
Fluxo controlado pela velocidade linear	36,3 cm/sec
Pressão	208,5 Kpa
Fluxo total	25 mL/min
Fluxo na coluna	2 mL/min
Faixa de varredura no modo scan	35 – 700u
ESPECTRÔMETRO DE MASSA	
PARÂMETROS	CONDIÇÕES
Temperatura da fonte de íons	230 °C
Temperatura da interface	250 °C
Tempo de corte do solvente	4,5 min
Limite (threshold)	1000

¹¹ Condições propostas por *Agilent Technologies* (2005).

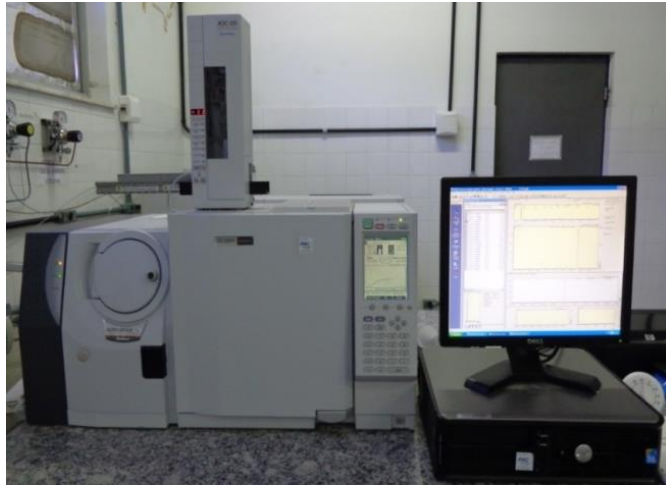
Figura 11. Programa de aquecimento do forno na determinação de FAME por GC-MS.



4.7.2 Para a execução das análises cromatográficas foram utilizados os seguintes equipamentos e coluna cromatográfica:

CROMATÓGRAFO À GÁS GC2010 PLUS ACOPLADO A DETECTOR DE MASSAS		
MÓDULOS	MODELO / TIPO	MARCA
Injetor automático	AOC-20i	Shimadzu
Coluna DB-23 MS	60m X 0,25µm X 0,25µm	Agilent
Fonte de ionização	Impacto de elétrons (70 eV)	Shimadzu
Analizador de massa	Quadropolo	Shimadzu
Detector de massas	GCMS-QP2010	Shimadzu
Processador de dados	Lab Solutions	GCMS Solution
Banco de dados	NIST 08 e GCMS EM 3.01	-

Figura 12. Sistema GC-MS utilizado na caracterização dos Ésteres Metílicos de Ácidos Graxos provenientes da derivatização dos óleos das sementes analisadas.

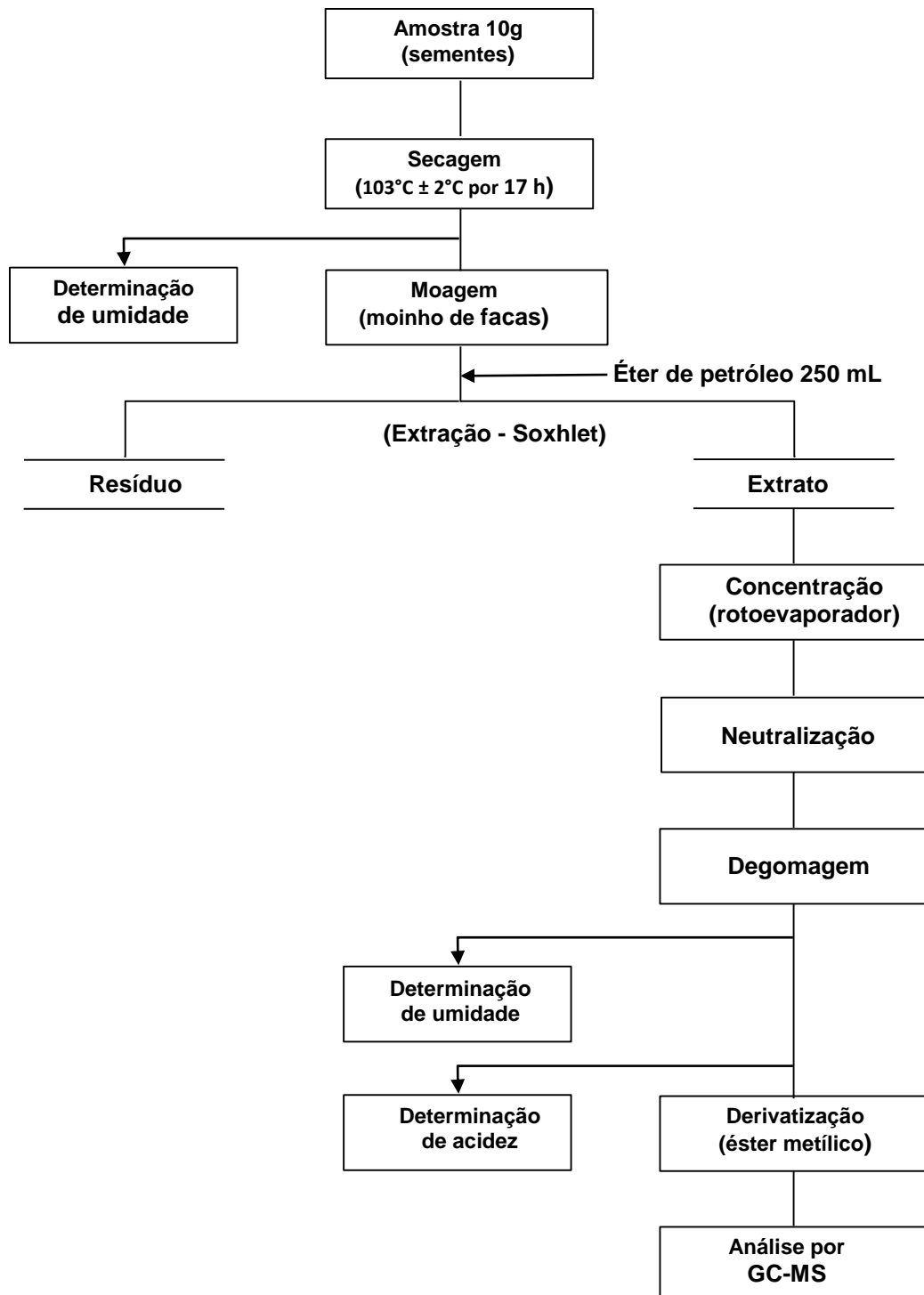


4.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA MULTIVARIADA

Os dados das intensidades relativas dos picos cromatográficos foram processados no software Metaboanalystis 3.0. A matriz de dados foi gerada numa planilha excel .xls, onde as amostras foram dispostas em linhas e os compostos nas colunas. A matriz de dados do tipo CXL continha 28 amostras por 14 compostos formando 7 grupos, sendo 4 réplicas de cada grupo. Os dados foram normalizados por autoescalamamento (centrado na média e dividido pelo desvio padrão de cada variável). Análises por HCA e PCA foram realizadas para diferenciar amostras baseadas nos perfis de ésteres metílicos de ácidos graxos. Todas as áreas dos picos expressas em percentuais relativos foram feitas por normalização por autoescalonamento.

Os procedimentos para as amostras em estudo foram realizados em etapas e estão representados na Figura 13, a seguir.

Figura 13. Esquema experimental.



5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados apresentados nesse trabalho se referem a caracterização físico-química do índice de peróxido, índice de acidez e umidade de óleos de sementes oleaginosas, bem como a preparação dos ésteres metílicos dos ácidos graxos, a caracterização dos perfis desses ésteres nas amostras e, por último, a discriminação dos tipos de óleos baseado nesses perfis.

5.1 GRAU DE UMIDADE DAS SEMENTES

O excesso de água adsorvida (chamada água livre) nas sementes pode promover a hidrólise das moléculas de triacilglicerol, colabora para ação enzimática de possíveis constituintes das sementes (clorofila, metais pesados, dentre outros.), assim como favorecer a proliferação de certos microrganismos que também possuem ação lipolítica (VANDERZANT e SPLITTSTOESSER,1992). Os microrganismos, por ação enzimática também pode provocar hidrólise das moléculas de triacilglicerol, acarretando na liberação de ácidos graxos livres que estão mais propensos a oxidação do que quando esterificados, afetando dessa maneira as propriedades do óleo vegetal. Assim, o excesso de água pode interferir diretamente na qualidade final do óleo vegetal.

O grau de umidade para as sementes oleaginosas avaliadas foi determinado para avaliar o grau de conservação das sementes após o processo de seleção, bem como acondiciona-las de forma apropriada a fim de evitar a lipólise de triacilglicerol, foi determinado o grau de umidade para as sementes oleaginosas avaliadas (Tabela 2.).

Tabela 2. Grau de umidade das sementes.

Amostra	Umidade %
AP	6,40 ± 0,23
BI	0,10 ± 0,02
CV	0,37 ± 0,03
FB	2,85 ± 0,62
LB	3,37 ± 0,72
MO	0,39 ± 0,30
PM	2,23 ± 0,07

De acordo com os parâmetros estabelecidos por ISTA, as sementes em estudo devem apresentar até 6% de umidade, entretanto, é possível observar que o grau de umidade da semente de Algodão da Praia é superior ao recomendado (Tabela 2). A resposta para tal

inadequação pode estar relacionada as etapas de coleta e armazenamento e a forma como as moléculas de água estão agregadas na composição da semente, pode também está relacionada. É possível que parte da água esteja combinada (fortemente ligada a componentes não aquosos) sendo mais difícil de ser eliminada (FILHO; VASCONCELOS, 2011), por isso, mesmo realizando a secagem até peso constante, não foi possível alcançar o limite recomendado de 6%.

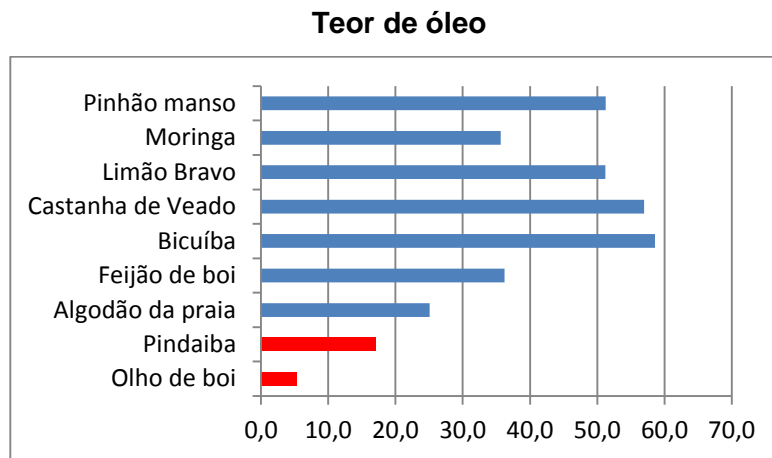
5.2 PERCENTAGENS DE ÓLEO NAS SEMENTES

Afim de aumentar a superfície de contato e, em consequência, a eficiência da extração, as sementes previamente secas, foram moídas em um moinho de facas. Em seguida, foram submetidas a extração utilizando um aparelho de Soxhlet e éter de petróleo como solvente. A partir dos extratos obtidos, foi então calculado o teor de óleo para cada amostra, os resultados tratados e analisados.

De acordo com os resultados apresentados (Figura 13), as sementes de Algodão da Praia (AP), Bicuíba (BI), Castanha de Sabão (CV), Feijão de Boi (FB), Limão Bravo (LB) e as exaustivamente estudadas Moringa (MO) e Pinhão Manso (PM), se destacaram com percentual de óleo superior a 20%, diferentemente das outras duas espécies analisadas (Pindaiba, Olho de Boi).

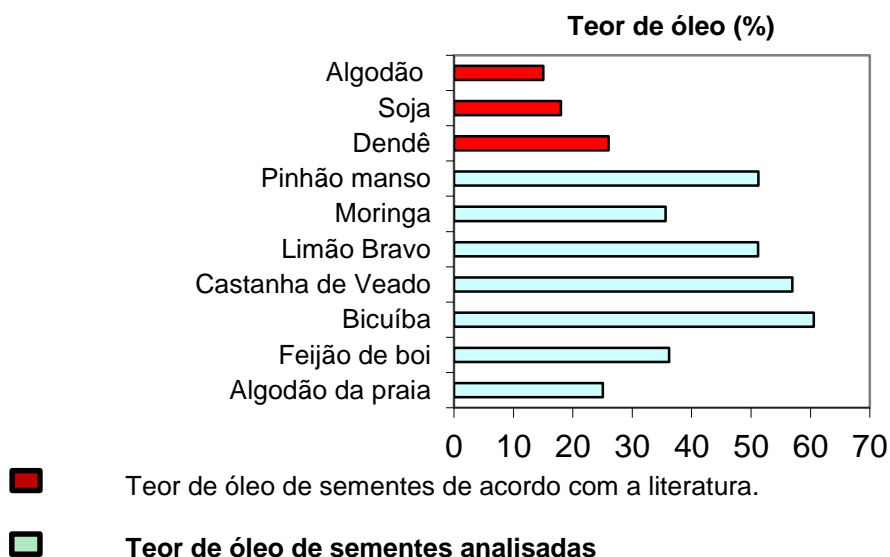
É importante frisar que a extração de óleo foi realizada com o uso de solvente que sabidamente é mais eficiente que a extração realizada por prensagem mecânica. Visando trabalhos futuros que utilizem a extração em grande escala e por isso a necessidade do uso da prensa que possivelmente apresentará rendimento de óleo por massa de semente inferior ao rendimento por extração química, determinou-se que apenas as sementes com teor superior a 20% seriam estudadas com mais detalhes. Dessa maneira, considerando o maior percentual de óleo (superior a 20%), apenas os óleos das sete primeiras sementes tiveram suas características físico-químicas analisadas.

Figura 14. Teor de óleo para as espécies estudadas. .



É importante salientar que os resultados demonstraram que as sementes AP, BI, CV, FB, LB, M e PM possuem teor de óleo igual ou até mesmo superior à soja e dendê que se destacam amplamente como economicamente favoráveis do ponto de vista industrial (Figura.13).

Figura 15. Teor de óleo das 7 espécies de sementes analisadas comparado com as principais fontes de óleos utilizadas no Brasil.



5.3 PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS DOS ÓLEOS VEGETAIS

O pré-tratamento ou refinamento do óleo vegetal, visa remover os componentes indesejáveis com o mínimo dano ao óleo neutro. Dentre esses componentes, destacam-se os ácidos graxos livres e fosfolipídios (principal constituinte das gomas), que precisam ser removidos durante o processo de neutralização. Se não forem removidos, os fosfolipídios podem passar por um processo de hidratação pela umidade do ar, precipitando com o tempo devido à suas propriedades emulsificantes (HOFFMANN, 1989^a apud GIOIELLE, 1996). Por essas razões o processo de degomagem antecedeu as análises físico-químicas, inclusive o tratamento da neutralização que foi realizado apenas para aqueles óleos que possuíam índice de acidez ou ácidos graxos livres em valores mais elevados (acima de 4 mg de KOH g⁻¹), o que dificulta a reação de transesterificação.

Entre as propriedades físico-químicas importantes para avaliação da qualidade de óleos vegetais, neste trabalho foram estudados o índice e peróxido, o índice de acidez e umidade.

O índice de peróxido foi feito mediante titulação de retorno conforme procedimento descrito na parte experimental, com a finalidade de avaliar a capacidade redutora dos óleos vegetais ou a sua susceptibilidade aos processos oxidativos.

Na avaliação dos resultados observados para índice de peróxido (Tabela. 3), observa-se que os óleos de BI, CV e FB, nas condições analisadas, possuem teores de peróxido dentro dos limites estabelecidos tanto pela resolução RDC nº 270 da ANVISA (2005) que especifica o valor máximo de 10 meq O₂ kg⁻¹ para óleos vegetais semi-refinados, como também para o padrão internacional (*Codex Alimentarium Commission*) que estabelece valor máximo de 5,0 meq O₂ kg⁻¹ para óleos vegetais.

Por outro lado, as amostras de AP, LB, MO e PM têm índice de peróxido dentro dos parâmetros estabelecidos apenas para a resolução RDC nº 270 da ANVISA (2005). É importante destacar que os valores para o índice de peróxido para os óleos de M e PM estão de acordo com as normas estabelecidas. Ressalte-se que não existem valores predeterminados pelas normas citadas para os óleos em estudo, salvo os óleos de M e PM, pois esses óleos não são comercializados.

De maneira geral os resultados demonstram o bom estado de conservação dos óleos extraídos, que o processo de extração não contribuiu de maneira acentuada na oxidação do óleo.

Tabela 3. Propriedades físico-químicas de óleos brutos das sementes.

Amostra	Índice de Peróxido (meg /1000 g O ₂)	Acidez (mg KOH. g ⁻¹)	Umidade %
AP	4,69 ± 0,45	4,012 ± 1,50	2,80 ± 0,014
BI	1,036 ± 0,040	4,012 ± 1,50	1,72 ± 0,24
CV	1,39 ± 0,19	3,66±0,28	0,72± 0,12
FB	1,053 ± 0,13	2,62±0,14	4,06 ± 0,37
LB	6,68 ± 0,30	1,52±0,093	0,37 ± 0,11
MO	6,072 ± 0,23	1,38±0,023	1,98± 0,54
PM	6,94 ± 0,064	1,34±0,0058	1,50 ± 0,48

AP = Algodão de Praia; BI = Bicuíba; CV = Castanha de Sabão; FB = Feijão de Boi; LB = Limão Bravo; MO = Moringa; PM = Pinhão Manso.

O índice de acidez dos óleos vegetais foi determinado por titulação ácido-base utilizando hidróxido de sódio como titulante e fenolftaleína como indicador. Os resultados são apresentados na Tabela 3.

De acordo com o *Codex Alimentarium Commission*, o parâmetro de qualidade para óleos brutos é uma acidez máxima de 4,0 mg KOH g⁻¹. Baseado em tal parâmetro, os resultados encontrados indicam que as concentrações de íons H⁺, na forma de ácido oleico, estão dentro do limite aceitável para todos os óleos analisados (Tabela 3) (MALACRIDA, 2010), revelando um bom estado de conservação. Estes resultados revelam que as moléculas de ácidos graxos estão em sua maioria ligadas à molécula do glicerol, ou seja, não sofreram hidrólise em grandes proporções, refletindo em baixa umidade.

Dessa maneira, os baixos índices de acidez ou baixos teores de ácidos graxos livres indicam que os óleos em destaque possuem concentração hidrogeniônica que, em meio básico, desfavorece a reação de saponificação, favorecendo a esterificação, reação desejável neste trabalho.

Apesar do valor médio de acidez do algodão de praia (AP) está dentro do limite máximo aceitável (4,00 ± 1,50 mg KOH g⁻¹), é importante chamar atenção para o limite, pois para 95% de confiança, esse valor pode chegar 5,50 mg KOH g⁻¹, caracterizando-o como impróprio para uso posterior, na reação de esterificação. Por essa razão o óleo de AP foi neutralizado com hidróxido de sódio, apresentando então uma acidez corrigida com o limite máximo de 4,00 (3,68 ± 0,32) mg KOH g⁻¹, passando a ser próprio para fins de esterificação.

Uma das razões pela qual o óleo da semente de algodão da praia apresentou alto índice de acidez deve-se ao grau de umidade do óleo 2,80 (Tabela 3), que por sua vez foi influenciado pelo grau de umidade de sua semente de 6%. Dessa maneira justifica-se o tratamento deste óleo, afim de evitar a saponificação nas etapas das reações.

A determinação das propriedades físico-químicas (acidez, ácido graxo livre, umidade e peróxido) dos óleos além de refletir o grau de conservação, estabilidade, características e qualidade também demonstraram o efeito dos tratamentos nas amostras (neutralização e degomagem) bem como norteiam a preparação das mesmas para utilizações futuras como, por exemplo, a reação de transesterificação realizado nesta dissertação.

5.4 FORMAÇÃO DOS ÉSTERES METÍLICOS A PARTIR DA REAÇÃO DE TRANSESTERIFICAÇÃO

Para a produção dos ésteres metílicos os óleos foram submetidos a duas etapas de reações. A primeira etapa foi realizada em meio básico, utilizado metóxido de sódio catalizador, diferentemente da segunda etapa que fez uso do catalizador ácido, trifluoreto de boro. A razão pela qual foram utilizados dois catalizadores se deve ao fato do metóxido de sódio não ser eficiente para a conversão de ácidos graxos livres em ésteres (GUTNIKOV, 1995). Em contrapartida, o trifluoreto de boro é um ácido de Lewis recomendado para transesterificação de amostras em que há quantidades apreciáveis de ácidos graxos livres. Como as amostras em questão são óleos brutos com índice de acidez superior a 1 mg KOH g⁻¹, fez-se uso de dois catalizadores, com a inversão do meio básico para meio ácido (Tabela 4).

Tabela 4. Resultados da conversão dos óleos a ésteres metílicos.

Amostra	Massa da Amostra (g)	Massa do vial (g)	Massa do vial + Amostra (g)	Rendimento%
Algodão da Praia	0,0753	13,1990	13,2659	88,42 ± 0,60
	0,0758	13,5779	13,6446	
Bicuíba	0,0755	12,5205	12,5912	92,59 ± 0,92
	0,0758	12,9317	13,0014	
	0,0742	12,7495	12,8179	
Castanha de Sabão	0,0751	13,5136	13,5859	95,44 ± 0,77
	0,0747	12,4547	12,5259	
	0,0743	13,2171	13,2875	
Feijão de Boi	0,0742	13,2204	13,2794	78,17 ± 1,19
	0,0765	13,3781	13,4372	
	0,0741	12,8438	12,9014	
Moringa	0,0744	13,0125	13,0723	80,87 ± 0,84
	0,0755	13,5982	13,6589	
	0,0760	13,6006	13,6628	
Limão Bravo	0,0753	13,5327	13,5962	83,27 ± 0,90
	0,0763	14,2050	14,2684	
	0,0761	13,2249	13,2876	
Pinhão Manso	0,0763	13,0265	13,0898	83,40 ± 0,62
	0,0761	13,3037	13,3675	

Os resultados obtidos demonstram conversões satisfatórias, os rendimentos entre 78,2 e 95,4%, confirmando tratar-se de uma metodologia adequada para obtenção de ésteres de triacilgliceróis.

5.5 CARACTERIZAÇÃO DO PERFIL DE ÉSTERES METÍLICOS POR GC-MS

Os óleos estudados tiveram seus ácidos graxos constituintes caracterizados de forma indireta a partir da análise dos ésteres metílicos de ácidos graxos produzidos nas reações de transesterificação, através da cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG-MS).

A identificação dos ésteres metílicos de ácidos graxos das amostras foi realizada com base na comparação entre os espectros de massas gerados e os espectros de massas padrão disponíveis na biblioteca NIST e, também, por comparação entre os tempos de retenção dos analitos das amostras (Figuras 18 – 23) e os respectivos tempos de retenção dos 35 ésteres metílicos (EM) que compunham a solução padrão de 5 µg mL⁻¹ (Figura 17 e Tabela 5). No que se refere à espectrometria de massas, os constituintes da amostra foram ionizados por impacto de elétrons, com energia de 70 eV, promovendo a formação dos íons moleculares **[M]⁺** que, por sua vez, são fragmentados dando origem a variados outros íons.

Dessa maneira, nos espectros de massas dos ésteres metílicos das amostras de AP, BI, FB, CV, LB, MO e PM (Figuras 24 – 27), é possível visualizar o íon acila **[RCO]⁺**, o pico

característico da maioria dos ésteres metílicos de razão massa carga (m/z) = 74, resultante do rearranjo de McLafferty, e os íons pertencentes à série de perdas de grupos CH_2 (Figura 16).

Figura 16. (I) Formação do íon acila. (II) Formação do pico base m/z = 74 pelo rearranjo de McLafferty (retirado de CASTRO, 2009).

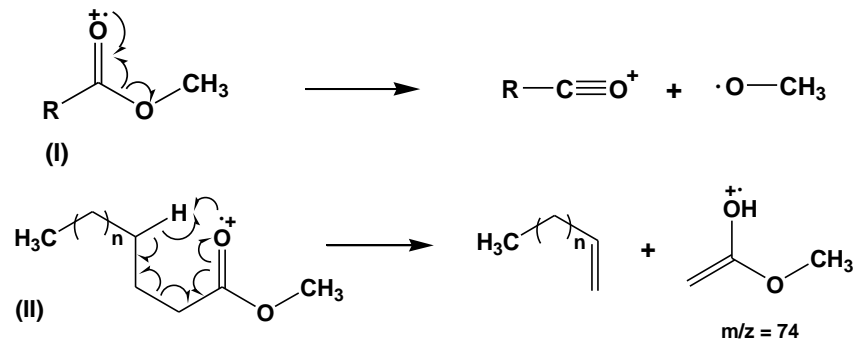
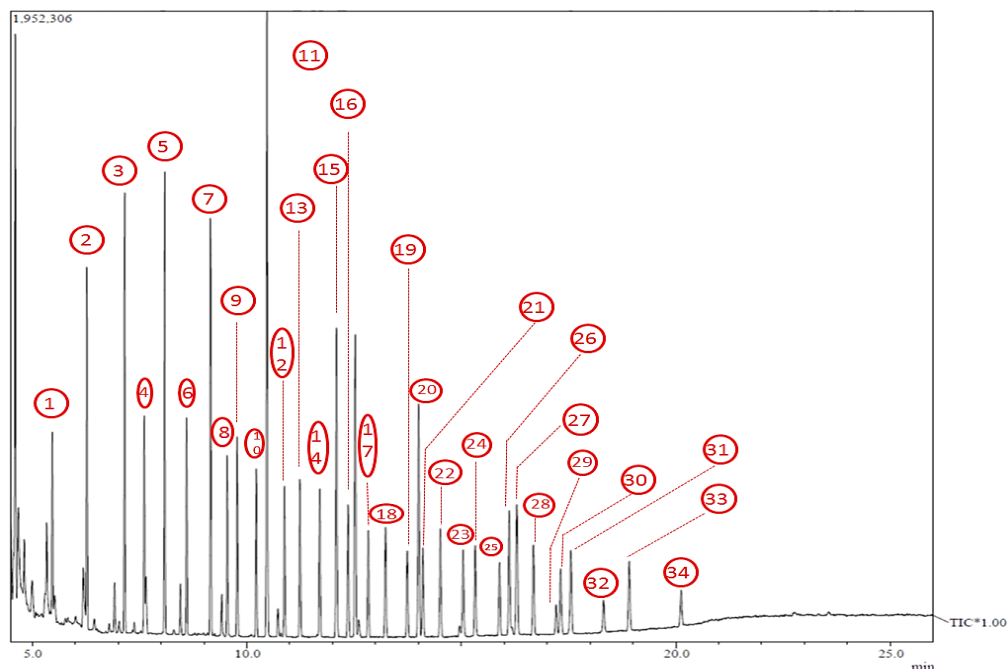


Figura 17. Cromatograma de íons totais da solução padrão.



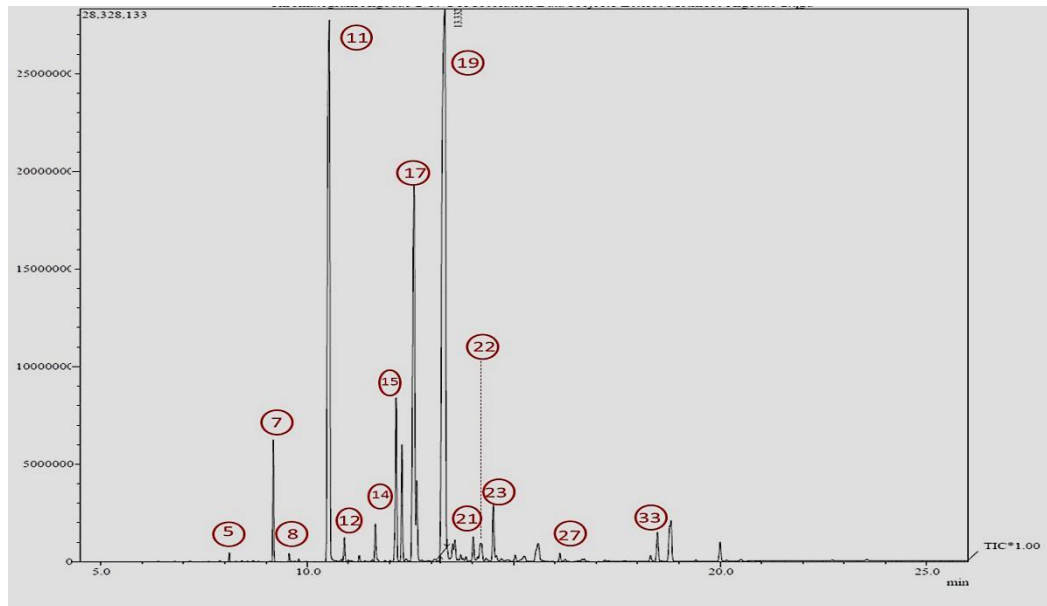
Cromatograma obtido através do GC-MS, no modo SCAN, da injeção de $1\mu\text{L}$ da solução padrão de $5\mu\text{g mL}^{-1}$ da mistura dos FAME formado por compostos com cadeias de carbono de $\text{C}_4 - \text{C}_{24}$. Identificação dos picos: 1- caproato de metila; 2 – caprilato de metila; 3 – caprato de metila; 4 – undecanoato de metila; 5 – laurato de metila; 6 – tridecanoato de metila; 7 – miristato de metila; 8 – miristoleato de metila; 9– pentadecanoato de metila; 10 – cis-10-pentadecenoato de metila; 11 – palmitato de metila; 12 – palmitoleato de metila; 13 – margarato de metila; 14 – cis-10-heptadecenoato de metila; 15 – estearato de metila; 16 – elaidato de metila; 17 – oleato de metila; 18 – linoleiladato de metila; 19 – linoleato de metila; 20 – γ -linolenato de metila; 21 – Aracdato de metila; 22 – α -linolenato de metila; 23 – gadoleato de metila; 24 – heneicosanoato de metila; 25 – cis-11,14-eicosanodienoato de metila; 26 – dihoma- γ -linolênato de metila; 27 – behenato de metila; 28 - aracdonato de metila; 29 – erucato de metila; 30 –tricosanoato de metila; 31 – EPA; 32 – cis-13,16-docosadienoato de metila; 33 - lignocerato de metila; 34 – nervonato de metila

Tabela 5. Constituintes da solução padrão de 5 µg mL⁻¹, composta por mistura de ésteres metílicos (FAME) com cadeias carbônicas que possuem de 4 a 24 carbonos.

Ord.	t _R	Nº de C do ácido graxo	Nome do composto
1	5,467	C6:0	Caproato de metila
2	6,267	C8:0	Caprilato de metila
3	7,151	C10:0	Caprato de metila
4	7,608	C11:0	Undecanoato de metila
5	8,117	C12:0	laurato de metila
6	8,592	C13:0	Tridecanoato de metila
7	9,149	C14:0	Miristato de metila
8	9,541	C14:1	Miristoleato de metila
9	9,775	C15:0	Pentadecanoatode metila
10	10,216	C15:1	(E)-10-pentadecenoato de metila
11	10,466	C16:0	Palmitato de metila
12	10,875	C16:1	Palmitoleato de metila
13	11,323	C17:0	Margarato de metila
14	11,667	C17:1	(E)-10-heptadecanoatode metila
15	12,092	C18:0	Estearato de metila
16	12,357	C18:1t	Elaidato de metila
17	12,524	C18:1c	Oleato de metila
18	12,834	C18:2t	Linoleaidato de metila
19	13,233	C18:2c	Linoleato de metila
20	13,741	C18:3n3	γ-linolenato de metila
21	13,999	C20:0	Aracdato de metila
22	14,099	C18:3 n3	α-linolenato de metila
23	14,509	C20:1	Gadoleato de metila
24	15,042	C21:0	Heneicosanoato de metila
25	15,325	C20:2	(E)-11,14-eicosanodienoatode metila
26	15,893	C20:3 n6	Di-homo-γ-linolenato de metila
27	16,118	C22:0	Behenato de metila
28	16,292	C20:4	Aracdonato de metila
29	16,684	C22:1 n9	Erucato de metila
30	17,209	C23:0	Tricosanoato de metila
31	17,316	C20:5	(E)-5,8,11,14,17- eicosapentenoato de metila (EPA)
32	17,550	C22:2	(E)-13,16- docosadienoato de metila
33	18,317	C24:0	Lignocerato de metila
34	18,916	C24:1	Nervonato de metila

Nº de C = número de carbonos do ácido carboxílico correspondentes,

Figura 18. Cromatograma de íons totais da semente de *H. tiliaceus* (Algodão de Praia).



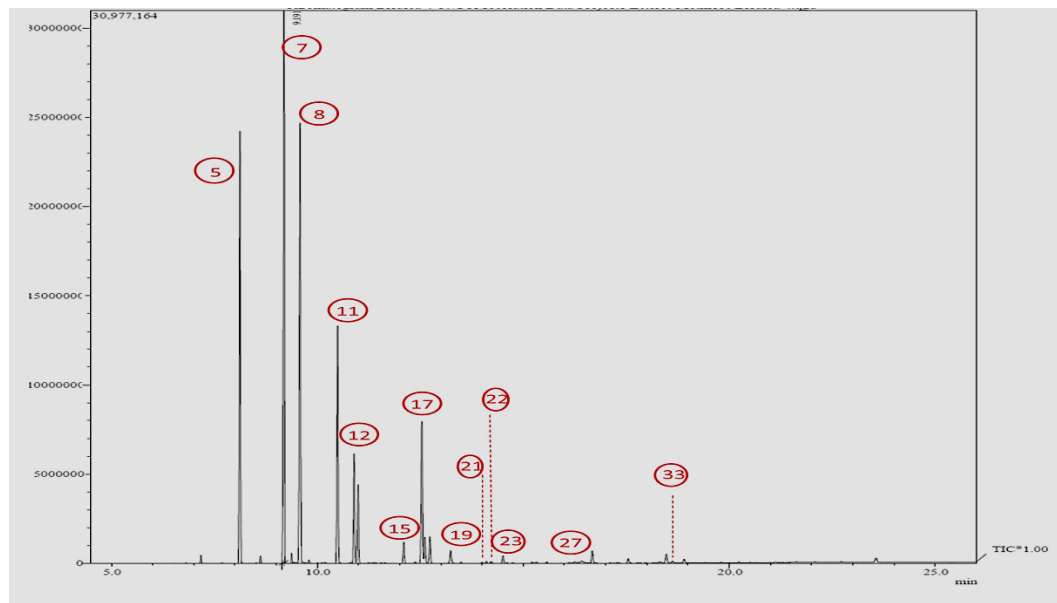
Cromatograma obtido através do GC-MS, no modo SCAN, da injeção de 1 μ L do extrato dos FAME em diclorometano.

Identificação dos picos: **5** – laurato de metila; **7** – miristato de metila; **8** – miristoleato de metila; **11** – palmitato de metila; **12** – palmitoleato de metila; **14** – cis-10-heptadecenoato de metila; **15** – estearato de metila; **17** – oleato de metila; **19** – linoleato de metila; **21** – Aracdato de metila; **22** – α -linolenato de metila; **23** – gadoleato de metila; **27** – behenato de metila; **33**–Lignocerato de metila.

Tabela. 6. Constituintes identificados no produto da transesterificação do óleo nas sementes de *H. tiliaceus* (Algodão de Praia).

Ordem	tr	Nº de C do Ácido graxo correspondente	Concentração relativa %	Nome do composto
5	8,12	C12:0	0,17	Laurato de metila
7	9,14	C14:0	2,27	Miristato de metila
8	9,53	C14:1	0,16	Miristoleato de metila
11	10,52	C16:0	27,48	Palmitato de metila
12	10,89	C16:1	0,51	Palmitoleato de metila
14	11,67	C17:1	0,85	Cis-10-heptadecanoato de metila
15	12,11	C18:0	4,55	Estearato de metila
17	12,52	C18:1c	18,25	Oleato de metila
19	13,23	C18:2c	42,97	Linoleato de metila
21	14,01	C20:0	0,64	Aracdato de metila
22	14,12	C18:3	0,11	α -linolenato de metila
23	14,52	C20:1	1,62	Gadoleato de metila
27	16,12	C22:0	0,24	Behenato de metila
33	18,34	C24:0	0,18	Lignocerato de metila

Figura 19. Cromatograma de íons totais da semente de *V. officinalis* (Bicuiba).



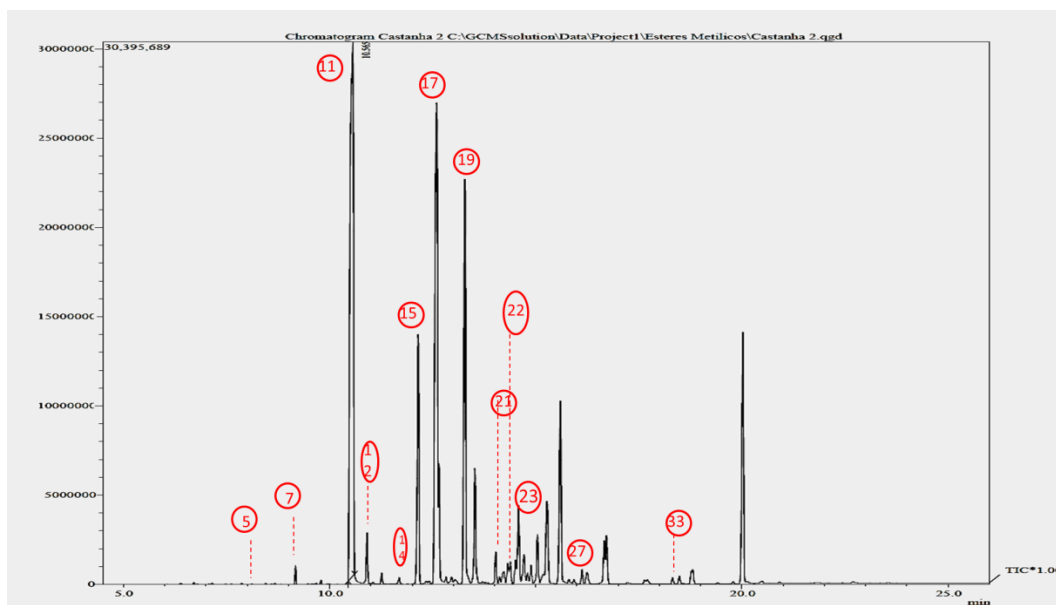
Cromatograma obtido através do GC-MS, no modo SCAN, da injeção de 1µL do extrato dos FAME em diclorometano.

Identificação dos picos: **5** – laurato de metila; **7** – miristato de metila; **8** – miristoleico de metila; **11** – palmitato de metila; **12** – palmitoleato de metila; **15** – estearato de metila; **17** – oleato de metila; **19** – linolenato de metila; **21** – Aracdato de metila; **22** – α-linolenato de metila; **23** – gadoleato de metila; **27** – behenato de metila; **33** – Lignocerato de metila.

Tabela. 7 . Constituintes identificados no produto da transesterificação do óleo nas sementes de *V. officinalis* (Bicuiba).

Ordem	t _R	Nº de C do ácido graxo correspondente	Concentração relativa %	Nome do composto
5	8,12	C12:0	18,42	Laurato de metila
7	9,15	C14:0	30,72	Miristato de metila
8	9,54	C14:1	22,42	Miristoleato de metila
11	10,50	C16:0	11,82	Palmitato de metila
12	10,88	C16:1	5,21	Palmitoleato de metila
15	12,11	C18:0	1,11	Estearato de metila
17	12,52	C18:1c	8,73	Oleato de metila
19	13,23	C18:2c	0,82	Linoleato de metila
21	14,01	C20:0	0,04	Aracdato de metila
22	14,11	C18:3	0,09	α-linolenato de metila
23	14,51	C20:1	0,47	Gadoleato de metila
27	16,23	C22:0	0,04	Behenato de metila
33	18,36	C24:0	0,10	Lignocerato de metila

Figura 20. Cromatograma de íons totais da semente de *B. glaba* (Castanha de sabão).



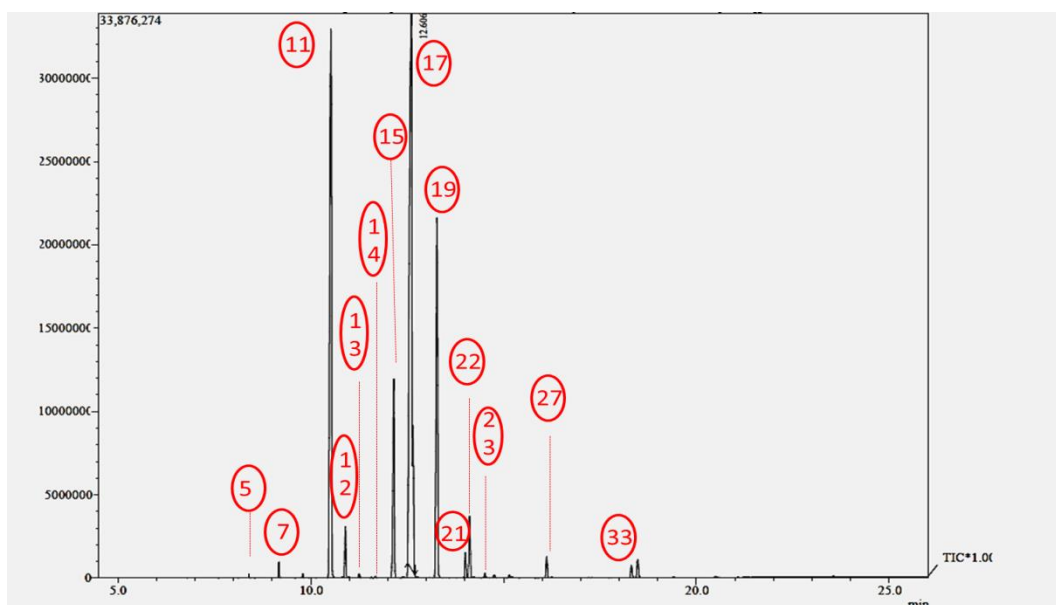
Cromatograma obtido através do GC-MS, no modo SCAN, da injeção de 1 μ L do extrato dos FAME em diclorometano.

Identificação dos picos: 5 – laurato de metila; 7 – miristato de metila; 9 – pentadecanoato de metila; 11 – palmitato de metila; 12 – palmitoleato de metila; 13 – heptadecanoato de metila; 14 – cis-10-heptadecenoato de metila; 15 – estearato de metila; 17 – oleato de metila;; 19 – linoleato de metila; 21 – Aracdato de metila; 22 – α -linolenato de metila; 23 – gadoleato de metila; 27 – behenato de metila; 33 - Lignocerato de metila.

Tabela 8. Constituintes identificados no produto da transesterificação do óleo nas sementes de *B. glaba* (Castanha de sabão).

Ordem	t _R	Nº de C do ácido graxo correspondente	Concentração relativa %	Nome do composto
5	8,11	C12:0	0,01	Laurato de metila
7	9,15	C14:0	0,38	Miristato de metila
11	10,87	C16:0	43,86	Palmitato de metila
12	10,90	C16:1	1,24	Palmitoleato de metila
14	11,68	C17:1	0,12	(E)-heptadecenoato de metila
15	12,11	C18:0	7,68	Estearato de metila
17	12,52	C18:1c	27,38	Oleato de metila
19	13,23	C18:2c	15,38	Linoleato de metila
21	14,03	C20:0	0,83	Aracdato de metila
22	14,13	C18:3	0,17	α -linolenato de metila
23	14,52	C20:1	2,42	Gadoleato de metila
27	16,12	C22:0	0,39	Behenato de metila
33	18,32	C24:0	0,14	Lignocerato de metila

Figura 21. Cromatograma de íons totais da semente de *G. flexuosa* (Feijão de Boi).



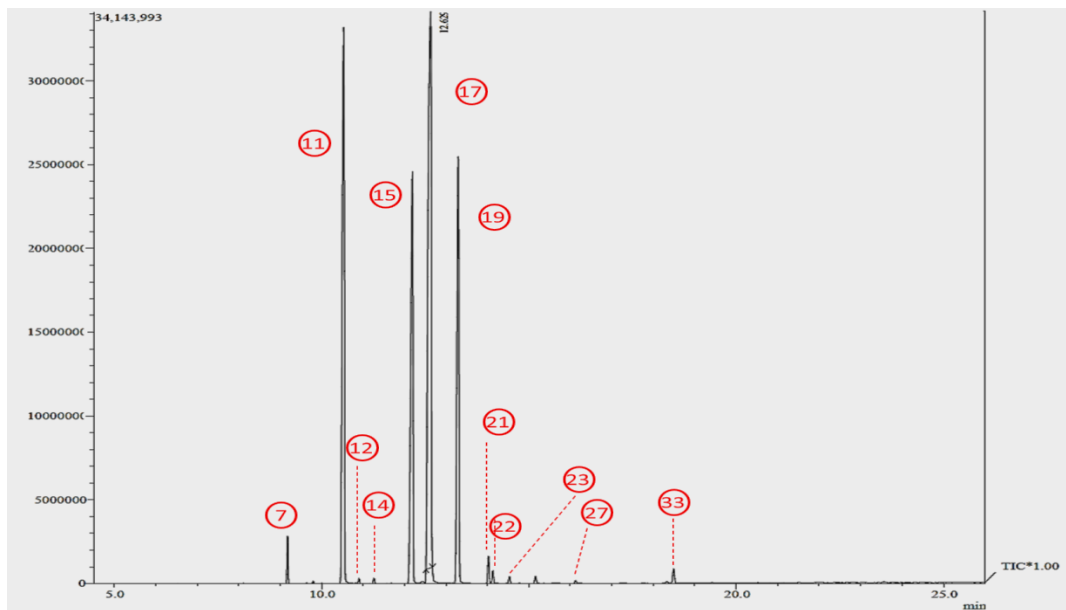
Cromatograma obtido através do GC-MS, no modo SCAN, da injeção de 1µL do extrato dos FAME em diclorometano.

Identificação dos picos: 5 –laurato de metila; 7 –miristato de metila; 11 – palmitato de metila; 12 – palmitoleato de metila; 14 – cis-10-heptadecenoato de metila; 15 – estearato de metila; 17 – oleato de metila; 19 – linoleato de metila; 22 – α-linolenato de metila; 23 – gadoleato de metila; 27 – behenato de metila; 33 - Lignocerato de metila.

Tabela 9. Constituintes identificados no produto da transesterificação do óleo nas sementes de *G. flexuosa*(Feijão de Boi).

Ordem	t _R	Nº de C do Ácido graxo correspondente	Concentração relativa %	Nome do composto
5	8,12	C12:0	0,01	Laurato de metila
7	9,14	C14:0	0,42	Miristato de metila
11	10,52	C16:0	27,75	Palmitato de metila
12	10,89	C16:1	1,65	Palmitoleato de metila
14	11,67	C17:1	0,05	(E)-10-heptadecanoato de metila
15	12,11	C18:0	7,74	Estearato de metila
17	12,52	C18:1c	42,06	Oleato de metila
19	13,23	C18:2c	15,58	Linoleato de metila
21	14,00	C20:0	0,91	Aracdato de metila
22	14,10	C18:3	2,33	α-linolenato de metila
23	14,51	C20:1	0,18	Gadoleato de metila
27	16,12	C22:0	0,80	Behenato de metila
33	18,32	C24:0	0,53	Lignocerato de metila

Figura 22. Cromatograma de íons totais da semente de *S. guianensis* (Limão Bravo)

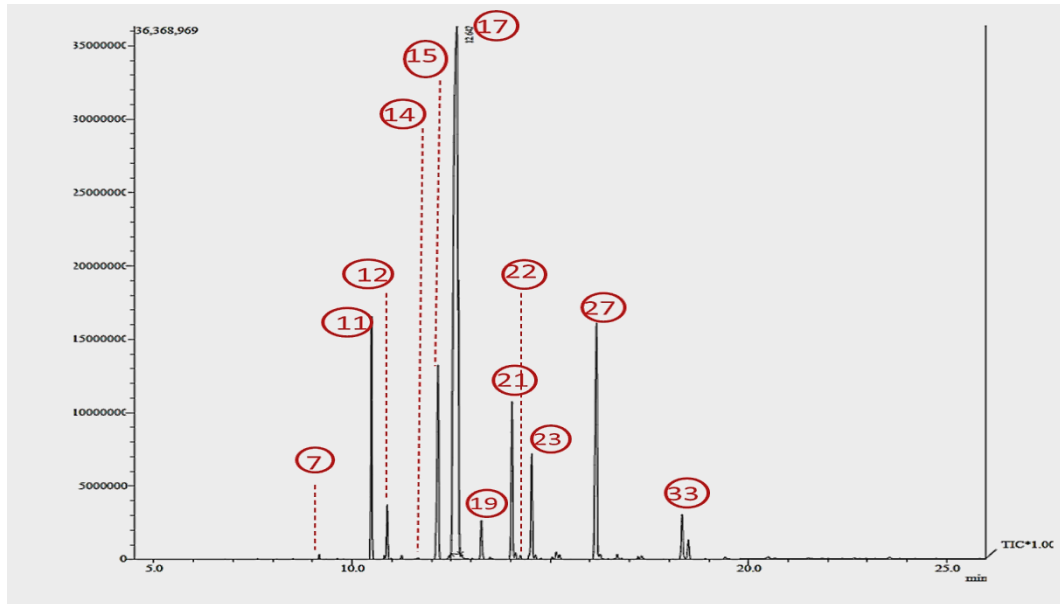


Cromatograma obtido através do GC-MS, no modo SCAN, da injeção de 1µL do extrato dos FAME em diclorometano

Identificação dos picos: **7** – miristato de metila; **11** – palmitato de metila; **12** – palmitoleato de metila; **14** - cis-10-heptadecenoato de metila; **15** – estearato de metila; **17** – oleato de metila; **19** – linoleato de metila; **21** – Aracdato de metila; **22** – α-linolenato de metila; **23** – gadoleato de metila; **27** – behenato de metila ; **33** - Lignocerato de metila.

Tabela 10. Constituintes identificados no produto da transesterificação do óleo nas sementes de *S. guianensis* (Limão Bravo).

Ordem	t _R	Nº de C do Ácido graxo correspondente	Concentração relativa %	Nome do composto
7	9,14	C14:0	0,87	Miristato de metila
11	10,52	C16:0	24,72	Palmitato de metila
12	10,90	C16:1	0,08	Palmitoleato de metila
15	12,11	C18:0	18,13	Estearato de metila
17	12,52	C18:1c	37,93	Oleato de metila
19	13,23	C18:2c	17,06	Linoleato de metila
21	14,02	C20:0	0,64	Aracdato de metila
22	14,13	C18:3n3	0,30	α-linolenato de metila
23	14,51	C20:1	0,16	Gadoleato de metila
27	16,12	C22:0	0,06	Behenato de metila
33	18,32	C24:0	0,04	Lignocerato de metila

Figura 23. Cromatograma de íons totais da semente de *M. oleífera* (Moringa)

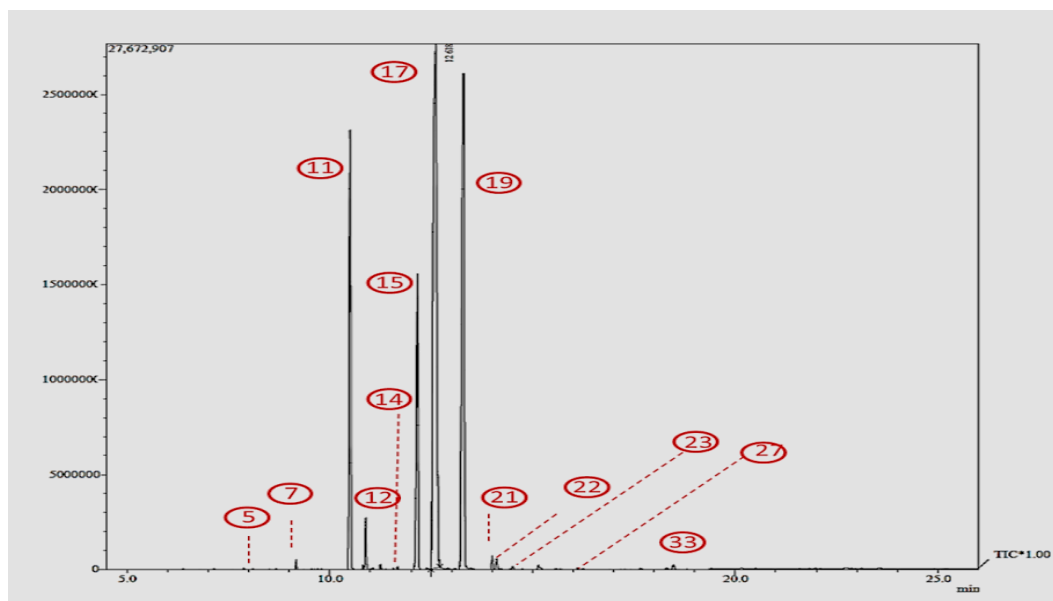
Cromatograma obtido através do GC-MS, no modo SCAN, da injeção de 1µL do extrato dos FAME em diclorometano.

Identificação dos picos: **7** – miristato de metila; **11** – palmitato de metila; **12** – palmitoleato de metila; **14** - cis-10-heptadecenoato de metila ; **15** - estearato de metila; **17** – oleato de metila; **19** – linoleato de metila; **21** – Aracdato de metila; **22** – α-linolenato de metila; **23** – gadoleato de metila; **27** – behenato de metila; **33** - lignocerato de metila.

Tabela 11. Constituintes identificados no produto da transesterificação do óleo nas sementes de *M. oleífera* (Moringa).

Ordem	t _R	Nº de C do Ácido graxo correspondente	Concentração relativa %	Nome do composto
7	9,14	C14:0	0,13	Miristato de metila
11	10,52	C16:0	7,25	Palmitato de metila
12	10,92	C16:1	1,67	Palmitoleato de metila
14	11,67	C17:1	0,03	(E)-10-heptadecanoatode metila
15	12,11	C18:0	8,63	Estearato de metila
17	12,52	C18:1c	56,20	Oleato de metila
19	13,23	C18:2c	1,49	Linoleato de metila
21	14,02	C20:0	6,25	Aracdato de metila
22	14,11	C18:3	0,23	α-linolenato de metila
23	14,53	C20:1	4,08	Gadoleato de metila
27	16,10	C22:0	12,15	Behenato de metila
33	18,31	C24:0	1,87	Lignocerato de metila

Figura 24. Cromatograma de íons totais da semente de *J. curcas* (Pinhão manso).



Cromatograma obtido através do GC-MS, no modo SCAN, da injeção de 1µL do extrato dos FAME em diclorometano.

Identificação dos picos: 5 – Laurato de metila; 7 – miristato de metila; 8 – miristoleato de metila; 11 – palmitato de metila; 12 – palmitoleato de metila; 14 – cis-10-heptadecenoato de metila; 15 – estearato de metila; 17 – oleato de metila; 19 – linoleato de metila; 21 – Aracdato de metila; 22 - α -linolenato de metila; 23 – gadoleato de metila; 27 – behenato de metila; 33 - Lignocerato de metila.

Tabela 12. Constituintes identificados no produto da transesterificação do óleo na sementes de *J. curcas* (Pinhão manso).

Ordem	t _R	Nº de C do Ácido graxo correspondente	Concentração relativa %	Nome do composto
5	8,12	C12:0	0,02	Laurato de metila
7	9,14	C14:0	0,23	Miristato de metila
8	9,53	C14:1	0,01	Miristoleato de metila
11	10,52	C16:0	14,53	Palmitato de metila
12	10,89	C16:1	1,34	Palmitoleato de metila
14	11,67	C17:1	0,07	(E)-10-heptadecanoatode metila
15	12,11	C18:0	10,59	Estearato de metila
17	12,52	C18:1c	42,85	Oleato de metila
19	13,23	C18:2c	29,45	Linoleato de metila
21	18,318	C20:0	0,39	Aracdato de metila
22	16,118	C18:3	0,34	α -linolenato de metila
23	14,001	C20:1	0,09	Gadoleato de metila
27	14,10	C22:0	0,04	Behenato de metila
33	14,509	C24:0	0,04	Lignocerato de metila

5.5.1 IDENTIFICAÇÃO DE ÉSTERES METÍLICOS COMUNS A TODAS AS SETE ESPÉCIES ESTUDADAS.

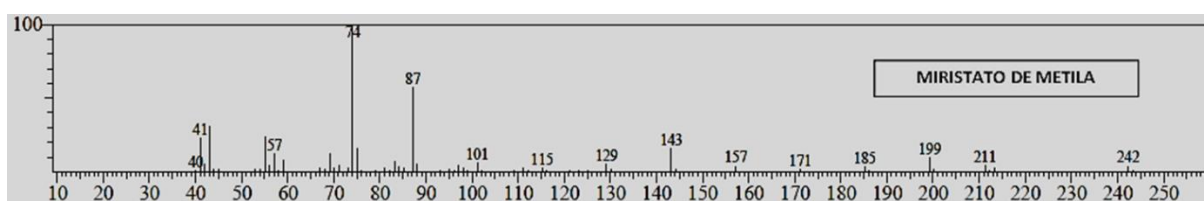
Foram identificados os seguintes ésteres metílicos (saturados e insaturados) que são comuns nas 7 espécies estudadas: miristato de metila, palmitato, palmitoleato, oleato, linoleato, estearato, docosanoato, tetracosanoato, aracdato, linolenato e eicosenoato de metila.

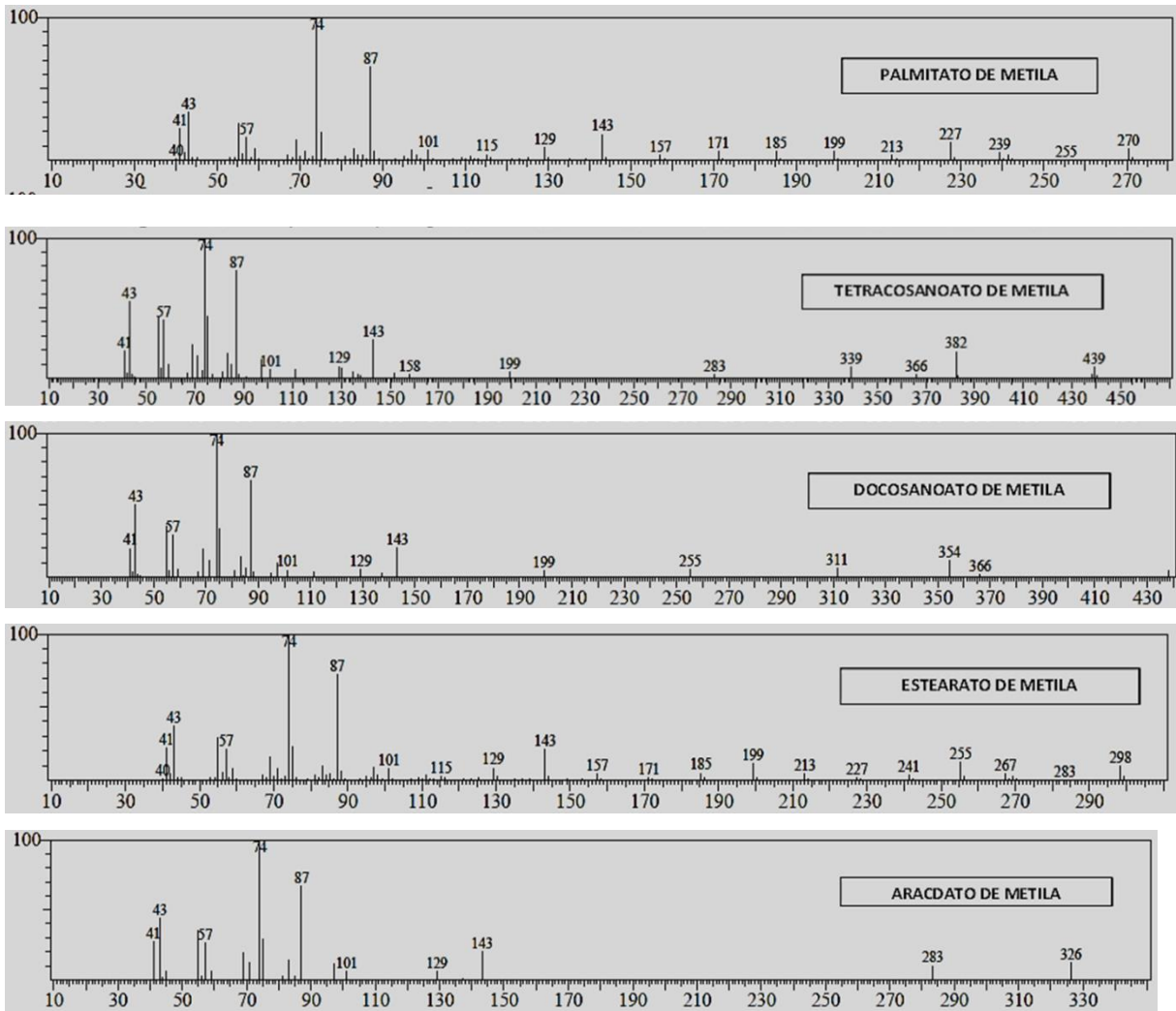
Os ésteres metílicos saturados foram identificados a partir das seguintes observações nos espectros de massas: i) presença de íons acila ($m/z = 74$) resultantes da perda do grupo metoxila ($M^+ - 31$) que são, respectivamente, característicos dos ésteres metílicos dos ácidos graxos saturados miristato ($m/z = 211$), palmitato ($m/z = 239$), estearato ($m/z = 267$), behenato ($m/z = 323$), lignocerato ($m/z = 351$); aracdato ($m/z = 295$) ii) presença dos respectivos íons moleculares $[M]^+$, miristato ($m/z = 242$), palmitato ($m/z = 270$), estearato ($m/z = 298$), behenato ($m/z = 354$), lignocerato ($m/z = 382$); aracdato ($m/z = 326$) iii) presença do pico do íon $m/z = 74$, destacado como pico base, de éster metílico saturado, iv) presença dos picos $m/z = 87$, $m/z = 101$, $m/z = 115$, oriundos da perda de grupos CH_2 (confirmam a impossibilidade de haver outro grupo funcional na cadeia).

As observações acima que são comuns nos seus espectros de massas de óleos de sementes de AP, BI, FB, CV, LB, MO e PM (Figura 25), indicando presença dos ésteres metílicos miristato, palmitato, estearato, behenato e lignocerato em sua constituição (Figura 25).

Entretanto é importante salientar que o éster metílico do miristato está em concentrações mais elevadas no óleo de semente de BI e AP, em concentração baixa no óleo de semente de PM, e concentrações muito baixas nas as demais espécies estudadas (FB, CV, LB e MO). O éster behenato metila, por sua vez, em concentração baixa no óleo de semente de CV.

Figura 25. Espectros de massas de ésteres metílicos saturados comuns às sete amostras em estudo.





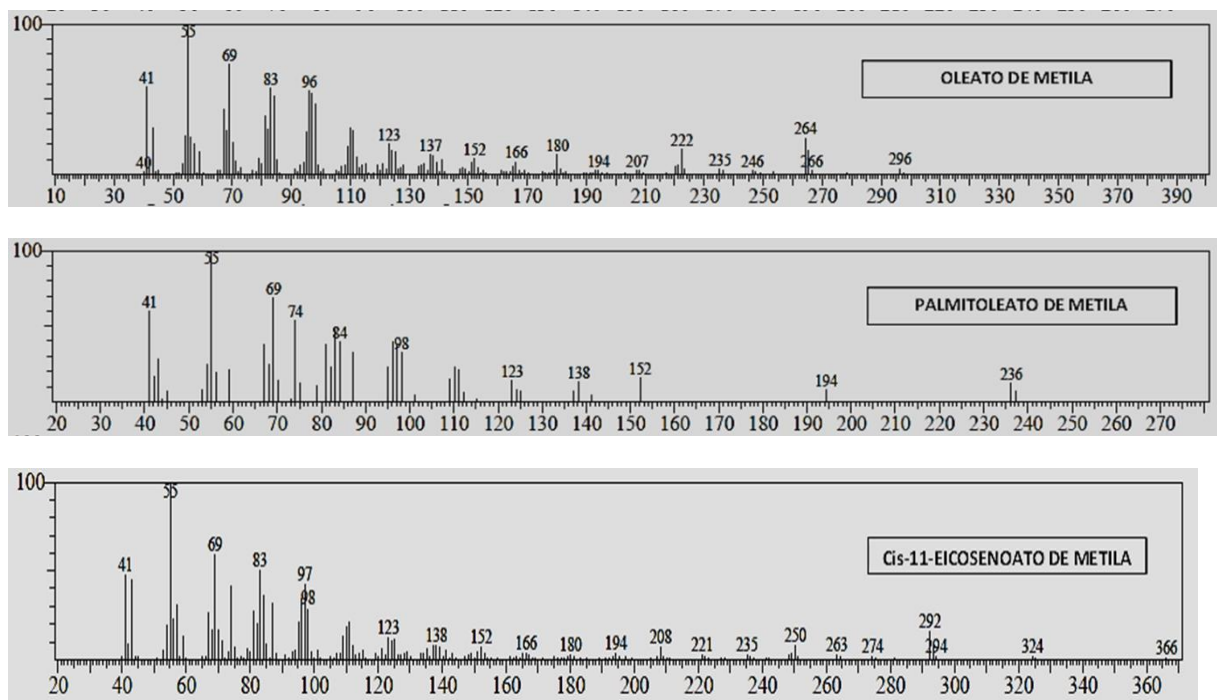
Os ésteres insaturados podem apresentar uma ou mais insaturações e podem ser caracterizados por seus respectivos espectros de massas.

Os ésteres metílicos monoinsaturados foram identificados a partir das seguintes observações nos espectros de massas: i) presença de íons formados pela perda fragmento CH_3OH ($M^+ - 32$), característico dos FAME insaturados de palmitoleato ($m/z = 236$) e oleato (C18:1c) ($m/z = 264$); ii) presença de íons acila resultantes da perda do grupo metoxila ($M^+ - 31$) que são, respectivamente, característicos dos ésteres metílicos dos ácidos graxos monoinsaturados palmitoleato ($m/z = 237$), oleato (C18:1 E) ($m/z = 265$) e o íon. E-11-eicosenoato de metila ($m/z = 293$); iii) presença dos respectivos íons moleculares $[M]^+$ palmitoleato ($m/z = 268$) e oleato (C18:1E) ($m/z = 296$); iv) presença do pico do íon $m/z = 55$, destacado como pico base de éster metílico monoinsaturado; v) presença dos picos $m/z = 69$, $m/z = 83$, $m/z = 97$.

Nos compostos monoinsaturados, a presença de uma ligação dupla C=C na cadeia diminui a estabilidade da molécula, resultado em picos menos intensos de íons moleculares, bem como do íon de relação $m/z = 74$ que caracteriza os ésteres metílicos. Assim, o pico de $m/z = 222$ confirma ser um éster metílico oleico pois por meio do rearranjo de McLafferty ocorre a perda do fragmento de massa = 74 u.m.a., gerando o sinal de $m/z = 222$ (Figura 26).

É importante ressaltar que o éster oleato de metila foi identificado através do íon molecular, pois fazendo a comparação entre os espectros de massas da amostra e os da biblioteca NIST percebe-se que o espectro de massas da biblioteca para o éster C18:1 possui o íon $m/z = 296$, o mesmo ocorrendo com o espectro de massas obtido da amostra. Não é possível confirmar qual a configuração dos compostos como *E* ou *Z* através da metodologia executada por GC-MS, mas suspeitasse que trata-se de compostos com configuração *E* que é inerente a constituição de óleos vegetais, enquanto que a forma *Z* apesar de mais estável apresenta-se raramente na natureza, sendo produzida em processos de isomerização por efeito de solvente ou temperatura (SILVERSTEIN; WEBSTER; KIEMLE, 2007; PAVIA et al., 2010).

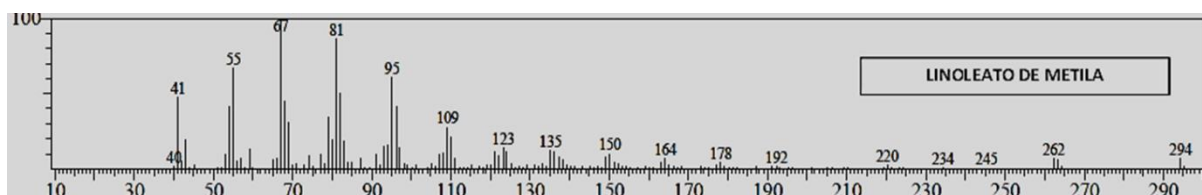
Figura 26. Espectros de massas de ésteres metílicos monoinsaturados comuns às sete amostras em estudo.



Os ésteres metílicos com duas ou mais insaturações são denominados de poli-insaturados.

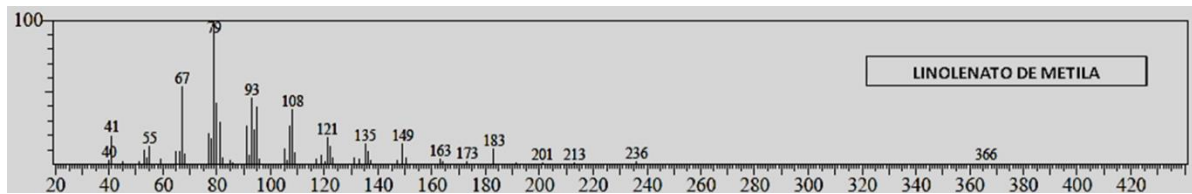
Os ésteres com duas insaturações foram confirmados com base nas observações que seguem: i) o espectro de massas que tem como pico base o fragmento de relação m/z igual a 67, que revela tratar-se de um composto com duas insaturações; ii) a presença do íon molecular pouco intenso de ($m/z = 294$), conforme o observado no espectro de massas da amostra e também da biblioteca NIST; iii) presença do íon $m/z = 263$ proveniente da perda do grupo metoxila [$M^+ - 31 = 263$] e o íon $m/z = 262$, proveniente da perda de metanol, confirmam a presença do éster metílico com dezoito carbonos e duas insaturações. Quanto às posições das insaturações nas substâncias em estudo, pressupõem-se que estejam presentes nas posições 9 e 12, tendo em vista a presença dos íons $m/z = 85$ [$M^+ - 209$] é pouquíssimo abundante ($m/z = 127$), ambos resultantes de supostas quebras de ligações C=C nas posições 9 e 12 (Figura 27). Assim, foi possível concluir que todas as amostras estudadas apresentam o éster linoleato de metila.

Figura 27. Espectro de massas de éster metílico com duas insaturações comum às sete amostras em estudo.



Um éster metílico com três insaturações, o α -linolenato de metila, foi também identificado em todas as amostras, com base nas observações que seguem: i) presença do íon $m/z = 79$ como bico base; ii) presença do íon $m/z = 292$ como íon molecular; iii) presença do íon $m/z = 236$ que denota a ligação dupla em posição 3 em relação ao carbono terminal da cadeia carbônica (ω -3); presença do íon $m/z 108$, igualmente próprio da instauração ω -3 em relação a dupla ligação no carbono terminal na posição 3. Entretanto, é importante relatar que na Bicuiba o α -linolenato de metila aparece em baixa concentração (PAVIA, et al, 2010; ECKER; SCHERER; SCHMITZ ; LIEBISCH, 2012; AOCS, 2015) (Figura 28). Então, após observação dos resultados mencionados é possível afirmar a existência do éster metílico do ácido α -linolênico (α -linolenato de metila) na composição do produto da reação de transesterificação dos óleos das sementes estudadas.

Figura 28. Espectro de massas de éster metílico com três insaturações comum às sete amostras em estudo.

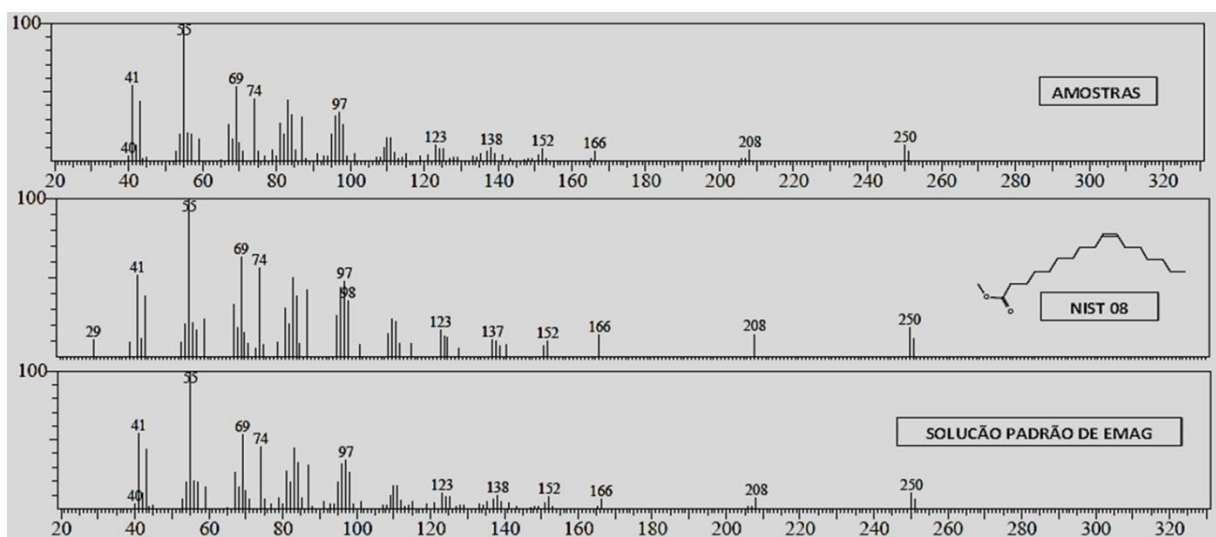


5.5.2 IDENTIFICAÇÃO DE ÉSTERES METÍLICOS NÃO COMUNS A TODAS AS SETE ESPÉCIES ESTUDADAS.

5.5.2.1 Identificação do cis-10- heptadecenoato de metila.

O espectro de massas do analito apresenta pico base de $m/z = 55$ e íons característicos de ésteres metílicos monoinsaturados $m/z = 69, 83, 97$. Por comparação entre o espectro obtido da amostra com o espectro da biblioteca NIST 08 e o espectro obtido da solução padrão de FAME 5 mg/L (Figura 29), é possível atribuir a identificação do composto E-10-heptadecenoato de metila como parte integrante das amostras derivadas de AP, CV, FB, MO e PM. A biblioteca NIST indica similaridade de 99% entre os espectros. Além dessas evidências, os espectros obtidos das amostras exibem o íon $m/z = 251$, resultante da quebra $[M^+ - 31]$, expressando a perda da metoxila, característica de éster metílico.

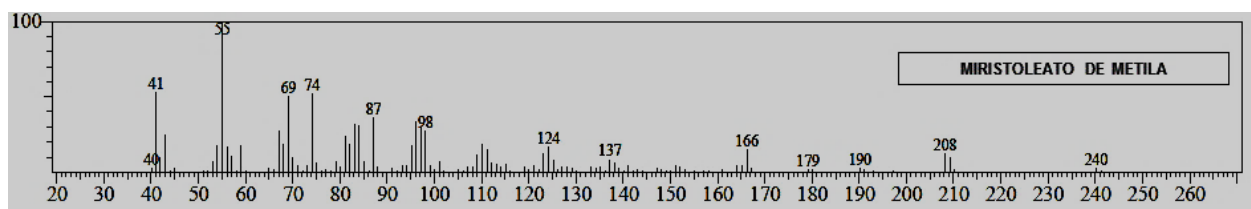
Figura 29. Espectros de massa de cis-10-heptadecenoato de metila para as amostras de AP, CV, FB, M e PM.



5.5.2.2 IDENTIFICAÇÃO DE MIRISTOLEATO DE METILA

O espectro de massas exibiu pico base de relação m/z 55, característicos de éster metílico monoinsaturado, íon molecular $[M]^+$ ($m/z = 240$) correspondente e o pico $m/z = 209$ proveniente da perda de metoxila. Estas evidências comprovam a existência de éster metílico monoinsaturado com quatorze (14) carbonos (Figura 30), confirmando a presença do éster metílico do ácido miristoleico (C14:1), o miristoleato de metila das amostras derivadas de AP, BI e PM.

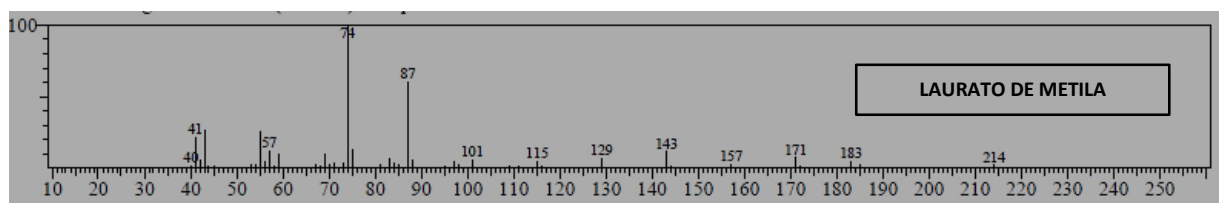
Figura 30. Espectro de massa de miristoleato de metila para as amostras de AP, BI e PM



5.5.2.3 IDENTIFICAÇÃO DE LAURATO DE METILA

O espectro de massas exibiu pico base de relação $m/z = 74$, característicos de éster metílico saturado, íon molecular $[M]^+$ ($m/z = 214$) correspondente e o pico $m/z = 183$ proveniente da perda de metoxila. Estas evidências comprovam a existência de éster metílico saturado com doze (12) carbonos (Figura 31), confirmando a presença do éster metílico do ácido miristoleico (C12:0), o laurato de metila das amostras derivadas de AP, BI, CV, FB e PM.

Figura 31. Espectro de massas de laurato de metila para as amostras de AP, BI, CV, FB e PM.



Após identificação dos ésteres metílicos constituintes de óleos de sementes das culturas em estudo, a porcentagem de cada composto foi determinada através da relação entre a área individual e área total dos picos integrados (normalização %) nos respectivos cromatogramas (Tabela 15).

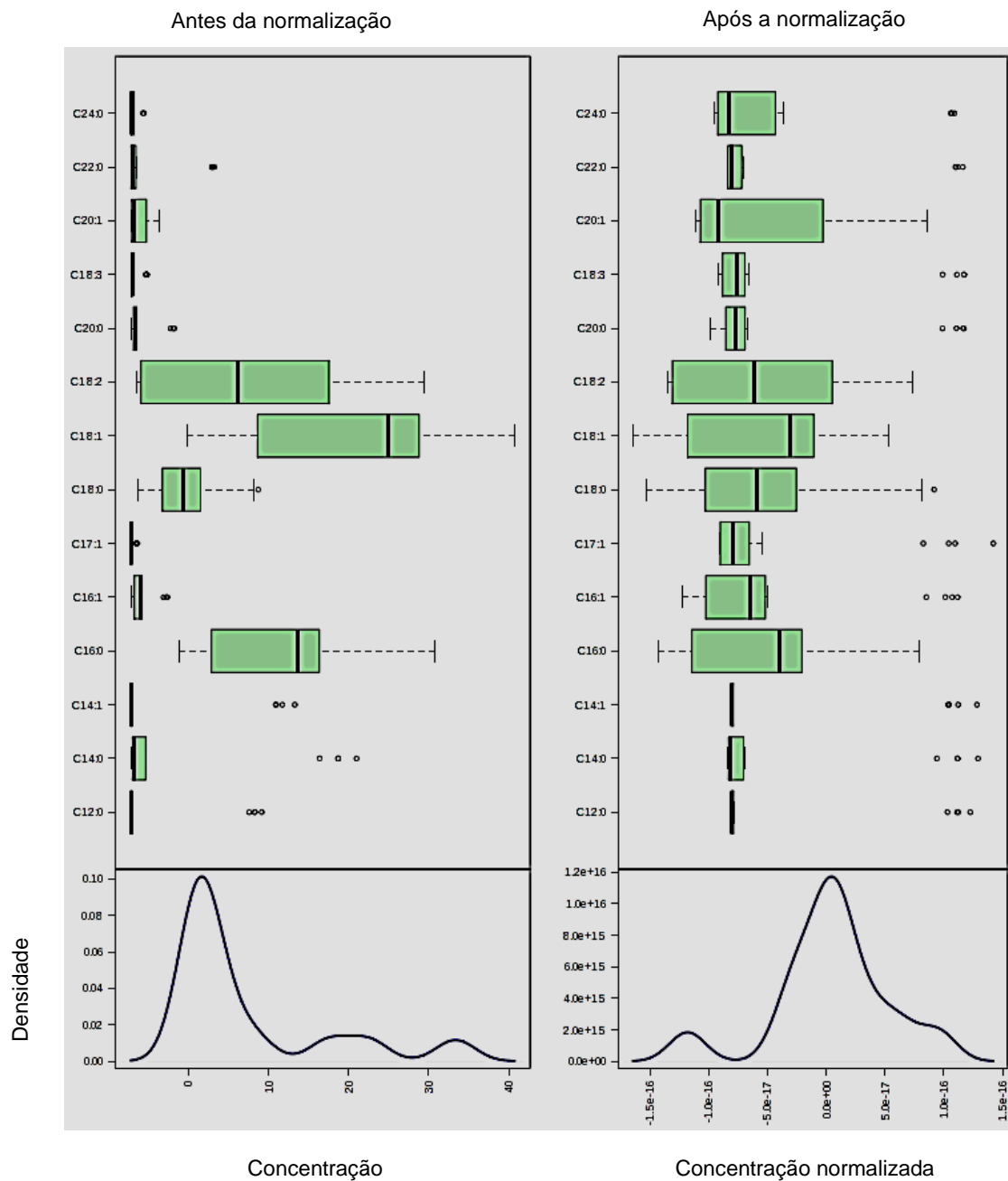
Tabela 13. Concentração relativa de ésteres metílicos.

N° de C	Nome do composto	AP %	BI %	CV %	FB %	LB %	MO %	PM %
C12:0	Laurato de metila	0,17	18,42	0,01	0,01	nd	nd	0,02
C14:0	Miristato de metila	2,27	30,72	0,38	0,42	0,87	0,13	0,23
C14:1	Miristoleato de metila	0,16	22,44	nd	nd	nd	nd	0,01
C16:0	Palmitato de metila	27,48	11,82	43,86	27,75	24,72	7,25	14,53
C16:1	Palmitoleato de metila	0,51	5,21	1,24	1,65	0,08	1,67	1,34
C17:1	(E)-10-heptadecanoato de metila	0,85	nd	0,12	0,046	nd	0,035	0,069
C18:0	Estearato de metila	4,55	1,11	7,68	7,74	18,13	8,63	10,59
C18:1c	Oleato de metila	18,25	8,73	27,38	42,06	37,93	56,20	42,85
C18:2c	Linoleato de metila	42,97	0,82	15,38	15,58	17,06	1,49	29,45
C20:0	Aracdato de metila	0,64	0,04	0,83	0,91	0,64	6,25	0,39
C18:3	α -linolenato de metila	0,11	0,09	0,17	2,33	0,30	0,23	0,34
C20:1	Gadoleato de metila	1,62	0,47	2,42	0,18	0,16	4,08	0,09
C22:0	Behenato de metila	0,24	0,038	0,39	0,80	0,06	12,15	0,037
C24:0	Lignocerato de metila	0,18	0,10	0,14	0,53	0,04	1,87	0,036

5.6 ANÁLISE CLASSIFICATÓRIA DE DADOS

Os resultados obtidos foram normalizados por autoescalamento numa matriz de dados do tipo $A_{28 \times 14}$, onde as amostras foram dispostas nas linhas e os compostos nas colunas (Figura 32).

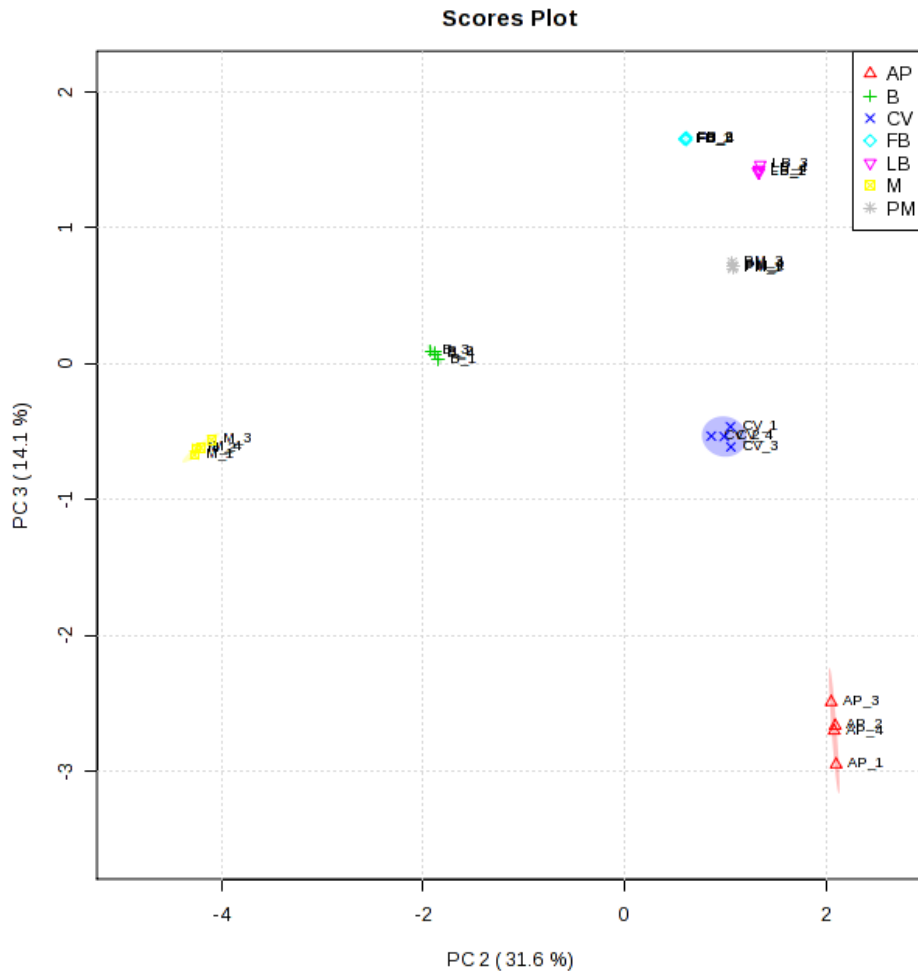
Figura 32. Resultado da normalização das concentrações de compostos.



Como o efeito do pré-tratamento obteve-se uma distribuição de dados mais próxima da normal como consequência da maior semelhança entre moda, média e mediana quando comparado aos dados antes do pré-tratamento.

Com o objetivo de visualizar tendências de agrupamentos as amostras de óleos vegetais em função dos perfis de ésteres metílicos de ácidos graxos, os dados normalizados foram submetidos à análise exploratória de Análise dos Componentes Principais (PCA), cujo os resultados são exibidos no gráfico dos escores (Figura 33) e dos *loadings* (Figura 34).

Figura 33. Gráfico dos escores.

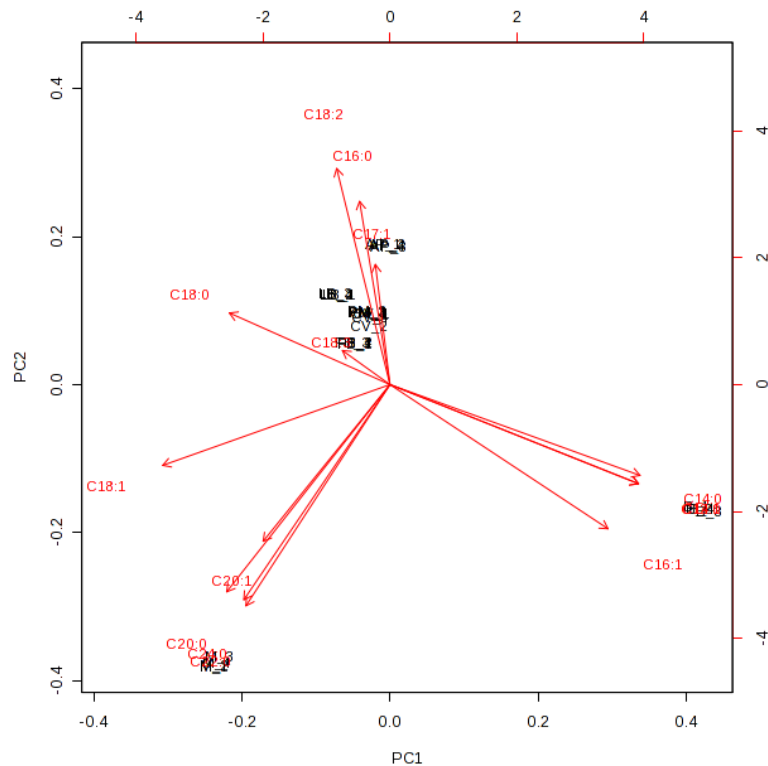


O gráfico de escores revela que PC3 representa 14,1% da variância total dos dados e que PC2 representa 31,6% da variância total dos dados correspondente a 45,7 %.

A disposição dos agrupamentos nos quadrantes mostra a tendência de discriminação das amostras segundo as propriedades dos ésteres metílicos. A PC2 tende a separar os agrupamentos dos tipos de óleos segundo o tamanho da cadeia carbônica dos ésteres metílicos. Na PC2 à direita estão localizadas as amostras com maior concentração relativa de compostos de cadeia menores e à esquerda estão localizadas as amostras com maior concentração relativa de compostos de cadeia maiores. Por outro lado, a PC3 tende a separar os agrupamentos de amostras segundo o grau de insaturações das cadeias dos ésteres.

O gráfico dos *loadings* (Figura 30), além de elucidar as observações feitas no gráfico de escores também aponta quais são as variáveis de maiores relevâncias para a discriminação dos grupos.

Figura 34. Gráfico de *loadings*.

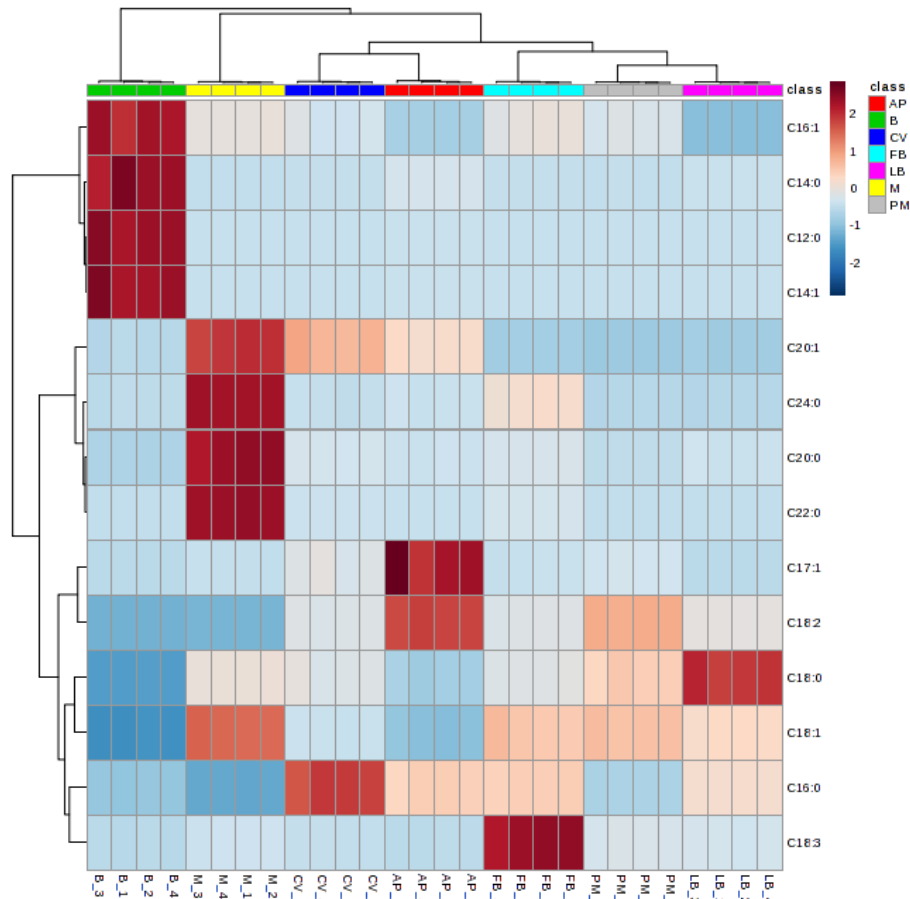


A partir das tendências vetoriais é possível observar quais constituintes discriminam os diferentes grupos. Sendo os FAME C16:1, C12:0, C14:0 para o BI; C24:0, C22:0, C20:0 para MO; C18:3 para FB; C18:0 LB; C18:0, C18:2, C18:1; C18:2 para CV e C17:1 AP o grupo da moringa por FAME. O grupo do pinhão manso (PM) apresenta semelhança com os grupos também dispostos no primeiro quadrante, o feijão de boi (FB) e o limão bravo. Contudo, a semelhança entre PM e LB que estão numa distância menor, é maior que a semelhança entre PM e FB. Já o grupo do óleo de castanha de sabão (CV), assim como o grupo do óleo de algodão de praia (AP) estão dispostos no quarto quadrante como consequência das similaridades entre si. Ao passo que o grupo da Moringa (MO) foi discriminado no terceiro quadrante e o da Bicuiba (BI) foi identificado entre o segundo e terceiro quadrantes com maior localização no segundo quadrante, caracterizando assim, grupos bem distintos.

A análise de componentes principais mostra claramente as tendências de separação dos agrupamentos de amostras bem como os principais ésteres metílicos de ácidos graxos responsáveis por essa discriminação. No entanto, PCA não mostra a similaridade entre amostras e entre agrupamentos diferentes. Com o intuito de melhor compreender o conjunto de dados quanto à similaridade entre amostras distintas, como as diferenças entre os constituintes das amostras, foi feita análise por agrupamento hierárquico (HCA) para as amostras e as variáveis que podem ser correlacionadas no gráfico tipo Heatmap. Para tal

análise foi aplicado o algoritmo de *ward* aos dados brutos (Tabela 15), gerado o dendrograma apresentado na Figura 35.

Figura 35. Análise por agrupamento hierárquico.



O dendrograma demonstra claramente os sete agrupamentos formados por cada um dos tipos de óleo vegetal. As amostras estão bem agrupadas mostrando que há similaridade entre elas o que demonstra a homogeneidade dos grupos. Os óleos da bicuiba e moringa cujos ramos apresentam maiores distâncias são muito distintos dos outros óleos em composição de ésteres. Por outro lado, castanha de sabão e algodão de praia, cujos grupos pertencem a um mesmo ramo são menos distintos entre si em composição. Da mesma forma, demonstram semelhanças entre si o limão bravo, pinhão manso e feijão de boi, embora limão bravo e pinhão manso sejam mais similares entre si. Sendo assim, além de demonstrar a homogeneidade dos grupos, o mapa de cores (*Heat map*) permitiu esclarecer os compostos que definem as características químicas e/ ou físico-química das amostras. Seus constituintes majoritários para cada grupo estão representados na Tabela 16.

Tabela 14. Constituintes majoritários dos FAME das amostras analisadas.

Amostra	Compostos / características
Algodão de praia (AP)	C 17:1
Limão bravo (LB)	C18:0
Pinhão manso (PM)	C18:2; C18:1; C18:0
Feijão de boi (FB)	C18:3, C18:1 e C16:0
Castanha de sabão (CV)	C18:2 e C17:1
Moringa (MO)	C22:0, C20:0 e C20:1
Bicuiba (BI)	C16:1, C12:0, C 14:0, C 14:1

Embora C16:0 (11,8 %) está em maior proporção que C16:1 (5,2 %) individualmente nas amostras de Bicuiba, a proporção de C16:1 é muito maior em Bicuiba do que nos outros tipos de óleo. Como consequência o palmitoleato de metila também caracteriza o grupo da bicuíba.

Mediante análises estatísticas associadas às concentrações dos compostos das amostras, juntamente com as propriedades físico-químicas determinadas nesse estudo é possível apontar aplicações potenciais para os óleos em estudo. Os resultados desse trabalho devem servir de estímulo para estudos complementares que confirmem as potenciais aplicações desses óleos.

O óleo da semente de castanha de sabão (*B. glabra*) apresenta o éster do ácido palmítico em concentração de 43,9 % o que o torna importante fonte de ácido palmítico que tem aplicação cosmética. Ele viabiliza a permeação de cosméticos na pele, como também compõem formulações utilizadas no tratamento de ferimentos (DERKSEN; CUPERUS; KOLSTER, 2007).

A semente de castanha de sabão possui em sua composição os ésteres metílicos, oleato de metila (27,4 %), linoleato de metila (15,4 %), estearato de metila (7,7 %) e o palmitato de metila com 43,9%, concentração equivalente ao teor encontrado no óleo de palma (40%). Dessa maneira o óleo da castanha de sabão, assim como o óleo da palma, pode ter os sais derivados do palmitato utilizado como matéria prima na produção de sabões, antioxidante, fabricação de tintas (SALES et al., 2008).

A espécie Bicuiba notoriamente destaca-se entre as oleaginosas estudadas como matéria-prima promissora para elaboração de cosméticos, uma vez que apresenta mais de 50% de compostos saturados e aproximadamente 80% em massa dos ésteres oriundos dos ácidos láurico (18,4%), mirístico (30,7%), miristoleico (22,4%), palmítico (11,8%) e palmitoleico (5,2%), este último empregado em cosmético de ação rejuvenescedora. A Bicuiba, por seu considerável teor de compostos saturados sugere estabilidade oxidativa,

sendo esta uma vantagem na preparação de cosméticos. Também vale destacar a bicuiba como fonte matéria-prima promissora para o preparo de formulações com atividade antimicrobiana, uma vez que apresenta sua composição concentrada em miristato de metila, assim como a noz moscada.

O óleo da semente de moringa apresenta mais de 50% de oleato de metila em sua composição o que lhe confere estabilidade oxidativa, sendo esta uma característica importante na escolha de óleos para utilizados na fritura de alimentos e produção de cosméticos. Apresenta como componentes minoritários os ésteres de palmitato, palmitoleico, esteárico, linoleico, esteárico, gadoleato, lignocerato e como compostos traços, os ésteres mirístico, pentadecanoato, heptadecanoato, confirmando a composição identificada na literatura (SILVA, 2010; RASHID, 2008; FERREIRA et al., 2008), apesar dos teores dos compostos não serem os mesmos, pois há variação nas concentrações dos constituintes de acordo com a região, solo, clima e as práticas de cultivo.

A composição de ésteres provenientes de sementes de pinhão manso, feijão de boi e limão bravo apresentam semelhanças entre si, dispõem dos mesmos constituintes, mas diferem quanto a concentração de certos constituintes que os caracterizam.

O pinhão manso apresenta como componente majoritário o oleato de metila (42,8 %), assim como o feijão de boi (42,1%) e o limão bravo (37,9%). Entretanto o éster metílico do ácido linolênico, apesar de apresentar concentração de apenas 2,3 % no óleo de semente de feijão de boi, isso o distingue, pois esta concentração quando comparada com as concentrações relativas dos óleos de sementes de pinhão manso (0,3%) e limão bravo (0,3%) é relativamente significativa. Isso pode conferir propriedades importantes ao óleo de semente de feijão de boi, uma vez que o ácido α -linolênico é utilizado em cosméticos para tratamento de acne tendo também ação lubrificante (CERMAK et al., 2013). O ácido α -linolênico tem também aplicação farmacêutica, sendo importante para o aumento de colesterol HDL e redução de colesterol LDL, reduzindo as chances de infarto quando ingerido, além de apresentar importância pelo fato de poder ser metabolizado ao ácido eicosapentaenoico (C20:5 n-3) e docosaexa-henoico (C22:6 n-3).

Os óleos de sementes de castanha de sabão (*B. glabra*) e de algodão de praia (*H. tilaceus*) são semelhantes quanto aos seus constituintes majoritários, mas diferem quanto à presença do éster do ácido miristoleico e quanto a proporção dos ésteres majoritários, a exemplo do palmitato de metila e oleato de metila que estão mais concentrados na castanha de sabão representando quase o dobro da concentração observada no algodão de praia.

O algodão de praia apresentou sua composição concentrada em palmitato de metila, importante fonte de matéria-prima para fins de preparo de sabões e detergentes e em linoleato

de metila, o seu ácido correspondente é precursor do ácido araquidônico, importante para gerar metabólitos ativos de respostas celulares a agentes invasores (LHNINGER, 2010; LEE et al., 2015).

5.7 PREDIÇÃO DE PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS

As características da mistura de ésteres metílicos de óleos vegetais estão relacionadas com sua composição. O número de carbonos e grau de instauração das moléculas afetam diretamente suas propriedades físico-químicas, a exemplo do número de cetano e índice de iodo (VERDUZCO; RODRÍGUEZ; JACOB, 2012; LÔBO; FERREIRA; CRUZ, 2009; HOEKMAN, 2012). Sendo assim, é possível chegar a uma boa estimativa do número de cetano e índice de iodo mediante o uso de equações matemáticas que expressam a correlação entre composição química e propriedades físico-químicas após identificação da composição de ésteres metílicos saturados e insaturados (PARAG, SAYALI e MILIND, 2013; RODRÍGUEZ, JACOB e VERDUZCO , 2012).

Klopfenstein (1982) descreve modelo matemático que representa a correlação entre o número de cetano de FAME a partir de sua composição de acordo com as respectivas equações 1 e 2 abaixo:

$$CN_{EMAG} = 58,1 + 2,8 \left(\frac{nC, i - 8}{2} \right) - 15,9 nDB, i \text{ (equação 1)}$$

$$CN_{BDF} = \sum_i x_i CN_{EMAG, i} \text{ (equação 2)}$$

Após aplicação do modelo apresentado foram obtidos os seguintes valores de número de cetano para a mistura de FAME das amostras, conforme resultados apresentados na Tabela 17.

Tabela 15. Número de Cetano conforme predição matemática de Klopfenstein

Amostras	Número de Cetano
	Método – Klopfenstein
<i>H. tilaceus</i>	55,94 ± 0,40
<i>V. officinalis</i>	-
<i>B. glabra</i>	62,45 ± 0,37
<i>G. flexuosa</i>	59,91 ± 0,51
<i>M. oleifera</i>	82,6 ± 0,22
<i>S. guianensis</i>	34,77 ± 0,42
<i>J. curcas</i>	56,74 ± 0,39

Kobori e Jorge (2005) consideraram que para cada 1 mol de instauração em FAME é necessário 1 mol de I_2 . Sendo assim, propuseram as equações 3 e 4 para determinação do índice de iodo:

$$I_{I_2} = \frac{254 \sum_{i=1}^n w_i \times n_{DB}}{MM_i} \text{ (equação 3)}$$

$$I_{I_2_{BDF}} = \sum_i x_i I_{I_2_{EMAG,i}} \text{ (equação 4)}$$

Onde I_{I_2} representa o índice de iodo para cada FAME, i expressa o FAME insaturado, w_i é a fração mássica em porcentagem do enésimo FAME, n_{DB} é o número de ligações duplas e MM_i é a massa molar de cada FAME. Logo, têm-se os seguintes resultados de índice de iodo para as misturas de FAME para as amostras estudadas, conforme resultados dispostos na Tabela 16.

Tabela 16. Índice de iodo de FAME conforme aplicação da expressão proposta por Kobori e Jorge

Amostra	Índice de Iodo (g I_2 /100 g)
	Método - Kobori e Jorge
Algodão de praia (<i>H. tilaceus</i>)	92,37 ± 0,03
Bicuíba (<i>V. officinalis</i>)	39,10 ± 0,02
Castanha de sabão (<i>B. glabra</i>)	55,031 ± 0,01
Feijão de boi (<i>G. flexuosa</i>)	70,98 ± 0,04
Moringa (<i>M. oleífera</i>)	56,14 ± 0,02
Limão bravo (<i>S. guianensis</i>)	221,20 ± 0,05
Pinhão manso (<i>J. curcas</i>)	89,25 ± 0,10

O óleo de semente de algodão de praia tem sua composição caracterizada por compostos insaturados o que é refletido no seu respectivo índice de iodo. O óleo de semente de limão bravo, apesar de ser diferenciado das demais culturas pela presença de C18:0 em sua constituição, o C18:1 predomina em sua composição refletindo diretamente no índice de iodo.

O óleo de semente de algodão de praia e o óleo de semente de limão bravo foram os apresentaram os maiores índices de iodo, destacando-se como facilmente susceptíveis à oxidação. O óleo de semente de castanha de sabão, apesar de ser caracterizado por C18:2 (15,4%) e C17:1 (0,1%) apresenta maior concentração de C16:0 (43,9%), sendo este o fator predominante sobre o índice de iodo. O óleo de semente de bicuíba tem sua composição

caracterizada e concentrada em compostos saturados, tornando-a dentre os óleos de sementes analisadas fonte promissora de cosméticos antioxidantes dentre outras aplicações.

Além da possibilidade de aplicação na área de cosméticos, os óleos de oleaginosas podem também ser empregados na produção de combustíveis para fins automotivos.

Conforme os resultados obtidos para o número de cetano (Tabela 17) nota-se que utilizando o modelo de Klopfenstein as FAME das oleaginosas atendem os requisitos das Normas Regulamentadoras para biodiesel EN 14214 e ASTM D6751 que recomendam mínimo de 51 e 47, respectivamente para número de cetano, exceto Limão Bravo que apresentou 34,77.

Segundo Kouame (2011) e Dabdoubé, Bronzel e Rampin (2009) o número de cetano são de 61,4 a 75,5 para pinhão manso. Entretanto, neste trabalho foi obtido o valor de 56,7 como número de cetano, o que está dentro da faixa recomendada pelos órgãos reguladores. Tais variações podem ser justificadas pela composição dos óleos das sementes que dependem das condições do solo, clima e genética da planta, além das condições analíticas de determinação que foram diferentes das condições utilizadas para o trabalho em questão (WANG et al., 2011). Já, quando os resultados encontrados de número de cetano para pinhão manso foram comparados com o valor disposto para a mesma semente coletada em outras condições, mas utilizando predição por modelagem (56,7 segundo Giakoumis, 2013 e 52,3 segundo Tong, Hu, Jiang e Li, 2010) tem-se valores comparáveis, refletindo a confiança dos dados do estudo proposto. Também para *M. oleifera* observa-se variações do número de cetano obtido = 82,6 quando comparado com dados da literatura aberta (67,1 de acordo com Rashid, 2009) em virtude das composições da amostra e condições de análises.

A ANP e a ASTM não estabelecem valores de referência para o índice de iodo, no entanto a Norma Europeia EN 14214 estabelece 120 g I₂/100 g como limite máximo. Dessa forma, de acordo com os resultados apresentados na Tabela 17 as amostras em estudo atendem os requisitos recomendados para índice de iodo, exceto Limão Bravo.

As normas ANP, ASTM e EN para biodiesel consideram além dos parâmetros analisados, outras propriedades físico-químicas como ponto de entupimento e ponto de fulgor para qualificar a capacidade de ésteres metílicos para utilização como biodiesel.

Sendo assim, mediante análise dos requisitos avaliados é possível confirmar que moringa e pinhão manso são fontes de biodiesel e que algodão de praia, bicuíba, castanha de sabão e feijão de boi para o critério índice de cetano são possíveis fontes potenciais de matéria-prima para a diversificação da matriz energética, enquanto que os EMs de limão bravo não apresentam as características apropriadas para aplicação em biodiesel. Dessa maneira, considerando o número de cetano como parâmetro para fins em biocombustível, seria

necessário realizar a mistura de EMs de limão bravo, assim como para algodão da praia que apesar de apresentar número de cetano (55,5) de acordo com o recomendável para a norma apropriada, o valor do número de cetano está praticamente no limite inferior de aceitação, logo realizar misturar os EMs de algodão da praia a outra fonte energética seria uma alternativa para adequar a propriedade número de cetano para aplicação em biocombustível.

Comparando os resultados de índice de iodo com o número de cetano para cada amostra, nota-se certa correlação, onde para menores índices de iodo tem-se maiores números de cetano e para maiores índices de iodo tem-se menores números de cetano. Estas tendências podem ser atribuídas ao grau de insaturações nas cadeias carbônicas dos ésteres metílicos que compõem as misturas de FAME, pois quanto menor o número de ligações duplas nos compostos, menor é a susceptibilidade à oxidação e maior é a capacidade de autoignição, enquanto que quanto maior o número de duplas ligações nos compostos menor estabilidade oxidativa da amostra e maior é a possibilidade de baixa capacidade de autoignição da amostra. Logo, por essas razões o limão bravo apresenta menor estabilidade oxidativa e menor poder de entrar em ignição, e a bicuíba apresenta maior estabilidade oxidativa e maior poder de entrar em autoignição, segundo os modelos aplicados. Vale destacar que a correlação entre índice de iodo e número de cetano é limitada, pois o número de cetano é influenciado também por impurezas e tamanho da cadeia carbônica dos EM (LAPUERTA, FERNÁNDEZ e MORA, 2009).

Para a Bicuiba oleífera não foi possível avaliar o número de cetano, pois não há um modelo matemático que correlacione de maneira adequadamente a sua composição com as propriedades citadas, mas analisando a relação EMI/ EMS que há em sua composição é possível que esta seja imprópria para o uso de biodiesel, uma vez que o teor de compostos monoinsaturados é elevado.

6.0 CONCLUSÕES

Foi determinado o teor de óleo das sementes das plantas estudadas que apresentaram porcentagem em massa que variaram de 25,1% (algodão da praia) a 58,6% (castanha de sabão).

Foram determinadas as propriedades físico-químicas dos óleos das sementes de plantas oleaginosas através das determinações de umidade, índice de acidez e índice de peróxido.

Através cromatografia gasosa acoplada com a espectrometria de massas (GC-MS), foram identificados os ésteres metílicos de ácidos graxos das sementes das plantas de algodão de praia (*H. tilaceus*), bicuiba (*V. officinalis*), castanha de sabão (*B. glabra*), feijão de boi (*G. flexuosa*), limão bravo (*S. guianensis*), moringa (*M. oleífera*) e pinhão manso (*J. curcas*) coletadas no estado da Bahia.

Foram identificados os principais ácidos graxos constituintes das amostras estudadas, sendo esses os ácidos mirístico (C14:0), palmítico (C16:0), esteárico (C18:0) araquídico (C20:0), lignocérico (C24:0), palmitoleico (C16:1), cis-10-heptadecanoic (C17:1), ácido oleico (C18:1), Ácido linoleico (C18:2), Ácido α -linolênico (C18:3) e o ácido gadoleico – (C20:1)

Através da análise exploratória foi possível identificar os ésteres metílicos de ácidos graxos C17:1 (Algodão de praia); C12:0, C14:0 e C16:1 (Bicuiba); C18:0; C18:0 e C18:2 (Castanha de sabão); C18:3 (Feijão de boi); C18:0 (Limão bravo); C22:0, C20:0 e C24:0 (Moringa); C18:2; C18:1; C18:0 (Pinhão manso) como os constituintes que caracterizam as sementes das plantas oleaginosas estudadas

Foi possível correlacionar a composição dos ésteres metílicos de ácidos graxos obtidos de óleos vegetais com suas propriedades físico-químicas através do cálculo do índice de iodo e número de cetano.

Os resultados encontrados forneceram subsídios para aplicações dos óleos estudados nas áreas de fármacos, cosméticos, alimentos e combustíveis renováveis (biodiesel).

7.0 PERSPECTIVAS PARA TRABALHOS FUTUROS

Comparar a prospecção realizada nos óleos e ésteres metílicos das sementes de Algodão de Praia (*H. tillaceus*), Moringa (*M. oleífera*), Feijão de Boi (*G. flexuosa*), Pinhão Manso (*J. curcas*), Limão Bravo (*S. guianensis*), Castanha de Sabão (*B. glabra*) e Bicuiba (*V. officinalis*) com testes analíticos físico-químicos (número de cetano, índice de iodo, índice de peróxido, acidez ponto de fulgor), farmacológicos (atividade bactericida, bacteriostática, toxicológico, antioxidante) e análise centesimal completa.

Produzir um modelo classificatório com os ésteres metílicos oriundos das sementes Algodão de Praia, Moringa, Feijão de Boi, Pinhão Manso, Limão Bravo, Castanha de Sabão através de ferramentas quimiométricas com o intuito de apontar as potencialidades de outras culturas oleaginosas não investigadas.

8.0 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDULKARIM, S. M. *Some physico-chemical properties of Moringa oleifera seed*. **Food Chemistry**, Kuala Lumpur, n. 93, p. 253, 2005.

AGILENT TECHNOLOGIES. **Column selection for the analysis of fatty acid methyl esters**. Kortrijk: Food analysis, 2005.

ALMEIDA, K. C. L.; BOAVENTURA, G. T.; GUZMAN-SILVA, M. A. A linhaça (*Linum usitatissimum*) como fonte de ácido α -linolênico na formação da bainha de mielina. **Nutrição**, Campinas, v. 22, n.5, p.744 - 754, 2009.

AMORIN, I. L.; SAMPAIO, E. V. B.; ARAÚJO, E. L. FENOLOGIA DE ESPÉCIES LENHOSAS DA CAATINGA DO SERIDÓ, RN1. **Árvore**, Viçosa, v. 33, n.3, p.491-499, 2009.

AMERICAN OIL CHEMISTS' SOCIETY. *Official methods and recommended practices of the American Oil Chemists' Society*. 4th. ed. Champaign, USA, AOCS, 1990. [AOCS Official method Ca 2c-25].

AMERICAN OIL CHEMISTS' SOCIETY. *Official methods and recommended practices of the American Oil Chemists' Society*. 4th. ed. Champaign, USA, AOCS, 1990. [AOCS Official method Cd 3-d-53].

AMERICAN OIL CHEMISTS' SOCIETY. *Official methods and recommended practices of the American Oil Chemists' Society*. 4th. ed. Champaign, USA, AOCS, 1990. [AOCS Official method Cd 8-53].

ANDERSEN, O.; WEINBACH, J. E. *Residual animal fat and fish for biodiesel production. Potentials in Norway*. **biomass and bioenergy**. Norway, v. 34, n.8, p.1183 -1188, 2010.

ANTUNES, A. M. S. *Química verde no Brasil: 2010-2030 - Centro de Gestão e Estudos Estratégicos*. rev. e atual. - Brasília, DF., 2010. **Applied Energy**, v. 88, n.2, p. 3473–3480, 2011.

AOCS. *MASS SPECTRA OF METHYL ESTERS OF FATTY ACIDS*. *The AOCS Lipid Library*. Disponível em: < <http://lipidlibrary.aocs.org/OilsFats/> > Acesso em: 01 julho 2015.

BAROUTIAN, S.; SHAHBAZ, K.; MJALLI, F. S.; HASHIM, M. A.; ALNASHEF I. M. *Densities and viscosities of binary blends of methyl esters + ethyl esters and ternary blends of methyl esters + ethyl esters + diesel fuel from T = (293,15 to 358,15) K*. *J. chemical. Engin.*, 2012.

BERLIOZ, B.; CORDELLA, C.; CAVALLI, J. F.; LIZZANI-CUVELIER, L.; LOISEAU, A. M.; FERNANDEZ, X. Comparison of the amounts of volatile compounds in French protected designation of origin virgin olive oils. **Jornal Agric Food Chemical**.v. 54, n. 26, p.10092-10101,2006.

BOBBIO, F. O.; BOBBIO, P. A. **Introdução à química de alimentos**. 3.ed. São Paulo: Varela, 2003.

BRASIL. Agência Nacional de Petróleo, Gás e Biocombustíveis – ANP. Biocombustíveis. Brasília.Disponível em: <<http://www.anp.gov.br/>>Acesso em: 23 de abril, 2015.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. Resolução n. 270, de 22 de setembro de 2005. Regulamento técnico para óleos vegetais, gorduras vegetais e creme vegetal. Diário Oficial da União, Brasília, 2005.

BRASIL. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA. Oleaginosas Potenciais do Nordeste para a Produção de Biodiesel. Campina Grande, 2007.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - MAPA. Regra para análise de sementes. Brasília, 2009.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Oleaginosas e seus óleos: Vantagens e desvantagens para produção de biodiesel: Documento 201, Campina Grande, 2008

BURTIS, C. A.; ASHWOOD, E. R; BRUNS, D. E. **Tietz, fundamentos de química clínica**. Tradução Alexandre Vianna Aldighieri Soares. et al. Rio de Janeiro: Elsevier, 2008.

CARLSSON, A. S. *Plant oils as feedstock alternatives to petroleum – A short survey of potential oil crop platforms*. **Biochimie**, Alnarp , v. 91, n.16, p. 665 – 670, 2009.

CASTRO, M. D. L.; CAPOTE, F. P. *Soxhlet extraction: Past and present panacea*. **Journal of Chromatography A**. Córdoba, v. 1217, n.16, p. 1233-1234, 2010.

CERIANI,R.; GONÇALVES,C. B.; RABELO, J.; CARUSO, M.; CUNHA, A. C.C.; CAVALERI, F.W.; BATISTA, E. A. C.; MEIRELES, A. J. A. Group Contribution Model for Predicting Viscosity os Fatty Compounds. **Jornal chemical**, v.52, n.3, p. 965 - 972, 2007.

CERMAK, S. C.; BIRESAW, G.; ISBELL, T. A.; ENVANGELISTA, R. L.; STEVEN, F. V.; MURAY, R. *New crop oil - Properties as potential lubricants*. **International Journal Industrial crops and Products**, Peorta, v 44, p. 232-239, 2013.

CHAVES, H. M.; ARAUJO, F. D. S.; MOURA, C. V. R.; TOZETTO, L. J.; PIMENTEL, A. S.; CARUSO, M. F. S. *Chemical Characterization and Stability of the Bombacopsis glabra Nut Oil*. **Food and Public Health**, Terezina, v. 2, n. 4, p. 104 - 109, 2012.

CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION - FAO/WHO. *Codex Alimentarius. Fats, oils and related products*. 2 ed. Roma: Secretariat of the Joint FAO/WHO Food Standards Programme, v. 8, 2008.

CORTEZ, L. A. B.; LORA, E. S.; GOMEZ, E. O. *Biomassa no Brasil e no mundo*. In: *Biomassa para energia*. [S. l.: s. n.] Campinas: Unicamp, 2008.

CRUZ, S.E.S.B.S.; BEELEN, P. M. G.; SILVA, D. S.; PEREIRA, W. E.; BEELEN, R.; BELTRÃO, F. S. *Caracterização dos taninos condensados das espécies maniçoba (Manihot pseudoglazovii), flor-de-seda (Calotropis procera), feijão-bravo (Capparis flexuosa, L) e jureminha (Desmanthus virgatus)*. **Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária e Zootecnia**, Alagoas v.59, n.4, p.1038 - 1044, 2007 .

DABDOUB, M. J.; BRONZEL, J. L.; RAMPIN, M. A. *Biodiesel: visão crítica do status atual na academia e na industria*. **Química Nova**, São Paulo, vol. 32, n. 3, p. 786 - 792, 2009.

DEMIRBAS, A. *Comparison of transesterification methods for production of biodiesel from vegetable oils e fats*. **Energy Conversion and Management**. Trabzon, v. 49, n. 1., p. 125 - 130, 2008.

DERKSEN, J. T. P.; CUPERUS, F. P.; KOLSTER, P. *Paints and coatings from renewable resources*. **International Journal Industrial Crops and Products**. Netherlands, v. 3, p. 225, 226. may. 2007.

DOLINSKY, M. *Nutrição Funcional*. [S. l.:s.n.] São Paulo: Roca, 2009.

DOODS, E. D. et al. *Gas Chromatographic Quantification of Fatty Acid: Lipids*. **Library Medicine National**, Alask, v. 40, n. 4, p. 419 - 427, 2005.

EMBRAPA. **Sistema de produção da mamona**. Disponível em : <https://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br>>. Acesso em: fevereiro, 2016

ESBENSEN, K.H. *Multivariate Data Analysis in Practice: An Introduction to Multivariate Data Analysis and Experimental Designing*. Camo Process AS: Norway, 1994.

FACUNDO, V. A.; AZEVEDO, M. S.; RODRIGUES, R. V.; NASCIMENTO, L. F.; MILITÃO, J. S. L. T.; SILVA, G. V. J.; FILHO, R. B. *Chemical constituents from three medicinal plants: Piper renitens, Siparuna guianensis and Alternanthera brasiliana*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. Rondônia, v. 22, n. 5, p. 1134-1139, 2012.

FENNEMA, O. R. Q. D. L. A. **Química de los alimentos**. 2. ed. Acríbia: Zaragoza, 2000.

FERREIRA, P. M. P.; FARIAS, F. D.; OLIVEIRA, J. T. A.; CARVALHO, A. F. U. *Moringa oleifera: bioactive compounds and nutritional potential*. **Revista Nutrição**, Campinas, v. 21, n. 4, p.431-437, 2008.

FERREIRA, M, A.; SOUZA, B. M. V.;RIGOTTI, A. M.; LOUREIRO, M. R. D. Utilização dos ácidos graxos no tratamento de feridas: uma revisão integrativa da literatura nacional. **Enfermagem USP**, São Paulo, v. 46, n. 3, p. 752 - 760, 2011.

FILHO, A. B. M.; VASCONCELOS, M. A. S. *Química de Alimentos*. [S. l.: s. n.], Recife: Tec-Brasil,2011.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION (FAO). **Jatropha cultivation. In: Jatropha: A Smallholder Bioenergy Crop - The Potential for Pro-Poor Development**. USA: JLIFAD, v. 8, 2010.

GEXSI. Global Market Study on Jatropha. **Final Report**, London/Berlin, n. Prepared for the World Wide Fund for Nature (WWF), p. 12,14, May, 8.th, 2008.

GIAKOUMES, E. G. *A statistical investigation of biodiesel physical and chemical properties, and their correlation with the degree of unsaturation*. **Renewable Energy**, Athens, v.50 [S. l.], p. 858 - 878, 2013.

GIOIELLE, L. A. *Misturas Binárias e Ternárias de Gorduras Hidrogenadas na Formulação de Margarinas*. 1996. 295 f. Tese (Doutorado em Concurso de Livre Docência) Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1996.

GUTNIKOV, G. Fatty acid profiles of lipid samples. **Journal of Chromatography B**. California, v. 671, n. 1, p. 71-89, 1995.

HARTMAN, L.; LAGO, R. **Análise de Óleos e Gorduras**. EMBRAPA / CTAA, Brasil, 4-7, 1996.

HIDALGO, F. J.; ZAMORA, R. *Edible oil analysis by high-resolution nuclear magnetic resonance spectroscopy: recent advances and future perspectives*. **Trends in Food Science & Technology**. Sevilla, v. 14, n. 12, p. 499-506, 2003.

HOEKMAN, K. S.; BROCH, A.; ROBBINS, C.; CENICEROS, E.; NATARAJAN, M. *Review of biodiesel composition, properties, and specifications*. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 16, n. 1, p. 143-169, 2012.

HOFFMANN, G.; TAYLOR, S. L. **The chemistry and technology of edible oils and fats and their high fat products**. London: Academic Press, 1989.

INDU, M. N., HATHA, A. A. M.; ABIROSH, C.; HARSHA, U.; VIVEKANANDAN, G. *Antimicrobial activity of some of the south-indian spices against serotypes of escherichia coli, salmonella, listeria monocytogenes and aeromonashydrophila*. *Islandia*, **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 37, n. 2, p. 153-158, 2006.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ (IAL). Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz: **Métodos Químicos e Físicos para Análise de Alimentos**, 3. ed, v.1, Sao Paulo: IMESP, 1985.

JOSEPH, J. D.; ACKMAN, R. G. *Capillary column gas-chromatographic method for analysis of encapsulated fish oils and fish oil ethyl-esters—collaborative study*. **Journal of Aoac International**, v.75, n. 3, p. 488–506, 1992.

KIBAZOHI, O.; SANGWAN, R. S. *Vegetable oil production potential from *Jatropha curcas*, *Croton megalocarpus*, *Aleurites moluccana*, *Moringa oleifera* and *Pachira glabra*: Assessment of renewable energy resources for bio-energy production in Africa*. **Biomass and Bioenergy**. Tazania, v. 35, n. 3, p. 1352 - 1356, 2011.

KLOPFENSTEIN, W. E. *Estimation of Cetane Index for Esters of Fatty Acids*. **Jornal American Oil Chemical Society**. Kansas, v.59, n. 12, p. 531- 533, 1982.

KOBORI, C. N.; JORGE, N. Caracterização dos óleos de algumas sementes de frutas como aproveitamento de resíduos industriais. **Ciência e Agrotecnologia**. Lavra, v. 29, n. 5, p. 1008-1014, 2005.

KONG, X.; LIU, G.; QI, H.; CURSTIS, J. M. *Preparation and characterization of high-solid polyurethane coating systems based on vegetable oil derived polyols*. **Progress in Organic Coatings**. Alberta, v. 76 , n. 9, p. 1151-1160, 2013.

KOUAME, S. D. B. *Comparative characterization of Jatropha, soybean and commercial biodiesel.* **Journal of Fuel Chemistry and Technology**. Pensilvania, v 39, n. 4, p. 258-269 ,2011.

LAAKSO, T. S. ; LAAKSO, I.; HILTUNEN, R. *Analysis of fatty acid by gas chromatography, and its relevance to research on health and nutrition.* **Analytica Chimica Acta**, Helsinki, v. 465, n. 1, p. 50 - 62, 2002.

LANÇAS, F. M. **Validação de métodos cromatográficos de análise**. 1 ed., RiMa Editora: São Carlos, 2004.

LAPUERTA, M.; FERNANDEZ, J.; MORA, E. F. *Correlation for the estimation of the cetane number of biodiesel fuels and implications on the iodine number.* **Energy Policy**, Barcelona, v. 37, [s. n.], p. 4337–4344 ,2009

LATHA, M.H.S.; SATHISH, K. *Fatty Acid Profile of Unconventional Oilseeds.* **Advances in Food and Nutrition Research**, v. 67, n.1, p. 141-184, 2012.

LEE, M. D.; KATHLEEN, M. ; PHAR.; SENDIA, K.; DANIELLE, A. A.; BRUCE, R. B.; MARK, P. *Current Clinical Applications of ω -6 and ω -3 Fatty Acids.* **American Society** Massachusetts, v. 21, n. 4. p. 323 - 341, 2006.

LEHNINGER, A. L.; NELSON, D. L.; COX, M. M. **Principios de Bioquímica**. New York: Sarvier, 2008.

LISA, M.; HOLCAPEK, H. M. *Triacylglycerols profiling in plant oils important in food industry, dietetics and cosmetics using high-performance liquid chromatography–atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry.* **Journal of Chromatography A**. Pardubive, v. 30, n.15, p. 115-113,2008.

Li, C.; Yao, Y.; Zhao, G.; Cheng, W.; Liu, H.; Liu, C.; Shi, Z.; Chen, Y.; Wang, S. *Comparison and analysis of fatty acids, sterols, and tocopherols in eight vegetable oils.* **Jornal Agricutury Food Chemical**. Tianjin. v. 59, n. 1, p. 12493-12498, 2011.

LIU, X.; LU, Y.; XUE, Y.; ZHANG, X. *Testing the importance of native plants in facilitation the restoration.* **Forest Ecology and Management**, Beijing, v. 322, n.15, p. 19-25, 2014.

LÔBO, I.P.; FERREIRA, S. L. C; CRUZ, R. S. Biodiesel: parâmetros de qualidade e métodos analíticos. *Quimica Nova*, São Paulo, v. 32, n. 6, p. 1596 -1608, 2009.

LORENZI, H. **Árvores Brasileira - Manual de Plantação e Cultivo de Plantas Arbóreas Nativas do Brasil**. 6. ed. São Paulo: Plantarum, 2014.

MAGANHA, E. G.; HALMENSCHLAGER, R. C.; ROSA, R. M.; HENRIQUES, J. A. PEGAS.; RAMOS, L. L. P.; SAFFI, J. *Pharmacological evidences for the extracts and secondary metabolites from plants of the genus Hibiscus*. **Food Chemistry**. Canoas ,v.118, n. 1, p.1-10 ,2010.

MALACRIDA, C. R. **Caracterização de óleos extraídos de sementes de frutas: caracterização de ácidos graxos, tocoferóis e carotenoids**. *Revista do Instituto Adolf Lutz*, São Paulo, v. 69, n.1, p. 142 - 144, 2010.

MILLER, J.N.; MILLER, J.C. **Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry**. 6.th Essex: Prentice Hall, 2006.

MONFIJUR, M., MASJUKI, H.H.; KALAM, M. A.; ATABANI, A.E.; RIZWANUL, F. I.M., MOBARAK, H.M. *Comparative evaluation of performance and emission characteristics of Moringa oleifera and Palm oil based biodiesel in a diesel engine*. **International Journal Industrial Croups Products**. Malasia, v. 53,[S. l.: s. n] , p. 78 - 84 , 2014.

MORTON, J. F. *The horse-radish tree, Moringa pterygosperma (MORINGACEAE)- A Boon to Arid Lands?* **ECONOMIC BOTANY**, Florida, v. 45, n. 3, p. 318 - 333, 1991.

NELSON, D. L.; COX, M. M. In: _____ **Princípios de Bioquímica de Lehninger**. 6ª. ed. [S.l.]: Artmed, 2014.

NETO, J. X.; ANDRADE, A. P.; LACERDA, A. V.;FÉLIX, L. P.;SILVA, D. S.Crescimento e bromatologia do feijão-bravo (*Capparis flexuosa* L.) em área de Caatinga no Curimataú paraibano.**Revista Ciência Agronômica**, Paraiba, v.42, n.2, p. 488-494, 2011.

OETTEERER, M.; ARCE, M. A. B. R.; SPOTO, M. H. Fundamentos de ciência e tecnologia de alimentos.[S. l.], Barueri: Manole, 2006.

PARAG, S.; SAYALI , J.; MILIND, H. J. *A review on prediction of properties of biodiesel and blends of biodiesel*. **Procedia Engineering**, v. 51, p.[s.n.] 395-402, 2013.

PAULA, V. F.; CRUZ, M. P.; BARBOSA, L. C. CONSTITUINTES QUÍMICOS DE *Bombacopsis glabra* (BOMBACACEAE). **Química Nova**, Jequié, v. 29, n. 2, p. 213 - 215, 2006.

PAVIA, D. L. et al. **Introdução à Espectroscopia**. 4ª. ed, São Paulo: CENGAGE Learning, 2010.

PESCE, C. Myristicaceae. In: PESCE, C. **Oleaginosas da Amazônia**. 2. ed. Belém: Museu Paraense Emílio Goeldi, Núcleo de Estudos Agrários e Desenvolvimento Rural, p. 175-181, 2009.

PICÓ, Y. **Análise Química de Alimentos**. 1ª. ed, São Paulo :Elsevier, 2010.

PINTO, A. C. ; GUARIEIRO, L. L. N. ; REZENDE, M. J. C.; RIBEIRO, N. M.; TORRES, E. A.; LOPES, W. A.; PEREIRA, P. A. P.; ANDRADE, J. B. *Biodiesel: an overview*. **Journal of Brazilian Chemical Society**, São Paulo, v. 16, n. 6, p. 1313 - 1330, 2005.

RAMALHO, V. C.; JORGE, N. Antioxidantes utilizados em óleos, gorduras e alimentos gordurosos. **Química Nova**. São Jose do Rio Preto, v.10, n.2, p.240-245, 2005.

RAMOS, L. *Critical overview of selected contemporary sample preparation techniques*. **Journal of Chromatography A**, Madri, v. 1221, [s.n.] p. 84 - 98, 2012.

RASHID, U.; ANWAR, F.; MOSER, B. R.; KNOTHE, G. *Moringa oleifera oil: A possible source of biodiesel*. **Bioresource Technology**, Faisalabad, v. 99. n. 17, p. 8175 - 8179, 2008.

REDA, S. Y. ; CARNEIRO, P. B. Óleos e Gorduras: aplicações e implicações. **Revista Analytica**, Paraná, [S. I], n. 27, p. 60-67, 2007.

RENNER, S.S.; HAUSNER, G. Monograph of Siparunaceae: Flora Neotropica, 256f, New York: New York, Botanical Garden, 2005.

Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, XXXVIII, 2005, Piracicaba, Estudo morfofisiológico do feijão-bravo (*Capparis flexuosa*, L.) no cariri paraibano, Paraíba ,2005.

RICO, J. A. P.; SAUER, I. L. *A review of Brazilian biodiesel experiences*. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**. São Paulo, v. 45, n. 2, p. 513 - 529, 2015.

ROCHA, J. F.; NEVES, L. J. Anatomia Foliar de *Hibiscus tiliaceus* L. e *Hibiscus pernambucensis* Arruda (Malvaceae)*. -----Rio de Janeiro, 2000.

RODRÍGUEZ, J. E.; JACOB, A. R.; VERDUZCO , L. F. *Predicting cetane number, kinematic viscosity, density and higher heating value*. **Fuel**. México,v. 91, n. 1, p. 102-1111, 2012.

SALES, A. L. C.; RAMOS, L. A.; NUNES, R. S.; NETO, S. C.; CAVALHEIRO, É. T. G. SÍNTESE, caracterização e análise térmica de sais de lítio, sódio e potássio do ácido palmítico e do seu éster etílico. **Química Nova**. São Carlos,v. 31, n. 7,p. 1722 - 1726, 2008.

SANTOS, D. S.; SILVA, I. G.; ARAÚJO, B. Q.; LOPES JÚNIOR, C. A.; MONÇÃO, N.B.N.; CITÓ, A.M.G.L.; de SOUZA, M.H.S.L.; NASCIMENTO, M.D.S.B.; COSTA, M.C.P. *Extraction and evaluation of fatty acid composition of Orbignya phalerata Martius Oils (Arecaceae) from Jornal Braziliam Chemical Society*, Maranhão, v. 24, n. 2, p. 355-362, **2013**.

SANTOS, H. F.; COURA, P. Z.; DANTAS, S.O.; BARONE, P. M. V. B. **Escola Brasileira de Estrutura Eletrônica**. [S. I], Juiz de fora: Física, 2002.

SCALA, L.; WOOL, R.P. *Property analysis of triglyceride-based.Thermosets Polymer*. **Researchgate**, Delaware, v. 46, n.1, p. 61–69, 2005.

SILVA, F. H. *Morfologia Polínica de Hibiscus Pernambucensis arruda e HibiscusTiliaceus L. (MALVACEAE)*. **Acta Biologica Leopoldensia**, Feira de Santana, v. 26, n. , p. 204 - 208, 2004.

SILVA, M. A. Análise de trilha para caracteres morfológicos do feijão-bravo (*Capparis flexuosa*) no cariri paraibano. **Aquivos de Zootecnia**, Pernambuco, v. 58, n.1, p. 121 - 126, 2009.

SILVA, J. P. V.; SERRA, T. M.; GOSSMANN, M.; WOLF, C. R.; MANEGHTTI, M.R.; MANEGHTTI, S.M.P *Moringa oleifera oil: Studies of characterization and biodiesel production*. **Biomass e Bioenergy**, Alagoas, v. 34, n. 10 p. 1527 - 1530, 2010.

SILVERRSTEIN, R. M.; WEBSTER, F. X.; KIEMLE, D. J. **Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos**. 7. ed, Rio de Janeiro: LTC, 2007.

SOLOMONS, G. T. W.; FRYHLE, C. B. Química Orgânica. Tradução: Whei Oh Lin. 8 ed, Rio de Janeiro: LTC, 2012.

SKOOG, W. H. & C. Introdução às Separações Analíticas. In: SKOOG, W. H. C. **Fundamentos de Química Analítica**. 8ª. ed. São Paulo: Cenage Learning, v. Único, 2008. Cap. 30, p. 875.

SOUZA, J. S. I.; PEIXOTO, A. M.; OLEDO, F. F. In: _____ **Enciclopédia Agrícola Brasileira**. Piracicaba: Universidade de São Paulo, 1995. p. 420.

SPANGENBERG, B.; POOLE, C. F.; WEINS, C. **Theoretical Basis of Thin-Layer Chromatography**. In: _____ **Quantitative Thin-Layer Chromatography - A Practical Survey**. [S. I], New York: Springer, 2011.

SUAREZ, P. A. Z.; WOLF, C. R.; MANEGHTTI, M.R.; MANEGHTTI, S.M.P., Transformação de triglicerídeos em combustíveis, materiais poliméricos e insumos químicos: Algumas aplicações da catálise na oleoquímica. **Química Nova**, v. 30, n. 3, p. 667-676, 2007.

TAKAHASHI, F.; ORTEGA, E. *Assessing the sustainability of Brazilian oleaginous crops - possible raw material produce biodiesel*. **Energy Policy**, Campinas, v. 38, n. 5, p. 2446 - 2456, 2010.

TLILI, N.; ELFALLEH, W.; SAADOAUI, E.; KHALDI, A.; TRIKI, S.; NASRI, N. *The caper (Capparis L.): Ethnopharmacology, phytochemical and pharmacological properties*. **Library Medicine National**, El-Mana, v. 82, n. 2, p 93-102, 2010.

TONG, D.; HU, C.; JIANG, K.; LI, Y. *Cetane Number Prediction of Biodiesel from the Composition of the Fatty Acid Methyl Esters*. **Jornal Oil Chemical Society**, v. 88, n.3, p.415 - 423, 2010.

VALDÉS, R. C. I.; VERDUZCO, R. L. F.; HERNÁNDEZ, J. A. *Artificial neural network models to predict density, dynamics viscosity, and cetane number of biodiesel*. **Fuel**, v. 147. n.1. p 9 - 17, 2015.

VERDUZCO, L. F. R; RODRIGUEZ, J. E. R; JACOB, A. R. J. *Predicting cetane number, kinematic viscosity, density and higher heating value of biodiesel from its fatty acid methyl ester composition*. **Ful**. México, v. 91, n.1 ,p. 102-111, 2012.

VERMAAK, I. KAMATOU, G. P. P.; MOFOKENG, K. B.; VILJOEN, A. M.; BECKETT, K. *African seed oil of commercial importance - cosmetic applications*. **South African Journal of Botant**. Pretoria, v. 77,n. 4. p. 920 - 933 , 2011.

WANG, M. L. .; MORRIS, J. B.; TONNIS, B.; PINNOW, D.; DAVIS, J.; RAYMER, P.; PEDERSON, G. A. *Screening of the entire USDA castor germplasm collection for oil content and fatty acid composition for optimum biodiesel production. **Jornal Agrico Food Chemical**, v. 59, v. 17 p. 9250-9256, 2011.*