

DIOGENES JOSÉ GUSMÃO COUTINHO

**POTENCIAL BIOCOMBUSTÍVEL E ALIMENTÍCIO
DE FRUTOS E SEMENTES DA FLORESTA
ATLÂNTICA E CAATINGA DE PERNAMBUCO**

RECIFE - PE

2017

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE BIOCÊNCIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA VEGETAL

DIOGENES JOSÉ GUSMÃO COUTINHO

POTENCIAL BIOCOMBUSTÍVEL E ALIMENTÍCIO
DE FRUTOS E SEMENTES DA FLORESTA
ATLÂNTICA E CAATINGA DE PERNAMBUCO

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Biologia Vegetal, Departamento de Botânica da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito para a obtenção do título de Doutor em Biologia Vegetal.

Orientador: Prof. Dr. Antonio Fernando Morais de Oliveira

Área de concentração: Florística e Sistemática

Linha de Pesquisa: Etnobotânica e Botânica Aplicada

RECIFE - PE

2017

**POTENCIAL BIOCOMBUSTÍVEL E ALIMENTÍCIO
DE FRUTOS E SEMENTES DA FLORESTA
ATLÂNTICA E CAATINGA DE PERNAMBUCO**

Catálogo na fonte

Elaine Barroso

CRB 1728

Coutinho, Diógenes José Gusmão

Potencial biocombustível e alimentício de frutos e sementes da Floresta Atlântica e Caatinga de Pernambuco / Diógenes José Gusmão Coutinho- Recife: O Autor, 2017.

163 folhas: il., fig., tab.

Orientador: Antonio Fernando Morais de Oliveira

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Biociências. Biologia Vegetal, 2017.

Inclui referências e anexos

1. Biotecnologia vegetal 2. Sementes oleaginosas 3. Pernambuco I. Oliveira, Antonio Fernando Morais de (orientador) II. Título

630

CDD (22.ed.)

UFPE/CB-2017-247

DIOGENES JOSÉ GUSMÃO COUTINHO

“POTENCIAL BIOCOMBUSTÍVEL E ALIMENTÍCIO
DE FRUTOS E SEMENTES DA FLORESTA
ATLÂNTICA E CAATINGA DE PERNAMBUCO”

APROVADA EM 09/02/2017

BANCA EXAMINADORA:

Dr. Antonio Fernando Moraes de Oliveira (Orientador) – UFPE

Dra. Suzene Izídio da Silva – UFRPE

Dra. Maria Inês Sucupira Maciel – UFRPE

Dra. Eugênia Cristina Gonçalves Pereira – UFPE

Dra. Jarcilene Silva de Almeida-Cortez – UFPE

Recife - PE

2017

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial biocombustível e alimentício de frutos e sementes de espécies silvestres nativas da Floresta Atlântica e Caatinga, a fim de valorizá-las e indicar sua possível aplicação tecnológica. A tese é dividida em seis artigos, o primeiro reúne sete espécies de Euphorbiaceae com potencial para aplicação em biodiesel, publicado no periódico *Renewable Energy*. O segundo reuniu seis espécies agrupadas pela elevada proporção dos ácidos oleico, linoleico, palmítico e eicosenoico: *Rauwolfia grandiflora* e *Tabernaemontana flavicans* - Apocynaceae, *Protium heptaphyllum* - Burseraceae, *Cissampelos andromorpha* - Menispermaceae e *Serjania caracasana* e *Serjania salzmanniana* - Sapindaceae, publicado no periódico *JAOCS*. No terceiro e o quarto artigo foram analisados o óleo e o biodiesel de espécies de Clusiaceae (*Clusia nemorosa*, *C. paralicola* e *Tovomita brevistaminea*) e Malvaceae (*Basiloxylon brasiliensis*, *Ceiba pentandra*, *Christiana africana* e *Sterculia excelsa*), respectivamente, quanto ao potencial biocombustível. Essas espécies apresentaram elevado teor de óleo, perfil de ácidos graxos predominantemente insaturado e propriedades físico-químicas do óleo e biodiesel compatível à utilização como biocombustível, ou seja, dentro das normas ASTM D6751 e EN 14214. No quinto artigo se avaliou o potencial alimentício de frutos e sementes de quatro espécies de Arecaceae, que demonstraram um elevado valor energético e nutricional, revelando um grande potencial para utilização na indústria de alimentos. No sexto artigo se avaliou frutos e sementes de duas espécies de Chrysobalanaceae e quatro espécies de Myrtaceae. As espécies de Chrysobalanaceae tiveram elevados teores de óleo nas polpas e sementes, com a predominância de ácidos graxos insaturados. As espécies estudadas revelaram boas características tanto na industrialização quanto no consumo dos frutos *in natura*. A composição química revelou que as Chrysobalanaceae são boas fontes de lipídios, com elevado índice calórico. Por outro lado, as Myrtaceae foram pouco nutritivas. Os dados mostram que os frutos e sementes analisados são fontes de óleos com possível aplicação não só para consumo alimentar, mas também como uma importante fonte de bioativos a serem empregados nas indústrias.

Palavras-chave: Óleo de sementes. Ácidos graxos. Compostos bioativos. Atividade antioxidante.

ABSTRACT

The aim of this work was to evaluate the biofuel and food potential of fruits and seeds of native wild species of the Atlantic Forest and Caatinga, in order to valorize them and indicate their possible technological application. The thesis is divided into six articles, the first brings seven species of Euphorbiaceae with potential for application in biodiesel, published in the journal Renewable Energy. The second consisted of six species grouped by the high proportion of oleic, linoleic, palmitic and eicosenoic acids: *Rauwolfia grandiflora* and *Tabernaemontana flavicans* - Apocynaceae, *Protium heptaphyllum* - Burseraceae, *Cissampelos andromorpha* - Menispermaceae and *Serjania caracasana* and *Serjania salzmanniana* - Sapindaceae, published in the journal JAOCS. The third and fourth articles analyzed the oil and biodiesel of Clusiaceae species (*Clusia nemorosa*, *C. paralicola* and *Tovomita brevistaminea*) and Malvaceae (*Basiloxylon brasiliensis*, *Ceiba pentandra*, *Christiana africana* and *Sterculia excelsa*), respectively, regarding biofuel potential. These species presented high oil content, predominantly unsaturated fatty acid profile and physicochemical properties of the oil and biodiesel compatible to the use as biofuel according to ASTM D6751 and EN 14214. The fifth article evaluated the fruits and seeds of four species of Arecaceae, which demonstrated a high energy and nutritional value, revealing great potential for use in the food industry. The sixth article evaluated fruits and seeds of two species of Chrysobalanaceae and four species of Myrtaceae. The species of Chrysobalanaceae had high oil contents in the pulps and seeds, with the predominance of unsaturated fatty acids. The species studied showed good characteristics both in the industrialization and consumption of the *in natura* fruits of these fruits. The centesimal composition revealed that Chrysobalanaceae are good sources of lipids, with a high caloric content; on the other hand, Myrtaceae were not very nutritious. The data show that the fruits and seeds analyzed are sources of oils with possible application not only for food consumption, but also as an important source of bioactives to be used in the industries.

Keywords: Seed oil. Fatty acids. Bioactive compounds. Antioxidant activity.

LISTA DE FIGURAS

	Pág.
FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	
Figura 1. Esquema da reação de transesterificação de óleos vegetais.....	18
Figura 2. Frutos e sementes das espécies analisadas.....	21

LISTA DE TABELAS

	Pág.
FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	
Tabela 1. Simbologia, nomenclatura IUPAC e usual de ácidos graxos mais comumente encontrados em sementes e frutos.....	14
Tabela 2. Aspectos químicos de algumas espécies das famílias Arecaceae, Chrysobalanaceae e Myrtaceae utilizadas como alimento no Brasil.....	17
Tabela 3. Parâmetros físico-químicos dos óleos vegetais especificados pela ASTM e a UNE-EN 14214, 2009.....	19
Tabela 4. Lista de espécies selecionadas neste estudo para análise da composição química.....	22
CAPÍTULO 1	
Table 1. Colletion environment, plant habit and biometric characteristics of the seeds of some Brazilian native Euphorbiaceae species.....	29
Table 2. Oil content and fatty acid composition of the seeds of some Brazilian native Euphorbiaceae species.....	30
Table 3. Physicochemical properties of the seed oil of some Brazilian native Euphorbiaceae species.....	31
Table 4. Biodiesel yield and physicochemical properties of some Brazilian native Euphorbiaceae species compared with <i>Jatropha curcas</i> and <i>Ricinus communis</i>	32
CAPÍTULO 2	
Table 1. Habit, collection site, geographic coordinates, and biometric characteristics of the seeds of some species from Atlantic Forest of Northeast Brazil (Pernambuco state, PE).....	37
Table 2. Oil content and fatty acid composition of some seeds of the Atlantic Forest of northeast Brazil – Pernambuco state.....	39
Table 3. Oil properties of the seed oils of some species of the Atlantic Forest of Northeast Brazil – Pernambuco state.....	41
Table 4. Yield and physicochemical properties of biodiesel of seed oils of some species of the Atlantic Forest of northeast Brasil – Pernambuco satate.....	42

Table 5. Biodiesel specifications in ASTM D6751 and EM 14214 standards.....	43
--	----

CAPÍTULO 3

Tabela 1. Nome popular, local de coleta e coordenadas geográficas de três espécies de Clusiaceae.....	66
--	----

Tabela 2. Teor de óleo e características biométricas das sementes de três espécies de Clusiaceae.....	67
--	----

Tabela 3. Composição de ácidos graxos de três espécies de Clusiaceae.....	68
--	----

Tabela 4. Propriedades físico-químicas de óleos de sementes de três espécies de Clusiaceae avaliadas neste estudo e em estudos anteriores.....	68
---	----

Tabela 5. Propriedades físico-químicas do biodiesel de espécies de Clusiaceae neste estudo e em estudos anteriores.....	69
--	----

CAPÍTULO 4

Tabela 1. Nome Popular, local de coleta e coordenadas geográficas de quatro espécies de Malvaceae.....	91
---	----

Tabela 2. Teor de óleo e características biométricas das sementes de quatro espécies de Malvaceae.....	92
---	----

Tabela 3. Composição de ácidos graxos de sementes de quatro espécies de Malvaceae.....	93
---	----

Tabela 4. Propriedades físico-químicas de óleos de sementes de quatro espécies de Malvaceae.....	94
---	----

Tabela 5. Propriedades físico-químicas do biodiesel de espécies de quatro espécies de Malvaceae neste estudo e em estudos anteriores.....	95
--	----

CAPÍTULO 5

Tabela 1. Características das espécies de Arecaceae alimentícias não-convencionais de Florestas Tropicais de Pernambuco.....	123
---	-----

Tabela 2. Características biométricas das polpas e das sementes de espécies de Arecaceae alimentícias não-convencionais de Florestas Tropicais de Pernambuco.....	123
--	-----

Tabela 3. Ácidos graxos de frutos e sementes de espécies de Arecaceae alimentícias de Florestas Tropicais de Pernambuco.....	124
---	-----

Tabela 4. Teor de óleo e propriedades físico-químicas do óleo de polpas e sementes de espécies de Arecaceae alimentícias de Florestas Tropicais de Pernambuco.....	125
---	-----

Tabela 5. Potencial de hidrogênio (pH), sólidos solúveis (SS), acidez titulável (AT), relação sólidos solúveis/acidez titulável (SS/AT), composição química (g/100 g) e índice calórico total (ICT - cal/100 g) de espécies de Arecaceae alimentícias não-convencionais.....	126
Tabela 6. Teor de carotenoides totais, fenóis totais e estabilidade oxidativa do óleo das espécies de Arecaceae alimentícias não convencionais de Florestas Tropicais de Pernambuco.....	127
Tabela 7. Composição de minerais* (mg/100 g) de frutos e sementes de espécies de Arecaceae alimentícias de Florestas Tropicais de Pernambuco.....	128
Tabela 8. Perfil de aminoácidos (g/100 de proteína) de frutos e sementes de espécies alimentícias de Florestas Tropicais de Pernambuco.....	129
CAPÍTULO 6	
Tabela 1. Características das espécies alimentícias não convencionais de Florestas Tropicais de Pernambuco.....	154
Tabela 2. Características biométricas das polpas e das sementes de espécies alimentícias não convencionais de Florestas Tropicais de Pernambuco.....	155
Tabela 3. Ácidos graxos de frutos e sementes de espécies alimentícias de Florestas Tropicais de Pernambuco.....	156
Tabela 4. Teor de óleo e propriedades físico-químicas do óleo de polpas e sementes de espécies alimentícias de Florestas Tropicais de Pernambuco.....	157
Tabela 5. Potencial de hidrogênio (pH), sólidos solúveis (SS), acidez titulável (AT), relação sólidos solúveis/acidez titulável (SS/AT), composição química (g/100 g) e índice calórico total (ICT - cal/100 g) de espécies alimentícias não convencionais.....	158
Tabela 6. Teor de carotenoides totais, fenóis totais e estabilidade oxidativa do óleo das espécies alimentícias não convencionais de Florestas Tropicais de Pernambuco.....	159
Tabela 7. Composição de minerais (mg/100 g) de frutos e sementes de espécies alimentícias de Florestas Tropicais de Pernambuco.....	160
Tabela 8. Perfil de aminoácidos (g/100 de proteína) de frutos e sementes de espécies alimentícias de Florestas Tropicais de Pernambuco.....	161

SUMÁRIO

	Pág.
1 APRESENTAÇÃO	11
2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	12
2.1 <i>Conservação, uso sustentável e potencial econômico de espécies silvestres</i>	12
2.2 <i>Frutos e sementes vegetais: Potencial industrial e nutricional</i>	13
2.3 <i>Composição química de frutos e sementes</i>	14
2.4 <i>Potencial biocombustível do óleo de frutos e sementes</i>	19
2.5 <i>Famílias e espécies selecionadas para estudo</i>	22
3 ARTIGO 1 - Biodiesel potential of the seeds oils from some Brazilian native Euphorbiaceae species.....	24
4 ARTIGO 2 – Comparative study of the physicochemical properties of FAME from seed oils of some native species of Brazilian Atlantic Forest.....	33
5 ARTIGO 3 - Potencial biodiesel de óleos não comestíveis de espécies de Clusiaceae de florestas tropicais brasileiras.....	43
6 ARTIGO 4 - Avaliação do potencial de sementes de espécies de Malvaceae para a produção de biodiesel.....	68
7 ARTIGO 5 - Análise bromatológica, perfil lipídico e propriedades físico-químicas de frutos e sementes de quatro espécies de Arecaceae ocorrentes em florestas tropicais brasileiras.....	96
8 ARTIGO 6 - Potencial nutricional de frutos e sementes de espécies de Chrysobalanaceae e Myrtaceae ocorrentes em florestas tropicais brasileiras.....	128
9 CONSIDERAÇÕES FINAIS	160
REFERÊNCIAS	163
ANEXO – NORMAS DAS REVISTAS	163

1 APRESENTAÇÃO

Nos capítulos que se seguem, serão apresentados os resultados referentes à bioprospecção de espécies silvestres da Floresta Atlântica e Caatinga com potencial biocombustível e alimentício. Atualmente, um dos grandes desafios da humanidade consiste em conciliar a conservação da biodiversidade ao desenvolvimento tecnológico, sobretudo sobre o ponto de vista da sustentabilidade. Neste sentido, a ampliação do conhecimento do uso de plantas é de suma importância para a utilização econômica de recursos florestais, a fim de prover matéria-prima às indústrias. Contudo, o Brasil ainda apresenta uma grande lacuna sobre o conhecimento de espécies potencialmente úteis, bem como dos processos relacionados às condições para seu estabelecimento e cultivo.

Sabe-se que algumas espécies comestíveis não convencionais são utilizadas por comunidades tradicionais, muito embora poucas estejam disponíveis para consumo no mercado. Neste contexto, a domesticação de plantas nativas, conhecidas e já utilizadas por populações locais, mas que ainda não são conhecidas no mercado nacional ou internacional, são uma grande oportunidade para a bioprospecção de espécies vegetais com potencial industrial, podendo se tornar matéria-prima alternativa viável com aproveitamento em diversos setores da indústria. Além disso, pesquisas apontam que o valor econômico desses frutos e sementes está associado à presença de ácidos graxos, aminoácidos, açúcares e minerais ou aos compostos bioativos agregados, que possuem ação terapêutica, antioxidante, valor nutricional e inúmeras aplicações biotecnológicas.

Diante da necessidade de ampliar o número de espécies investigadas para bioprospecção de bioativos, o presente trabalho objetivou analisar as propriedades físico-químicas de óleos e biodiesel de frutos e sementes, a fim de avaliar seu potencial para produção de biocombustível e caracterizar quimicamente frutos e sementes já indicados pela literatura como recursos alimentícios florestais, visando contribuir com novas informações sobre a possível utilização de espécies ocorrentes na Floresta Atlântica e Caatinga pernambucana. Dessa forma, o trabalho foi estruturado em seis capítulos, escritos em formato de manuscrito, onde os quatro primeiros analisam as propriedades físico-químicas de óleos e biodiesel de frutos e sementes com potencial para produção de biocombustível e, o quinto e sexto, caracterizam quimicamente frutos e sementes quanto ao seu potencial nutricional. O primeiro manuscrito encontra-se publicado na revista *Renewable Energy*, o segundo na *Journal of the American Oil Chemists' Society*, os demais serão submetidos em periódicos científicos especializados.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 Conservação, uso sustentável e potencial econômico de espécies silvestres

Diante da biodiversidade global, o Brasil é o país que apresenta o maior percentual de espécies endêmicas, com aproximadamente 22% de toda a biodiversidade mundial, onde são catalogadas mais de 55 mil espécies de plantas superiores (FLORA DO BRASIL, 2016). Considerando toda essa biodiversidade e o imenso potencial de uso econômico não conhecido, o Ministério do Meio Ambiente vem conduzindo uma série de iniciativas para a conservação das espécies silvestres, como a ampliação do conhecimento e promoção do uso sustentável dos recursos genéticos, dentre elas o Tratado Internacional de Recursos Fitogenéticos para a Alimentação e Agricultura – TIRFAA de 2001 e a Convenção sobre Diversidade Biológica – CDB. Nesses acordos o Brasil se compromete a conservar e promover o uso sustentável da biodiversidade e dos seus recursos genéticos, ampliando os compromissos em relação à agricultura sustentável e à segurança alimentar, com a expansão da diversidade genética e da promoção do uso de cultivos locais, com ênfase para espécies e variedades locais subutilizadas, de importância econômica atual e potencial (BRASIL, 2002).

A biodiversidade é fonte de imenso potencial de uso econômico, sendo a base para diversas atividades econômicas na agricultura, pecuária, piscicultura, silvicultura e do extrativismo, fornecendo insumos essenciais para a indústria alimentícia, energética, farmacêutica e de cosméticos. A indústria biotecnológica através da bioprospecção de bioativos, novos fármacos, recursos nutritivos e energéticos, utiliza o conhecimento de uso da flora como base para seu avanço. A biodiversidade representa ainda fonte de renda para inúmeras comunidades locais que vivem no entorno de florestas (MAGALHÃES, 2008).

A combinação entre esta vasta biodiversidade com a mais alta taxa de endemismo, distribuída nos ecossistemas da Amazônia, Floresta Atlântica, Caatinga e o Cerrado, coloca o Brasil em uma posição estratégica e privilegiada na área da bioprospecção de plantas nativas com uso associado a diversas propriedades, a exemplo de espécies de uso medicinal, oleaginoso, energético (lenha), ornamental, alimentar, espécies produtoras de fibras, madeiras entre outras (NOGUEIRA; CERQUEIRA; SOARES, 2010).

Dessa forma, a prospecção de frutos e as sementes capazes de armazenar substâncias de interesse econômico são de grande valia para a priorização de uso e conservação de espécies nativas, podendo gerar benefícios sócioeconômicos e ambientais decorrentes do uso sustentável da biodiversidade nativa. Com isso, novas espécies da flora brasileira podem ser

colocadas à disposição dos agricultores, com atenção especial à agricultura familiar, que poderá diversificar os seus cultivos. Da mesma forma, serão criadas novas oportunidades de investimento para o setor empresarial no desenvolvimento de novos produtos farmacêuticos, cosméticos, biocombustíveis e alimentícios.

2.2 Frutos e sementes vegetais: Potencial industrial e nutricional

Os frutos e sementes são fontes primárias para a nutrição humana e animal desde o início da civilização, onde algumas plantas forneceram recursos para assegurar suprimento alimentar adequado dentro de uma pequena área geográfica, o que possibilitou em parte o desenvolvimento da vida em comunidade (COPETTI et al., 2010). Desde o início da agricultura até os dias atuais, os frutos e as sementes ganharam maior importância, sendo transportadas de seus centros de origem e se espalhado pelo mundo todo, constituindo atualmente a base da alimentação humana (SASAKI, 2008).

Algumas características de frutos e sementes revelam seu papel importante em nossa civilização. O fato de serem transportáveis e compactos, possuírem macromoléculas (carboidratos, proteínas, lipídios), compostos antioxidantes, vitaminas e minerais, elevado teor de calorias e serem facilmente digeridos, tornam-os excelentes para a nutrição humana. Além disso, possuem a vantagem de serem obtidos em grande quantidade, facilmente colhidos em plantas herbáceas e sazonalmente produzidos pelas perenes. Os frutos podem sofrer rápida degradação devido ao elevado teor de umidade na polpa, mas as sementes maduras têm uma taxa metabólica baixa e são estáveis quando armazenadas por longos períodos, o que favorece seu armazenamento. Os tecidos de armazenamento e o embrião também podem estar envoltos por uma dura testa que os protegem da invasão de microrganismos. Essas características, que evoluíram nas plantas com flores para aumentar a probabilidade de sobrevivência da semente, têm sido indispensáveis na manutenção da civilização humana (SIMPSON; OGORZALY, 2001; SASAKI, 2008).

É difícil mensurar o valor econômico da nossa diversidade biológica. Apesar disso, sua riqueza está estimada, pelo que se anuncia nos estudos do Instituto de Pesquisa Econômica Aplicada - IPEA, em cerca de quatro trilhões de dólares. Trata-se de um tesouro vivo e é preciso explorá-lo sem esgotar-lhe a vida, que é a razão primeira e última de seu imenso valor econômico e social para a qualidade de vida do homem na Terra (ZANI et al., 2013). Muitos trabalhos etnobotânicos têm considerado uma grande quantidade de frutos e sementes silvestres cuja aparência, sabor, qualidade nutricional e textura apresentam forte

potenciais para incluí-los no mercado em diferentes setores industriais (GONÇALVES et al., 2016).

Variados são os produtos utilizados pela sociedade oriundos da flora brasileira, sejam eles medicamentos, alimentos e seus aditivos, fibras, óleos naturais e essenciais, cosméticos, produtos químicos e biocombustíveis. São inúmeras as classes de compostos químicos que podem ser extraídos das nossas espécies vegetais (CUNHA; FEITOSA, 2009). O termo ‘plantas alimentícias’ significa aquelas plantas que possuem uma ou mais partes ou produtos que podem ser utilizados na alimentação humana, tais como: raízes tuberosas, tubérculos, bulbos, rizomas, cormos, ramos tenros (“talos”), folhas, brotos, flores, frutos e sementes ou ainda látex, resina e goma, ou que são usadas para obtenção de óleos e gorduras comestíveis. Inclui-se neste conceito também as especiarias, substâncias condimentares e aromáticas, assim como plantas que são utilizadas como substitutas do sal, como edulcorantes, amaciantes de carnes, corantes alimentares e no fabrico de bebidas, de tonificantes e infusões (KINUPP, 2007).

As plantas selvagens são classificadas como produtos florestais não-madeireiros (PFNM) e estudos têm mostrado que, embora muitas destas plantas, referidas como "Bush plantas" (plantas do mato), são utilizadas para a alimentação, as outras caíram em desuso ou estão sub-utilizadas (NASCIMENTO et al., 2012; 2013).

Esses frutos apresentam sabores característicos e elevados teores de açúcares, proteínas, vitaminas e sais minerais e podem ser consumidos *in natura* ou na forma de sucos, licores, picolés, farinhas, doces, sorvetes, geléias entre outros. O consumo das frutas nativas no nordeste há milênios consagrados pelos índios, foi de suma importância para a sobrevivência dos primeiros desbravadores e colonizadores da região (ÁVIDOS; FERREIRA, 2003).

2.3 Composição química de frutos e sementes

Frutos e sementes constituem boas fontes de nutrientes essenciais e compostos bioativos (RAMOS et al., 2008). Através de uma análise de composição química é possível quantificar diversos grupos de metabólitos, a exemplo dos carboidratos, que são fontes de energia primária para as células. Os carboidratos abrangem um dos maiores grupos de compostos orgânicos encontrados na natureza e, juntamente com as proteínas, formam os principais constituintes do organismo vivo, além de ser a mais abundante e econômica fonte de energia para os seres vivos. Açúcares, carboidratos ou sacarídeos podem ser definidos

quimicamente como poliidroxialdeídos ou poliidroxicetonas e seus derivados. Isso significa que possuem vários grupamentos hidroxila e também um grupamento aldeído ou cetona em suas moléculas (RUFINO et al., 2005).

Nas plantas, os carboidratos são encontrados como constituintes estruturais (celulose e outros polissacarídeos de parede); reserva de energia, na forma de polímeros (como o amido); constituintes de vários metabólitos (como ácidos nucleicos e coenzimas) e numerosos glicosídeos; e como precursores requeridos para a síntese de outros metabólitos (formados a partir de dióxido de carbono e água), sendo o ponto de partida para a formação de todos os componentes orgânicos na natureza (SGARBIERI, 1980). Os carboidratos podem ser classificados em três grupos principais: monossacarídeos, oligossacarídeos e polissacarídeos.

Os lipídeos, por sua vez, possuem função estrutural nas células, hormonal, colaboram na absorção de vitaminas lipossolúveis (A, D, E e K), dos carotenoides, além de fornecer energia às células. Lipídios na forma de triacilgliceróis são amplamente distribuídos como reservas de carbono e energia química em sementes e frutos, embora eles possam ser encontrados em todos os tecidos vegetais (SIMPSON; OGORZALY, 2001). Triacilgliceróis são ésteres de glicerol aos quais ácidos graxos estão esterificados a cada um dos três grupos hidroxila. Os ácidos graxos são ácidos carboxílicos de cadeias de carbono fortemente reduzidas. Os ácidos graxos mais comuns possuem entre 16 e 18 carbonos, porém, algumas plantas também produzem ácidos graxos de 8 a 32 carbonos, que são usualmente acumulados em lipídios de reserva ou em cera epicuticular. Oito deles são comumente encontrados nos lipídios de reserva da maioria dos frutos e das sementes oleaginosas: ácido láurico (12:0), mirístico (14:0), palmítico (16:0), esteárico (18:0), oleico (18:1), linoléico (18:2), linolênico (18:3) e erúcico (22:1) (TABELA 1) (COUTINHO, 2013).

Tabela 1. Simbologia, nomenclatura IUPAC e usual de ácidos graxos mais comumente encontrados em sementes e frutos. Fonte: Coutinho et al. (2013)

SÍMBOLO	NOMENCLATURA		FÓRMULA CH ₃ -(R)-CO ₂ H
	IUPAC	USUAL	
C12:0	Ácido dodecanóico	Ácido láurico	-(CH ₂) ₁₀ -
C14:0	Ácido tetradecanóico	Ácido mirístico	-(CH ₂) ₁₂ -
C16:0	Ácido hexadecanóico	Ácido palmítico	-(CH ₂) ₁₄ -
C18:0	Ácido octadecanóico	Ácido esteárico	-(CH ₂) ₁₆ -
C 16:1	Ácido 9- hexadecenóico	Ácido palmitoleico	-(CH ₂) ₅ CH=CH(CH ₂) ₇ -
C18:1n-9	Ácido 9- octadecenóico	Ácido oleico	-(CH ₂) ₇ CH=CH(CH ₂) ₇ -
C18:2 n-6	Ácido 9,12- octadecadienóico	Ácido linoleico	-(CH ₂) ₃ (CH ₂ CH=CH) ₂ (CH ₂) ₇ -

Tabela 1 (continuação)

SÍMBOLO	NOMENCLATURA IUPAC	NOMENCLATURA USUAL	FÓRMULA CH ₃ -(R)-CO ₂ H R
C18:3n-6	Ácido 6,9,12- octadecatrienóico	Ácido gama- linolênico (LA)	-(CH ₂) ₃ (CH ₂ CH=CH) ₃ (CH ₂) ₄ -
C18:3n-3	Ácido 9,12,15- octadecatrienóico	Ácido alfa-linolênico (LNA)	-(CH ₂ CH=CH) ₃ (CH ₂) ₇ -
C22:0	Ácido docosanóico	Ácido behênico	-(CH ₂) ₂₀ -
C24:0	Ácido tetracosanóico	Ácido lignocérico	-(CH ₂) ₂₂ -

As proteínas, além de fornecer energia ao organismo, são importantes na manutenção e construção dos tecidos, formação de enzimas, hormônios, anticorpos, na regulação de processos metabólicos (MAIHARA et al., 2006). Proteínas são componentes complexos formados por aminoácidos e na natureza existem apenas 20 aminoácidos encontrados com frequência. Desses, dez são considerados essenciais para o homem (arginina, fenilalanina, histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, treonina, triptofano e valina), sendo assim necessário obtê-los por meio da dieta. É importante ressaltar que a arginina só é essencial para indivíduos jovens e em crescimento, mas não para adultos. A cisteína e a tirosina são igualmente importantes, pois também não são sintetizadas pelo corpo, porém não são consideradas verdadeiramente essenciais, porque podem ser produzidas a partir de metionina e fenilalanina, respectivamente (LEHNINGER, 1995).

As proteínas vegetais são importantes por serem, em muitos casos, a principal ou única fonte de aminoácidos essenciais na alimentação de populações do entorno de florestas. Segundo Nascimento et al. (2011), geralmente existe uma relação inversa entre as condições econômicas de uma sociedade e o consumo de proteínas de sementes. Populações de países em desenvolvimento consomem proteínas de sementes em proporção maior do que as de países desenvolvidos, que têm condições mais favoráveis de consumir proteínas de origem animal. A proteína vegetal é mais econômica de se produzir (para a produção de 1 kg de proteína animal, são necessários 3 a 20 kg de proteína vegetal), transportar e armazenar. Além disso, dado o crescimento populacional e o concomitante desgaste dos recursos naturais do mundo cresce a busca por fontes de proteínas de qualidade (MAYWORM, 1999).

Além dos principais compostos mencionados, as sementes podem conter diversas outras substâncias. Todas as sementes contêm minerais, vitaminas e aminoácidos livres. Muitas possuem alcaloides, ácidos orgânicos, fitosteróis, pigmentos e diversos compostos fenólicos como, por exemplo, derivados de cumarina, ácido clorogênico e fenóis simples

como os ácidos ferúlico, caféico e sinápico, além de taninos (MAYWORM et al., 2004). Alguns desses compostos são tóxicos ou anti-nutricionais e podem afetar a qualidade nutricional das sementes.

Os compostos fenólicos (simples ou polifenóis) incluem um grande número de compostos oriundos do metabolismo secundário vegetal, que diferem em estrutura química e reatividade, variando desde um composto simples até um polimerizado. Estruturalmente, são moléculas orgânicas com um anel aromático ligado a um ou mais grupos hidroxila, juntamente com outros constituintes, geralmente associados a propriedades biológicas (ESKIN; PRZYBYLAKI, 2001). São organizados em várias classes, tais como ácidos fenólicos, fenilpropanoides, flavonoides, taninos, entre outros (HOED, 2010).

Esses compostos são largamente distribuídos nas plantas predominando em caules e folhas, mas podem estar associados aos óleos em pequena quantidade. Os polifenóis podem atuar como antialérgicos, antiarterogênicos, anti-inflamatórios, antimicrobianos, antitrombóticos, além de terem efeitos cardioprotetores e vasodilatadores (BALASUNDRAM; SUNDRAM; SAMMAN, 2006). O consumo de frutas e outras partes vegetais ricas em polifenóis são associados a benefícios para a saúde, devido às suas propriedades antioxidantes.

Os carotenoides são tetraterpenoides (C_{40}) formados pela união cauda-cabeça de oito unidades isoprenos (C_5), com grupos metila centrais separados por seis carbonos. A principal característica destas moléculas consiste no extenso sistema de duplas ligações conjugadas, que forma o cromóforo, conferindo aos carotenoides coloração e propriedades especiais (FIGUEIRA et al., 2013). Até o momento, foram identificados mais de 700 exemplares de carotenoides (CHEN; JUNGER, 2012). São compostos que melhoram a resposta imunológica contra infecções, protegem a mucosa gástrica contra úlceras e reduzem o risco do desenvolvimento de doenças crônicas degenerativas, como câncer, doenças cardiovasculares, degeneração muscular relacionada à idade e catarata (MAIANI et al., 2009; FERNANDEZ-GARCIA et al., 2012). Na tabela 2, foram reunidos aspectos químicos de algumas espécies das famílias Arecaceae, Chrysobalanaceae e Myrtaceae utilizadas como alimento no Brasil.

Tabela 2. Aspectos químicos de algumas espécies das famílias Arecaceae, Chrysobalanaceae e Myrtaceae utilizadas como alimento no Brasil.

Família/Espécie	Parte	pH	SS	AT	SS/AT	Composição química					
						Umidade	Cinzas	Carboidratos	Lipídios	Proteínas	ICT
ARECACEAE											
<i>Astrocaryum aculeatum</i> ¹	Polpa	5,43	14,55	8,97	1,71	50,25	1,23	19,25	25,19	3,39	320,0
<i>A. vulgare</i> ²	Polpa	-	-	-	-	44,90	2,53	8,54	40,49	3,54	412,73
<i>Acrocomia intumescens</i> ³	Polpa	-	-	-	-	62,24	2,00	3,57	29,61	2,58	-
<i>Acrocomia intumescens</i> ³	Semente	-	-	-	-	14,88	2,07	43,91	27,42	11,72	-
<i>Copernicia prunifera</i> ⁴	Polpa	-	-	-	-	45,73	3,60	42,79	1,18	6,70	208,58
<i>Butia capitata</i> ⁵	Semente	2,45	11	1,92	-	28,21	0,74	22,29	28,74	11,09	392,18
<i>Syagrus coronata</i> ³	Polpa	-	-	-	-	74,94	0,56	16,03	1,53	6,94	-
<i>Syagrus coronata</i> ³	Semente	-	-	-	-	12,58	3,28	33,43	30,04	20,64	-
CHRYSOBALANACEAE											
<i>Couepia edulis</i> ⁶	Semente	-	-	-	-	9,24	2,17	1,15	68,89	7,34	653,97
<i>Parinari excelsa</i> ⁷	Semente	-	-	-	-	2,26	2,67	23,99	60,25	10,47	-
<i>Chrysobalanus icaco</i> ⁸	Polpa	5,64	10	0,55	-	84,40	0,64	13,43	0,85	0,68	64,09
MYRTACEAE											
<i>Campomanesia adamantium</i> ⁹	Polpa	4,3	-	1,2	-	75,9	0,45	11,6	1,5	1,6	66,3
<i>Eugenia klotzschiana</i> ¹⁰	Polpa	-	-	-	-	90,47	0,28	8,26	0,23	0,76	30,0
<i>Psidium guajava</i> ¹¹	Polpa	-	-	-	-	85,81	3,27	9,52	0,64	0,76	27,0

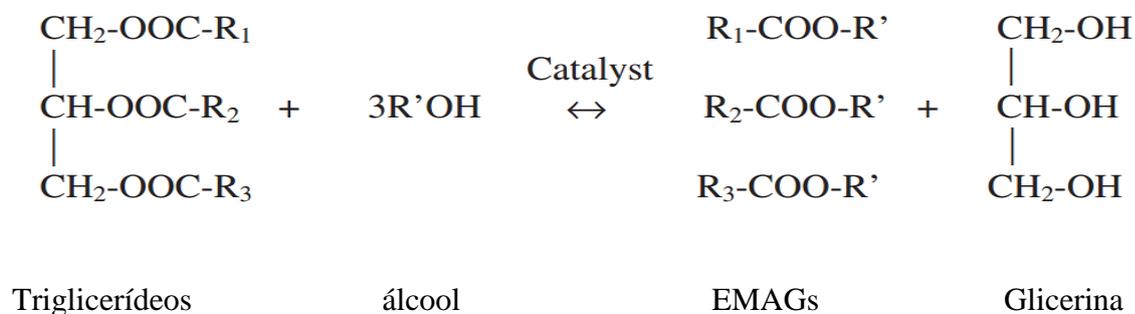
¹Leitão, (2008); ²Ferreira et al., (2008); ³Silva, (2012); ⁴Bezerra, (2013); ⁵Sganzerla, (2010); ⁶Costa, (2012); ⁷Fernandes, (2012); ⁸Aguiar et al., (2011); Vallilo et al., (2006). ¹⁰ Vallilo et al. (2003); ¹¹Franco (2003).

2.4 Potencial biocombustível do óleo de frutos e sementes

Atualmente, os óleos vegetais se destacam também como uma fonte alternativa de energia em substituição ao óleo diesel. O biodiesel (ésteres alquílicos de ácidos graxos) é um combustível diesel alternativo, derivado da reação de óleos vegetais ou lipídios e álcool, com ou sem a presença de um catalisador. Comercialmente, o biodiesel é referido como B2, B5, B20, B30 e B100, onde este representa o biocombustível totalmente natural, ou seja, sem adição do diesel derivado do petróleo. Atualmente, o biodiesel vendido no Brasil possui 5% de biodiesel e 95% de diesel (B5) (COUTINHO, 2013).

O biodiesel é produzido através de uma reação conhecida como transesterificação. Em uma reação de transesterificação ou de alcoólise, um mol de triglicerídeo reage com três moles de álcool (razão molar de metanol para óleo vegetal de 3:1) para formar um mol de glicerol e três moles de ésteres de ácidos graxos. O processo é uma sequência de três reações reversíveis, no qual a molécula de triglicerídeo é convertida passo a passo para diglicerídeo, monoglicerídeo e glicerol (Figura 1) (RAMOS et al., 2009).

Figura 1. Esquema da reação de transesterificação de óleos vegetais. EMAGs: ésteres metílicos de ácidos graxos. Fonte: Marchetti e Errazu, 2007.



Além da composição em ácidos graxos existem parâmetros físico-químicos dos óleos vegetais para produção de um biodiesel de qualidade. Esses parâmetros possuem valores especificados por órgãos internacionais como a ASTM (*American Society of Testing and Materials*) e a norma europeia UNE-EN 14214, 2009, conforme discriminado na Tabela 3.

Tabela 3. Parâmetros físico-químicos dos óleos vegetais especificados pela ASTM e a UNE-EN 14214, 2009. Fonte: Coutinho et al. (2016).

Propriedade Físico-química	Especificações do Biodiesel	
	ASTM D6751	EN 14214
Rendimento de Biodiesel (p. %)	-	-
Densidade a 15 °C (kg/m ³)	-	860-900
Viscosidade Cinemática a 40 °C (mm ² /s ⁻¹)	1,9-6,0	3,5-5,0
Ponto de Ebulição (°C)	130 (min.)	101 (min.)
Ponto de entupimento a frio (°C)	-	-
Teor de enxofre (mg kg ⁻¹)	-	10
Cinzas sulfatadas (p.%)	-	0,020
Índice de acidez (mg KOH/g)	0,50 (max.)	0,50 (max.)
Corrosão da fita de cobre (50° C; 3h)	3	1
Teor de água (mg kg ⁻¹)	-	500 (max.)
Estabilidade Oxidativa (h; 110 °C)	3,0 (min.)	6,0 (min.)
Glicerina total (% massa)	0,24 (max.)	0,25 (max.)

O biodiesel apresenta inúmeras outras características benéficas: É livre de enxofre e compostos aromáticos; tem número de cetano maior que o diesel; possui teor médio de oxigênio em torno de 11%; possui maior viscosidade e maior ponto de fulgor que o diesel convencional; possui um nicho de mercado específico, diretamente associado a atividades agrícolas e tem preço de mercado relativamente superior ao diesel comercial (RAMOS et al., 2000). Entretanto, se a etapa de recuperação e aproveitamento do subproduto (glicerina) for otimizada, o biodiesel poderá ser obtido a um custo menor e competitivo frente ao preço do óleo diesel (SANTOS et al., 2004).

2.4.1 Propriedades físicas

As propriedades fluidodinâmicas de um combustível, no que diz respeito ao funcionamento de motores de injeção por compressão (motores diesel) são a viscosidade e a densidade, as quais exercem grande influência na circulação e injeção do combustível. As propriedades fluidodinâmicas do biodiesel, independentemente de sua origem, assemelham-se ao do óleo diesel mineral, não sendo necessária qualquer adaptação ou regulagem no sistema de injeção dos motores (COUTINHO, 2013; COUTINHO et al., 2016).

O ponto de névoa é a temperatura na qual o líquido, por refrigeração, começa a ficar turvo, e o ponto de fluidez é a temperatura na qual o líquido não mais escoava livremente. Tanto os pontos de fluidez como o de névoa variam com a fonte de matéria prima, bem como o álcool empregado na reação de transesterificação. Essas propriedades são consideradas importantes no que diz respeito às condições nas quais o combustível deve ser armazenado e utilizado (LÔBO et al., 2009).

O ponto de fulgor é a temperatura na qual um líquido torna-se inflamável em presença de uma chama ou faísca. Esta propriedade é importante no que diz respeito à segurança no transporte, manuseio e armazenamento. O ponto de fulgor do biodiesel, se completamente isento de álcool, for superior à temperatura ambiente, significa que o combustível não é inflamável nas condições normais que é transportado e armazenado (LIMA et al., 2007).

O índice de cetano ou cetanagem é uma medida importante para combustíveis utilizados em motores do ciclo Diesel. Portanto, quanto maior for o índice de cetano de um combustível, melhor será sua combustão no motor diesel. O índice de cetano médio do biodiesel é 60, enquanto para o óleo diesel é entre 48 a 52 (PINHO et al., 2009).

Como os óleos vegetais e as gorduras de animais não possuem enxofre, o biodiesel é completamente isento desse elemento. Os produtos derivados do enxofre são bastante danosos ao meio ambiente e ao motor e seus componentes. Entende-se que o biodiesel é um combustível limpo, enquanto o diesel possui enxofre, prejudica a biota e o motor (KNOTHE, 2006).

O valor do índice de iodo informa a quantidade de ligações insaturadas contidas no biodiesel. Quanto maior forem os teores de insaturações presentes na composição do biocombustível, mais susceptível à degradação termo-oxidativa estará o biocombustível, em termos gerais, menor será a sua estabilidade oxidativa. Para valores de índice de iodo acima de 135 levam a produção de um biodiesel inaceitável para fins carburantes devido à tendência a formar depósitos de carbono (COUTINHO et al., 2016).

O índice de peróxidos (IP) está diretamente relacionado com o grau de conservação do biodiesel. Níveis elevados de peróxidos são decorrentes da oxidação do biodiesel. Os índices de acidez e ácidos graxos livres influenciam na hidrólise do biodiesel e na sua oxidação quando em valores altos. Além disso, a acidez elevada pode catalisar reações intermoleculares ao mesmo passo em que afeta a estabilidade térmica do combustível na câmara de combustão. Observa-se também, no caso do emprego carburante do biodiesel,

que a elevada acidez livre tem ação corrosiva sobre os componentes metálicos do motor (SANTOS et al., 2004).

2.5 Famílias e Espécies selecionadas para estudo

Para escolha das espécies analisadas quanto ao potencial do biodiesel proveniente de óleos de sementes foi levado em consideração aspectos como: gêneros ou espécies pertencentes a famílias tradicionalmente ricas em espécies oleaginosas, espécies com teor de óleo acima de 30%, sementes de médias a grandes e espécies com perfil de óleo predominantemente insaturado. Foram utilizados como base monografias, dissertações e teses que avaliaram a biometria, teor de óleo e perfil de ácidos graxos de sementes conforme Tabela 4 (SILVA, 1998; RUFINO, 2007; BARBOSA, 2008; COUTINHO, 2013). Para a escolha das espécies com potencial alimentício, além dos dados referentes à fração lipídica, foram levantados na literatura espécies com potencial alimentício etnobotânico comprovado na literatura (Figura 2; Tabela 4.).



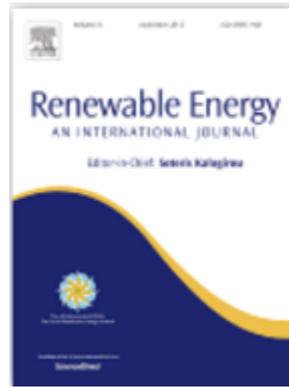
Figura 2. Frutos e sementes das espécies analisadas. Fruto e semente de *Rauwolfia grandiflora* (1 –2); *Tabernaemontana flavicans* (3-4), frutos de *Bactris acanthocarpa* (5); *Desmoncus polyacanthos* (6); *Syagrus cearensis* (7); *Syagrus romanzoffiana* (8); *Protium heptaphyllum* (9); frutos e sementes de *Clusia nemorosa* (10); frutos de *Couepia rufa* (11); *Licania tomentosa* (12), *Actinostemon concolor* (13); sementes de *Croton floribundus* (14); frutos de *Sapium glandulosum* (15); frutos e sementes de *Basiloxylon brasiliensis* (16); frutos de *Ceiba pentandra* (17); *Eugenia dysenterica* (18); *Eugenia florida* (19); *Eugenia pyriformis* (20); *Myrcia splendens* (21);

Tabela 4. Lista de espécies selecionadas neste estudo para análise da composição química.

Família/Espécie	Referência	ANÁLISE QUÍMICA
APOCYNACEAE		
<i>Rauwolfia grandiflora</i> Mart. ex A. DC.	Coutinho (2013)	Ácidos graxos e carotenóides
<i>Tabernaemontana flavicans</i> Willd. ex Roem. & Schult.	Coutinho (2013)	Ácidos graxos e carotenóides
ARECACEAE		
<i>Bactris acanthocarpa</i> Mart.	Barbosa (2008)	Teor de óleo
<i>Desmoncus polyacanthos</i> Mart.	Rocha e Silva (2005)	Ácidos graxos e carotenóides
<i>Syagrus cearensis</i> Noblick	Rufino (2007)	Ácidos graxos e carotenóides
<i>Syagrus romanzoffiana</i> (Cham.) Glassman	Rufino (2007)	Ácidos graxos e carotenóides
Burseraceae		
<i>Protium heptaphyllum</i>	Barbosa (2008)	Teor de óleo
CLUSIACEAE		
<i>Clusia nemorosa</i> G.Mey.	Coutinho (2013)	Ácidos graxos e carotenóides
<i>Clusia paralicola</i> G. Mariz	Coutinho (2013)	Ácidos graxos e carotenóides
<i>Tovomita brevistaminea</i> Engl.	Coutinho (2013)	Ácidos graxos e carotenóides
CHRYSOBALANACEAE		
<i>Couepia rufa</i> Ducke	Barbosa (2008)	Teor de óleo
<i>Licania tomentosa</i> Kuntze	Barbosa (2008)	Teor de óleo
EUPHORBIACEAE		
<i>Actinostemon concolor</i> (Spreng.) Müll.Arg.	Coutinho (2013)	Ácidos graxos e carotenóides
<i>Croton floribundus</i> Spreng.	Silva (1998), Coutinho (2013)	Ácidos graxos e carotenóides
<i>Croton nepetifolius</i> Baill.	Coutinho (2013)	Ácidos graxos e carotenóides
<i>Euphorbia comosa</i> Vell.	Coutinho (2013)	Ácidos graxos e carotenóides
<i>Microstachys corniculata</i> Juss.	Coutinho (2013)	Ácidos graxos e carotenóides
<i>Sapium glandulosum</i> (L.) Morong	Silva (1998), Coutinho (2013)	Ácidos graxos
<i>Stillingia trapezoidea</i> Ule	Silva (1998), Coutinho (2013)	Ácidos graxos e carotenóides
MALVACEAE		
<i>Basiloxylon brasiliensis</i> (Allemão) K. Schum.	Coutinho (2013)	Ácidos graxos e carotenóides
<i>Ceiba pentandra</i> (L.) Gaertn.	Coutinho (2013)	Ácidos graxos e carotenóides
<i>Christiana africana</i> DC.	Coutinho (2013)	Ácidos graxos e carotenóides
<i>Sterculia excelsa</i> Mart.	Coutinho (2013)	Ácidos graxos e carotenóides
MENISPERMACEAE		
<i>Cissampelos andromorpha</i> DC.	Coutinho (2013)	Ácidos graxos e carotenóides
MYRTACEAE		
<i>Eugenia dysenterica</i> DC	Lamarca et al., (2013)	Composição de fenólicos
<i>Eugenia florida</i> DC.	Lamarca et al., (2013)	Composição de fenólicos
<i>Eugenia pyriformis</i> Cambess.	Lamarca et al., (2013)	Composição de fenólicos
<i>Myrcia splendens</i> DC.	Lamarca et al., (2013)	Composição de fenólicos
Sapindaceae		
<i>Serjania caracasana</i>	Coutinho (2013)	Ácidos graxos e carotenóides
<i>Serjania salzmanniana</i>	Coutinho (2013)	Ácidos graxos e carotenóides

Esses trabalhos foram as primeiras investigações a nível químico de frutos e sementes das espécies selecionadas para estudo, entretanto, com poucas análises e enfoque fitoquímico limitado, o que demonstra o possível potencial para maiores investigações do perfil químico nessas espécies.

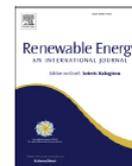
3 ARTIGO 1



Qualis: B1 na área de Biodiversidade

Fator de Impacto: 3.404

Manuscrito publicado no periódico *Renewable Ernergy*



Biodiesel potential of the seed oils from some Brazilian native Euphorbiaceae species



Diogenes J. Gusmão Coutinho^a, Mariana O. Barbosa^a, Renata J. Carvalho de Souza^b, Adervando Sebastião da Silva^c, Suzene I. da Silva^d, Antonio Fernando M. de Oliveira^{a,*}

^a Department of Botany, Federal University of Pernambuco, Av. Prof. Moraes Rego s/n, Cidade Universitária, 50.670-901, Recife, PE, Brazil

^b Department of Nuclear Energy, Federal University of Pernambuco, Av. Prof. Luís Freire, Cidade Universitária, 50.740-540, Recife, PE, Brazil

^c Department of Chemistry, Federal University of Paraíba, 58059-900, João Pessoa, PB, Brazil

^d Department of Biology, Federal Rural University of Pernambuco, Av. Dom Manoel de Medeiros s/n, Dois Irmãos, 52171-900 Recife, PE, Brazil

ARTICLE INFO

Article history:

Received 2 July 2015

Received in revised form

20 January 2016

Accepted 22 January 2016

Available online xxx

Keywords:

Azelaic acid

Biomass

Bioprospection

Dry forest

Oilseeds

Renewable energy

ABSTRACT

In the present study, the oil content, fatty acid composition and physicochemical properties of seed oils and biodiesel from seven species of Euphorbiaceae were analyzed. The oil content from seven Brazilian native Euphorbiaceae species ranged from 25.4 to 48.5%. Nine primarily unsaturated fatty acids were identified in seed oils. *Actinostemon concolor* and *Stillingia trapezoidea* seeds accumulated mainly oleic and linoleic acids, whereas in the seeds of *Croton floribundus*, *Croton nepetifolius*, *Euphorbia comosa* and *Microstachys corniculata*, linoleic and linolenic acids were the main constituents identified. Palmitic and oleic acids were predominantly detected in the seeds of *Sapium glandulosum*. In general, the oils showed low acidity, viscosity and free fatty acids. The results suggest that the seed oils from *A. concolor*, *S. glandulosum* and *S. trapezoidea* might be a viable alternative for biodiesel production, while those from *C. floribundus*, *C. nepetifolius*, *E. comosa* and *M. corniculata* seeds have great potential for application in the paint, varnish and lubricant industries. Due to the high content of saturated fatty acids, the seeds of *S. glandulosum* could also be used to produce soaps and detergents. For most species analyzed, the biodiesel specifications are in accordance with EN 14214 and ASTM D6751 standards.

© 2016 Elsevier Ltd. All rights reserved.

1. Introduction

The bioprospecting of plant species with potential oilseeds has increased, as plant lipids have unique chemical properties, facilitating the use of these organisms in various sectors of industry [1]. Most of the vegetable oils produced worldwide are used in foods such as margarines, preservatives, emulsifiers and oils for frying [2], but these oils could also be transformed into non-edible products, such as soaps, detergents, cosmetics, pharmaceuticals, adhesives, resins, lubricants, fuels, paints and varnishes [3,4].

In Brazil, some plant species have great potential for the cultivation and production of fuel oil. For example, soy (*Glycine max* (L.) Merrill) is available in the Southern, Southeast and Mid-west regions of Brazil [5], while palm oil (*Elaeis guineensis* Jacq.), licuri (*Syagrus coronata* (Mart.) Becc.) and babassu (*Orbignya phalerata* Mart.) are more suitable in the Northern region of Brazil

[6,7]. In the Northeast region, with a predominantly semi-arid climate, castor bean (*Ricinus communis* L.), jatropha (*Jatropha curcas* L.) and milkweed (*Calotropis procera* (Aiton) W. T. Aiton) are common [8–10]. However, many of these species are sources of edible oils, generating consumer pressure and an increase in market price [11], thus promoting interest in alternatives for the production of biodiesel crops.

Among the various families of plants as potential sources of oil, the Euphorbiaceae family stands out, reflecting the high diversity of species in different Brazilian ecosystems. In Caatinga, for example, a Brazilian Tropical Dry Forest, Euphorbiaceae *sensu lato* represents the third largest family with 165 described species, of which 17 species are endemic [12–14]. Despite the diversity of tropical environments, literature on the economic potential of native species as alternative oil resources is sparse, particularly for species from the Caatinga and the Atlantic Forest areas of Northeast Brazil. In addition, species that occur in Atlantic and Dry Forests of Brazil are constantly threatened by human action such as fires, goats and cattle grazing, and urbanization. Thus, is very

* Corresponding author.

E-mail address: afmoliveira@gmail.com (A.F.M. Oliveira).

importance bioprospecting studies combined with conservation of native species.

Chemically, Euphorbiaceae seed oils contain unusual fatty acids and high concentrations of unsaturated fatty acids [2]. High levels of non-edible oils have been identified in several Euphorbiaceae species, such as *Aleurites moluccana* (L.) Willd., *Croton adamantinus* Mull. Arg., *Euphorbia lagascae* Spreng., *J. curcas*, *Jatropha macrocarpa* Griseb., *R. communis* and *Sapium sebiferum* (L.) Roxb [2,15–18]. In contrast, most of the studies based on Euphorbiaceae has been addressing relations between oil content and fatty acid profile. Thus, there is a large gap with respect to the physical–chemical characteristics of the oil and biodiesel of several species.

In the present study, the oil content, fatty acid composition and physicochemical properties of seed oils and biodiesels from seven species of Euphorbiaceae present in the Caatinga and Atlantic Forest areas of Brazil were analyzed, and castor and jatropha oils were included for comparative purposes. To the best of our knowledge, in the present study, we provided the first description of the physicochemical properties of the oils of these species. Moreover, the oilseed potential and potential industrial applications for the seven species of Euphorbiaceae are also discussed.

2. Methods

2.1. Plant material and biometric characteristics of the seeds

Mature fruits and seeds were obtained from seven Brazilian native Euphorbiaceae species (*Actinostemon concolor* (Spreng.) Müll. Arg., *Croton floribundus* Spreng., *Croton nepetifolius* Baill., *Euphorbia comosa* Vell., *Microstachys corniculata* Juss., *Sapium glandulosum* (L.) Morong and *Stillingia trapezoidea* Ule). Fruits and seeds were collected between January and October 2013 from two localities at Pernambuco State, Northeastern Brazil. Collection site, geographic coordinates and biometric characteristics they are found (Table 1). A voucher species has been deposited at the Herbarium UFP at the Federal University of Pernambuco.

The length, width and thickness of 50 seeds from each species, including the caruncle, were measured using an electronic digital sliding caliper (Starrett Series 727, Athol, MA, USA) with an accuracy to 0.0005/0.01 mm. The weight of the seeds was determined from 50 samples using a precision balance (Mettler Toledo AG204, Inc., Hightstown, NJ, USA) to the nearest 0.0001 g. The mean weight of each individual seed was calculated based on the seed biomass, and the final mass was expressed in milligrams (mg) (Table 1).

2.2. Oil extraction and quantification

The seed samples were dried in an oven at 48 °C for 48 h. The oil was extracted using *n*-hexane (b.p. 68 °C) and a Soxhlet apparatus for 8 h. The solvent was evaporated in a rotary evaporator under reduced pressure and N₂ flow. The relative oil content was gravimetrically calculated using the equation:

$$\% \text{ oil content} = \frac{\text{weight of oil obtained (g)}}{\text{weight of sample (g)}} \times 100$$

The obtained oil percentage was used to estimate the amount of oil present in one seed based on biomass. The oil was stored at 4 °C until further analysis.

2.3. Fatty acid analyses

The oil hydrolysis and fatty acid analyses were performed according to [9]. Briefly, approximately 0.025 g of oil was subjected to alkaline hydrolysis in 1.5 mL of KOH (0.5 M) in methanol at 100 °C for 10 min, and the recovered fatty acids were methylated in 14% boron trifluoride in methanol (Sigma–Aldrich, St. Louis, Missouri, USA). The fatty acid methyl esters (FAME) were identified by gas chromatography coupled with mass spectrometry (GC/MS QP5050

Shimadzu, Kyoto, Japan), equipped with a DB-5 capillary column (5% diphenyl 95% dimethylpolysiloxane, 30 m × 0.25 mm × 0.25 μm, J & W Scientific, Folsom, CA, USA). The initial oven temperature was 150 °C, which was then ramped up by 4 °C/min to 280 °C and maintained at 280 °C for 15 min. The injector and detector temperatures were 250 and 290 °C, respectively. Helium was used as the carrier gas with a flow rate of 1 mL min⁻¹ and a 1:39 split. The methyl ester peaks were identified by retention time comparison with those of commercially available fatty acid methyl esters (FAME; Supelco™ mix C4–C24, Bellefonte, PA, USA) and by comparison with mass spectra in both the Wiley 229 database (Wiley, New York) and the NIST/EPA/NIH Mass Spectral Library (NIST 05). The relative amount of each FAME was calculated from the integrated area of each peak and expressed as a percentage of the total area of all peaks using a capillary gas chromatograph equipped with a flame ionization detector (GC-FID 17A, Shimadzu, Kyoto, Japan) in the same conditions described above [9].

2.4. Physicochemical properties of the oils

The density and kinematic viscosity of the oils were determined

Table 1

Collection environment, plant habit and biometric characteristics of the seeds of some Brazilian native Euphorbiaceae species.

Species	Popular name	Ecosystem/Site	Geographic coordinates	Seed dimensions (mm)			Seed mass (mg)
				Length	Width	Thickness	
<i>Actinostemon concolor</i>	Laranjeira-do-mato	Caatinga, Buique, Pernambuco state	S 07°59'63" W 34°56'34"	3.6 ^d ± 0.4	3.5 ^c ± 0.5	3.1 ^a ± 0.6	6.0 ^d ± 0.5
<i>Croton floribundus</i>	Capixinguí	Atlantic Forest, Recife Pernambuco state	S 7°59'15" W 34°56'39"	5.8 ^b ± 0.7	4.6 ^b ± 0.2	4.5 ^{ab} ± 0.3	58.0 ^a ± 0.4
<i>Croton nepetifolius</i>	Marmeleiro-branco	Caatinga, Buique, Pernambuco state	S 8°36'76" W 37°8'30"	2.4 ^e ± 0.2	2.4 ^d ± 0.3	1.5 ^d ± 0.3	4.0 ^d ± 0.3
<i>Euphorbia comosa</i>	Leiteira	Caatinga, Buique, Pernambuco state	S 8°37'35" W 37°8'70"	5.8 ^b ± 0.6	4.7 ^b ± 0.4	4.5 ^{ab} ± 0.4	32.0 ^b ± 0.5
<i>Microstachys corniculata</i>	Falso-guanxuma	Caatinga, Buique, Pernambuco state	S 8°37'59" W 37°10'42"	3.6 ^d ± 0.2	2.5 ^d ± 0.2	2.5 ^{ab} ± 0.3	6.0 ^d ± 0.2
<i>Sapium glandulosum</i>	Burra-leiteira	Atlantic Forest, Recife Pernambuco state	S 7°59'67" W 34°56'52"	7.4 ^a ± 0.5	5.8 ^a ± 0.6	4.9 ^a ± 0.5	52.0 ^a ± 0.5
<i>Stillingia trapezoidea</i>	Leiterinho	Caatinga, Buique, Pernambuco state	S 8°37'23" W 37°8'81"	4.7 ^c ± 0.4	3.6 ^c ± 0.2	4.5 ^{ab} ± 0.2	14.0 ^c ± 0.3

Different letters in the same column indicate significant differences among species ($p < 0.05$). Data are mean ± SD, $n = 50$ for all species.

at 15 and 40 °C, respectively, using an Anton Paar SVM 3000/G2 digital Stabinger viscometer, according to the American Society for Testing and Materials (ASTM) [19]. Acidity and refractive index were determined using the AOAC method no. 969.18 [20]. The percentage of free fatty acids (% FFA) was determined according to literature [16].

The saponification number (SN) and iodine value (IV) were calculated using equations (1) and (2), respectively [21]. The cetane number (CN) was calculated according to equation (3) [22].

$$SN = \frac{\sum (560 \times Ai)}{MWi} \quad (1)$$

$$IV = \frac{\sum (254 \times D \times Ai)}{MWi} \quad (2)$$

$$CN = 46.3 + \frac{5428}{SN} - 0.225 \times IV \quad (3)$$

Where: Ai is the percent of fatty acids; MWi is the molecular weight; D is the number of double bonds; and SN, IV and CN are saponification number, iodine value and cetane number, respectively. After the saponification and acid values were determined, the ester value was calculated from the difference between these values.

2.5. Transesterification of oil

Transesterification reactions were performed in 250 mL flasks equipped with reflux condensers and magnetic stirrers with connected thermometers. Prior to biodiesel production, the oils (30–100 g) were heated to 50 °C, followed by the addition of methanol (methanol/oil molar ratio 6:1) and H_2SO_4 (0.5% w/w oil). The acid catalysis was performed for 30 min at 60 °C. Subsequently, 1.0 wt.% KOH added and the mixture was reacted for 1 h (basic transesterification). After gravimetric separation in a funnel for 24 h, the upper layer (biodiesel) was collected for analysis and the lower phase (glycerol) was discarded. The residual catalyst comprising methanol and soap were removed through successive rinses until the washing water was neutral. The washed biodiesel was dried under anhydrous sodium sulfate and subsequently filtered under reduced pressure.

The biodiesel yield was calculated using the following equation:

$$\text{Biodiesel yield (wt.\%)} = \frac{\text{amount of FAME (g)} \times 100\%}{\text{amount of oil used (g)}}$$

2.6. Physicochemical properties of biodiesel

The main physicochemical properties (density, kinematic viscosity, flash point, cold filter plugging point, acidity value, refractive index, water, oxidative stability and total glycerin) of biodiesel were determined using the standard test methods according to ASTM D6751, EN 14214 and AOCs [19,20,23].

2.7. Statistical analyses

The oil content and fatty acid profile were analyzed using three different batches of seed samples. The data were analyzed using variance analyses (ANOVA) and Tukey's test. All significance tests were set at $p < 0.05$, and the statistics were analyzed using the Statistica software package ver. 8.0 (Statsoft Inc., Tulsa, USA).

3. Results and discussion

3.1. Weight, morphometry and seed oil content

In our study, the relative oil content ranged from 25.4% in *C. floribundus* to 48.5% in *C. nepetifolius*, but most species analyzed showed an average of 28% oil content and did not significantly differ (Table 2). Our findings also showed that the percentage of oil in all native species was higher than that in some traditional oil-seeds, such as soybean (18–20% oil), cotton (21%) and canola (24–27%) [3].

Although the oil amount is an important parameter to define oil-rich species for commercial purposes, other important parameters to be considered are the reproductive cycle, seed biomass and productivity. Oil-rich seeds with a modest biomass, such as *C. nepetifolius* (Table 1), are economically interesting only when the species has a short reproductive cycle and produces a large number of seeds. For example, traditional oilseeds, such as *Sesamum indicum* L. (sesame) and *Brassica napus* L. (rapeseed), have a biomass similar to that of *C. nepetifolius* seeds, but are highly productive.

Table 2
Oil content and fatty acid composition of the seeds of some Brazilian native Euphorbiaceae species.

Oil and fatty acids content (%)	Species						
	<i>Actinostemon concolor</i>	<i>Croton floribundus</i>	<i>Croton nepetifolius</i>	<i>Euphorbia comosa</i>	<i>Microstachys corniculata</i>	<i>Sapium glandulosum</i>	<i>Stillingia trapezoidea</i>
Relative oil content	27.9 ^b ± 1.1	25.4 ^b ± 1.6	48.5 ^a ± 2.7	31.0 ^b ± 1.7	28.2 ^b ± 2.0	43.5 ^a ± 1.4	27.9 ^b ± 0.9
Azelaic (9:0)	–	–	–	4.1 ^a ± 0.2	3.3 ^b ± 0.1	0.7 ^c ± 0.1	–
Lauric (12:0)	–	–	–	–	–	2.8 ± 0.3	–
Palmitic (16:0)	5.6 ^c ± 0.1	4.7 ^c ± 0.2	5.6 ^c ± 0.1	5.9 ^c ± 0.1	5.9 ^c ± 0.1	56.8 ^a ± 0.4	–
Stearic (18:0)	22.5 ^a ± 0.3	2.6 ^{de} ± 0.2	3.4 ^{cd} ± 0.1	2.3 ^e ± 0.1	3.7 ^{cd} ± 0.5	6.3 ^b ± 0.2	4.1 ^c ± 0.1
Arachidic (20:0)	1.0 ± 0.1	–	–	–	–	–	–
Total saturated	29.2	7.3	9.0	8.2	9.6	65.9	12.9
Oleic (18:1)	45.9 ^b ± 0.3	–	–	–	–	22.5 ^c ± 0.1	62.3 ^a ± 0.1
Eicosenoic (20:1)	–	1.0 ± 0.1	–	2.5 ± 0.1	–	–	–
Total monounsaturated	45.9	1.0	–	2.5	–	22.5	62.3
Linoleic (18:2)	24.0 ^c ± 0.2	49.7 ^a ± 0.3	36.9 ^b ± 0.2	14.8 ^e ± 0.1	18.4 ^d ± 0.1	3.4 ^f ± 0.3	24.7 ^c ± 0.1
Linolenic (18:3)	–	39.5 ^d ± 1.2	53.0 ^c ± 0.1	70.4 ^a ± 0.1	68.7 ^b ± 0.1	1.7 ^e ± 0.1	–
Total polyunsaturated	24.0	89.2	89.9	85.2	87.1	5.1	24.7
Other fatty acids	–	2.5	1.1	–	–	5.6	–
Total unsaturated	69.9	90.2	89.9	87.7	87.1	27.8	87.0
Unsat/sat (ratio)	2.4	12.3	10.0	10.7	9.1	0.4	6.7

Different letters within a same line indicate significant differences among species ($p < 0.05$). All data reported here are arithmetic means of triplicate assays ± SD. – = not detected (lower than 0.1%).

Table 3
Physicochemical properties of the seed oils of some Brazilian native Euphorbiaceae species.

Physicochemical property	Species						
	Ac	Cf	Cn	Ec	Mc	Sg	St
Density at 15 °C (kg m ⁻³)	905	908	905	902	906	894	907
Kinematic viscosity at 40 °C (mm ² s ⁻¹)	3.1	3.1	3.2	3.2	3.3	3.7	3.1
Acidity value (mg KOH g ⁻¹)	1.28	3.36	1.39	2.37	2.94	11.63	1.08
Refractive index at 40 °C	1.4512	1.4664	1.4723	1.5163	1.4984	1.3123	1.4645
Iodine value [g I ₂ (100 g ⁻¹ oil)]	84.7	198.9	211.9	221.5	221.3	12.8	100.8
Cetane number	54.9	29.4	26.0	25.7	27.4	70.7	51.2
Saponification value (mg KOH g ⁻¹)	197.4	195.8	199.2	193.1	199.5	199.5	198.2
Free fatty acid (% as oleic acid)	0.64	1.68	0.69	1.18	1.47	5.81	0.54
Ester value (mg KOH g ⁻¹)	196.1	194.4	197.8	191.7	197.5	187.8	197.1
Linolenic acid [% (m/m)]	–	39.5	53.0	70.4	68.7	1.7	–

Species: Ac = *Actinostemon concolor*, Cf = *Croton floribundus*, Cn = *Croton nepetifolius*, Ec = *Euphorbia comosa*, Mc = *Microstachys corniculata*, Sg = *Sapium glandulosum* and St = *Stillingia trapezoidea*, – = not detected (lower than 0.1%).

Comparatively, the oil content of *C. nepetifolius* seeds is similar to that in seeds of other native species of the genus *Croton*, such as *Croton tiglium* with 45% oil [15], *C. adamantinus* with 37.1% oil [2], *Croton moritibensis* with 32.5%, *Croton mucronifolius* with 35.9%, *Croton pulegioides* with 36.8%, *Croton siderophyllus* with 37% [10], and *Croton gracilis* with 29% oil [24]. Because *Croton* species have oil-rich seeds, further studies on the biology of growth and productivity are needed for this species. In Caatinga alone, there are approximately 70 species of *Croton* [24].

3.2. Fatty acid profiles

Nine primarily unsaturated fatty acids were identified from seed oils (Table 2), a typical profile for the Euphorbiaceae family [2,10,15,17,25]. Polyunsaturated fatty acids were predominantly identified in four species: *C. nepetifolius* (89.9%), *C. floribundus* (89.2%), *M. corniculata* (87.1%) and *E. comosa* (85.2%). *E. comosa* and *M. corniculata* seeds, for example, showed 30% oil on average, 70% of which was linolenic acid. Linoleic acid was predominant in *C. floribundus* (49.7%) and *C. nepetifolius* (36.9%) seed oils (Table 2).

Monounsaturated acids were detected in high quantities in seed oils from *S. trapezoidea* (62.3%) and *A. concolor* (45.9%). Only the seeds of *S. glandulosum* predominantly accumulated saturated fatty acids (65.9%), primarily comprising palmitic acid (56.8%). Stearic acid was detected in moderate proportions in *A. concolor* (22.5%) seed oil. The seed oils of *S. trapezoidea* (62.3%) and *A. concolor* (45.9%) primarily contained oleic acid (Table 2).

Unlike other species, the seeds of *S. glandulosum* contained high levels of palmitic acid and moderate levels of oleic acid. The high content of palmitic acid in *S. glandulosum* seed oil was similar to that in *S. sebiferum* (L.) Roxb. The seeds of *S. sebiferum* have a waxy covering rich in palmitic acid (64.5%), while the kernel oil has 50% linolenic acid and 30% linoleic acid [26]. The seeds of *S. glandulosum* also have a sarcotesta [27], which likely contributes to the high content of palmitic acid. In contrast, the linolenic acid content was much lower than previously reported [18,26]. Due to the high content of palmitic acid from the waxy seed coat, *S. sebiferum* are used in the manufacture of candles and soap [18], and the abundance of palmitic acid in *S. glandulosum* also accounts for the use of this species for the same purposes.

In according to several authors, Euphorbiaceae seed oils contain epoxy, hydroxyl and other unusual fatty acids [28–32]. From an analytical point of view, it is known that epoxy and hydroxyl acids could be totally or partially decomposed during preparation of methyl esters (e.g. methylation with BF₃) [33]. In addition, hydroxyl fatty acids have a higher retention time than common fatty acids [34]. Although in the present study we did not detect any epoxy and hydroxyl acids, this result should not be viewed as conclusive.

Opportunately we shall clarify this analysis using ISO method that is carried out in basic medium and does not require heating [33]. Until new data will be available about the presence of these uncommon fatty acids, we do not recommend the use of these seed oils for food purpose.

In our study, azelaic acid (1,9-nonanedioic acid), a uncommon dicarboxylic saturated fatty acid was identified in the oil of *E. comosa*, *M. corniculata* and *Sapium glandulosum* (Table 2). Azelaic acid has been previously found in the seed oils of other Euphorbiaceae species such as *J. curcas* [35], *Croton jacobinensis*, *Croton sonderianus*, *Jatropha mollissima*, *Jatropha ribifolia* and *S. glandulosum* [10]. In according to some authors, seed oils containing azelaic acid have wide industrial importance, for example, biodiesel, lubricant additives, stabilizers, protective coatings, dispersants, textiles, pharmaceuticals and other industrial purposes [36–39].

3.3. Physicochemical properties of seed oils

The physicochemical properties of Euphorbiaceae seed oils are shown in Table 3. The density of the oils ranged from 894 to 908 kg m⁻³, and the lowest value was detected in *S. glandulosum*. This species also showed the lowest values for refractive index (1.31), iodine (12.8 g I₂ 100 g⁻¹), ester (187.8 mg KOH g⁻¹), FFA (5.81%) and linolenic acid (1.7%). In contrast, *S. glandulosum* showed higher values for kinematic viscosity (3.7 mm² s⁻¹), acidity index (11.63 mg KOH g⁻¹) and cetane number (70.7). The saponification index was high (from 193.1 to 199.5 mg KOH g⁻¹) and similar among the species analyzed (Table 3).

In the present study, the density values of the obtained seed oils were lower than those reported for castor bean (937 kg m⁻³) and *Jatropha* (913 kg m⁻³), plant species used as feedstock for biodiesel [40,41]. Nevertheless, except for *S. glandulosum*, these values were the highest observed. Species desirable for the biofuel industry have low-density values [7]. According to [3], the density is higher when the oil is more highly unsaturated. Among the studied species, the seeds of *S. glandulosum* showed lower density oils (894 kg m⁻³), likely associated with the higher percentage of saturated fatty acids. Similar density values were observed for the seed oils of *Sterculia striata* and *Syagrus romanzoffiana* (Cham.) Glassman, species with more saturated fatty acids [1,11]. In contrast, the seeds of *C. floribundus* had a higher content of unsaturated fatty acids and thus higher density oils. The viscosity value calculated for *S. glandulosum* seed oil (3.7 mm² s⁻¹) was similar to those reported for palm and *Terminalia catappa* L., species with a high content of palmitic acid [42].

The acidity index for most species ranged from 1.08 to 3.36 mg KOH g⁻¹. The oil of *S. glandulosum* presented a high value (11.63 mg

KOH g⁻¹). The acidity index values were slightly higher than the limits set for refined oils (less than 1 mg KOH g⁻¹ of oil). This index was also similar to that in some palm feedstocks for biodiesel, such as *S. romanzoffiana* (1.80 mg KOH g⁻¹ of oil) [12] and *Sapium coronate* (1.4 mg KOH g⁻¹ of oil) [7], and lower than that in some traditional oilseeds, such as castor bean (4.9 mg KOH g⁻¹ of oil) and jatropha (4.77 mg KOH g⁻¹ of oil) [40,41].

The iodine value measures the unsaturation of oils and fats, thus the iodine value is directly associated with the degree of unsaturation [16]. The iodine value is also associated with the viscosity and cetane number. Although, the iodine value did not correlate well with oxidative stability, some biodiesel fuel standards specify an upper limit. The maximum iodine value specified by the European standard (EN 14214) is up to 120 g I₂ 100 g⁻¹. In contrast, the ASTM D6751 does not specify an iodine value. Thus, *S. glandulosum* and *A. concolor* showed iodine values within the European standard. Highly unsaturated oils have limited use as biofuels because the heating of the unsaturated fatty acids results in glyceride polymerization, most likely resulting in the formation of precipitates and the deterioration of lubricant [43]. Thus, the seed oil from *S. glandulosum*, rich in saturated fatty acids, is more appropriate. Nevertheless, other species with profiles showing predominantly unsaturated acids (for example, oleic, linoleic and linolenic acids) have been categorized as drying oils [16] suitable for use in cosmetics, paints, varnishes and lubricants [16,43].

Higher cetane numbers indicate better ignition and cold starting, with minimal smoke formation [13]. High cetane values are primarily observed in the esters of saturated fatty acids, such as palmitic and stearic acid, and monounsaturated fatty acids, such as oleic and eicosenoic acids [15,44]. Among the species analyzed, *S. glandulosum*, *A. concolor* and *S. trapezoidea* contained oils with high cetane numbers (Table 3), particularly *S. glandulosum*, reflecting the high concentration of saturated fatty acids (Table 2).

Although there are no limits specified for the saponification value, this parameter is an indirect measure of molecular average weight of fatty acids [44]. The saponification values observed in the present study are the usual ones for vegetable oils and were slightly higher than those reported for castor bean and jatropha (182.9 and 194.7 mg KOH g⁻¹), respectively [40,41].

The ester content represents the number of milligrams of potassium hydroxide required to saponify the esters present in 1 g of oil. This value is a measure of the amount of glyceride present in a sample of oil. In the species analyzed, the ester values were higher than those for castor bean [40,41].

According to the standard EN 14214, the linoleic acid content for use as biodiesel must be a maximum of 12%. Heating biodiesel fuel containing high levels of linoleic acid results in the polymerization of glycerides, leading to precipitate formation, lubricant deterioration and the reduced stability of stored biodiesel [44]. Only three

species (*A. concolor*, *S. glandulosum* and *S. trapezoidea*) had a linoleic acid content within the established limit (Table 3).

The refractive index is proportional to the carbon number and degree of fatty acid unsaturation [44]. The refractive index has great utility in the control of hydrogenation and is widely used as a criterion for the quality and identity of oils [44]. The values for refractive indices in the species analyzed are similar to those reported for castor and jatropha [40,41].

According to Regulations on Edible Oils [45], unrefined seed oils may contain up to 3.0% of FFA. According to these regulations, the FFA values for the species studied are within limits for use as biodiesel, except to *S. glandulosum*.

3.4. Fuel properties of the biodiesel

The physicochemical properties of Euphorbiaceae oil for biodiesels are shown in Table 4, and these values were compared with the specifications of the American Society for Testing and Materials (ASTM D675) and European Committee for Standardization (EN 14214). Besides physicochemical properties of seed oils and biodiesels from native Euphorbiaceae, were analyzed for comparative purposes the castor and jatropha seed oils. Our results showed that the biodiesel yield ranged from 90.4 to 97.9 wt.% and in some cases was higher than that for traditional oilseeds, such as castor beans (78.4 wt.%) and jatropha (91.5 wt.%) (Table 4). Our findings also were similar to those reported to soybean (95%) and drumstick tree (96.8%) [46], to cotton (96.9%) [47], to jatropha (85.1% at 90.0%) [48] and to *R. communis* (86.6%) and *Euphorbia lathyris* (91.1%) [32]. The ester conversion rates were well above the minimum percentage required by EN 14214 (Table 4).

The density of the biodiesel ranged from 862 to 884 kg m⁻³, and the lowest value was observed for *S. glandulosum*. According to the standard EN 14214, the density values should range from 860 to 900 kg m⁻³. The viscosity values calculated in the present study for biodiesel species are within the limits established by EN 14214 and ASTM D6751 (Table 4). Viscosity is an important parameter for biodiesel quality because this value affects the optimization of fuel after injection into the combustion chamber. High viscosity values increase the formation of precipitates in the engine [1].

The acid value, directly related to the storage of biodiesel [11], was relatively low in the oils and biodiesel. For native species, the acidity of the biodiesel ranged from 0.22 to 0.55 mg KOH g⁻¹, consistent with the limits established for biodiesel (EN 14214 and ASTM D6751), except castor biodiesel (0.80 mg KOH g⁻¹). The monitoring of both water and acidity contents is required to prevent corrosion and sediment deposition in tanks.

The biodiesel from Euphorbiaceae species exhibited good values for flash point (above 136 °C), cold filter plugging point (15 to -6 °C), water (290–450 mg kg⁻¹) and total glycerin (0.12–0.25%

Table 4
Biodiesel yield and physicochemical properties of some Brazilian native Euphorbiaceae species compared with *Jatropha curcas* and *Ricinus communis*.

Physicochemical property	Species										Biodiesel specifications	
	Ac	Cf	Cn	Ec	Mc	Sg	St	Rc	Jc	ASTM D6751	EN 14214	
Biodiesel yield (wt.%)	90.4	96.1	96.8	93.4	93.7	97.9	94.6	78.4	91.5	–	–	
Density at 15 °C (kg m ⁻³)	878	882	880	867	879	862	884	915	885	–	860–900	
Kinematic viscosity at 40 °C (mm ² s ⁻¹)	2.8	2.7	3.0	3.1	2.9	3.5	2.7	9.2	5.1	1.9–6.0	3.5–5.0	
Flash point (°C)	140	136	154	161	143	155	148	178	142	130 (min.)	101 (min.)	
Cold filter plugging point (°C)	5	-2	-6	-1	-4	14	-2	-15	1	–	–	
Acidity value (mg KOH g ⁻¹)	0.28	0.31	0.35	0.33	0.29	0.55	0.22	0.80	0.46	0.50 (max.)	0.50 (max.)	
Water (mg kg ⁻¹)	290	321	283	450	347	423	411	439	265	–	500 (max.)	
Oxidative stability (h; 110 °C)	3.9	4.7	4.3	4.1	5.8	5.3	4.3	2.6	3.4	3.0 (min.)	6.0 (min.)	
Total glycerin (% mass)	n.d	n.d	0.12	0.21	n.d	n.d	n.d	0.25	n.d	0.24 (max.)	0.25 (max.)	

Species: Ac = *Actinostemon concolor*, Cf = *Croton floribundus*, Cn = *Croton nepetifolius*, Ec = *Euphorbia comosa*, Mc = *Microstachys corniculata*, Sg = *Sapium glandulosum*, St = *Stillingia trapezoidea*, Rc = *Ricinus communis* and Jc = *Jatropha curcas*, n.d = not detected (lower than 0.1%), – = not specified limit or not required.

mass) (Table 4). Biodiesel with a higher flash point possesses the benefit of higher safety for transportation. The water content in biodiesel was within limits consistent with EN 14214 and ASTM D6751. The biodiesel with a low percentage of water tends to have less oxidation, corrosion and microbial growth [49].

Oxidative stability was determined according to the Rancimat method (EN 14112), from which the induction period (IP) ranged from 3.9 to 5.8 h. The IP values were lower than the values specified by EN 14214 (6 h); however, these values were higher compared with ASTM D6751 (3 h). The values for IP found in the present studies might reflect the high linoleic acid content observed in Euphorbiaceae oil (Table 2). However, the addition of antioxidants might increase the IP [50].

The cold-filter plugging point (CFPP) is a critical parameter for diesel engine performance. CFPP causes a plug in the filter, reflecting crystallization or gelation [51]. However, the EN 14214 standard sets limits depending on climate; thus, two options are available, depending on seasonal classes (summer and winter). In the present study, a markedly low CFPP value was detected for *C. nepetifolius* oil (−4, Table 4), demonstrating the possibility of using this biofuel, even in temperate regions. The oils from *A. concolor* and *S. glandulosum* presented, respectively, 15 and 5 CFPP. These results were consistent with the properties of biodiesel from species with high concentrations of saturated fatty acids. Indeed, saturated fatty acids, such as palmitic and stearic acid, for example, contribute to a high CFPP [6].

4. Conclusion

The analyzed seeds have moderate to high oil content, facilitating the commercial exploitation of these plants. The seeds of *A. concolor*, *S. glandulosum* and *S. trapezoidea* might be a viable alternative for the production of biodiesel. The seed oils and biodiesel from *C. floribundus*, *C. nepetifolius*, *E. comosa* and *M. corniculata* exhibit physicochemical properties that indicate suitability for the oleochemical industry, as potential feedstock for the manufacture of paints, varnishes and lubricants. The parameters analyzed for biodiesel species are consistent with the EN 14214 and ASTM D6751 standards, and in some cases, are better compared with traditional oilseeds, such as castor bean and jatropha. All species have non-edible oils and thus would not directly compete with other oilseed feeds. On the other hand, because they are native species, further studies are needed for a better understanding of their productivity.

Acknowledgments

The authors would like to thank CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, Brasília, Brazil) for awarding a postgraduate scholarship to the first author.

References

- [1] M.B.P. Mangas, F.N. Rocha, P.A.Z. Suarez, S.M.P. Meneghetti, D.C. Barbosa, R.B. Santos, S.H.V. Carvalho, J.I. Soletti, Characterization of biodiesel and bio-oil from *Sterculia striata* (chicha) oil, *Ind. Crop Prod.* 1 (2012) 349–354.
- [2] R.S. Pinho, A.F.M. Oliveira, S.I. Silva, Potential oilseed crops from the semiarid region of northeastern Brazil, *Bioresour. Technol.* 2 (2009) 6114–6117.
- [3] F.D. Gunstone, *Fatty Acid and Lipid Chemistry*, first ed., Blackie Academic & Professional, New York, 1996.
- [4] M.A.S. Mayworm, A.S. Nascimento, A. Salatino, Seeds of species from the "caatinga": proteins, oils and fatty acid contents, *Braz. J. Bot.* 1 (1998) 299–303.
- [5] R.A. Candeia, M.C.D. Silva, J.R. Carvalho Filho, M.G.A. Brasilino, T.C. Bicudo, I.M.G. Santos, et al., Influence of soybean biodiesel content on basic properties of biodiesel–diesel blends, *Fuel* 1 (2009) 738–743.
- [6] J.C. Arbolea, M.J. Ridout, P.J. Wilde, Rheological behavior of aerated palm kernel oil/water emulsions, *Food Hydrocoll.* 2 (2009) 1358–1365.
- [7] K.T.S.L. La Salles, S.M.P. Meneghetti, W.F. La Salles, M.R. Meneghetti, I.C.F. Santos, J.P.V. Silva, et al., Characterization of *Syagrus coronata* (Mart.) Becc. oil and properties of methyl esters for use as biodiesel, *Ind. Crop Prod.* 1 (2010) 518–521.
- [8] R.M.C. Farias, M.M. Conceição, R.A. Candeia, M.C.D. Silva, W.J. Fernandes Jr., A.G. Souza, Evaluation of the thermal stability of biodiesel blends of castor oil and passion fruit, *J. Therm. Anal. Calorim.* 2 (2011) 651–655.
- [9] M.O. Barbosa, J.S. Almeida-Cortéz, S.I. Silva, A.F.M. Oliveira, Seed oil content and fatty acid composition from different populations of *Calotropis procera* (Aiton) W. T. Aiton (Apocynaceae), *J. Am. Oil Chem. Soc.* 21 (2014) 1433–1441.
- [10] S.I. Silva, A.F.M. Oliveira, G. Negri, A. Salatino, Seed oils of Euphorbiaceae from the Caatinga, a Brazilian tropical dry forest, *Biomass Bioenergy* 2 (2014) 124–134.
- [11] M.A.C. Moreira, M.E.P. Arrúa, A.C. Antunes, T.E.R. Fiúza, B.J. Costa, P.H.W. Neto, S.R.M. Antunes, Characterization of *Syagrus romanzoffiana* oil aiming at biodiesel production, *Ind. Crop Prod.* 3 (2013) 57–60.
- [12] A.M. Giulietti, R.M. Harley, L.P. Queiroz, M.R.V. Barbosa, A.L. Bocage Neta, M.A. Figueiredo, Espécies endêmicas da caatinga, in: E.V.S.B. Sampaio, A.M. Giulietti, J. Virgílio, C.F.L. Gamarra-Rojas (Eds.), *Vegetação e flora da caatinga*, Associação de Plantas do Nordeste, Recife, 2002, pp. 103–115.
- [13] E.V.S.B. Sampaio, A.M. Giulietti, J. Virgílio, C.F.L. Gamarra-Rojas, *Vegetação e flora da caatinga*, Associação Plantas do Nordeste, Recife, 2002.
- [14] I. Cordeiro, D.S. Carneiro-Torres, Euphorbiaceae, in: A.M. Giulietti, A.A. Conceição, L.P. Queiroz (Eds.), *Diversidade e caracterização das fanerógamas do semiárido brasileiro*, Associação Plantas do Nordeste, Recife, 2006, pp. 106–116.
- [15] M. Azam, A. Waris, N.M. Nahar, Prospects and potential of fatty acid methyl esters of some non-traditional seed oils for use as biodiesel in India, *Biomass Bioenergy* 1 (2005) 293–302.
- [16] E. Akbar, Z. Yaakob, S.K. Kamarudin, M. Ismail, J. Salimon, Characteristic and composition of *Jatropha curcas* oil seed from Malaysia and its potential as biodiesel feedstock, *Eur. J. Sci. Res.* 29 (2009) 396–403.
- [17] A. Aranda-Rickert, L. Morzán, S. Fracchia, Seed oil content and fatty acid profiles of five Euphorbiaceae species from arid regions in Argentina with potential as biodiesel source, *Seed Sci. Res.* 2 (2011) 63–68.
- [18] R. Wang, M.A. Hanna, W. Zhou, P.S. Bhadury, Q. Chen, B. Song, S. Yang, Production and selected fuel properties of biodiesel from promising non-edible oils: *Euphorbia lathyris* L., *Sapium sebiferum* L. and *Jatropha curcas* L., *Bioresour. Technol.* 2 (2011) 1194–1199.
- [19] ASTM. American Society for Testing and Materials, D6751 Standard Specification for Biodiesel Fuel Blend Stock (B100) for Middle Distillate Fuels, ASTM, West Conshohocken, PA, 2012.
- [20] AOAC. Association of Official Analytical Chemists, AOAC Official Methods of Analysis, AOAC International, Arlington, VA, 1990.
- [21] P. Kalayasiri, N. Jayashke, K. Krisnangkura, Survey of seed oils for use as diesel fuels, *J. Am. Oil Chem. Soc.* 2 (1996) 471–474.
- [22] K. Krisnangkura, A simple method for estimation of Cetane index of vegetable oil methyl esters, *J. Am. Oil Chem. Soc.* 2 (1986) 552–553.
- [23] CEN. European Committee for Standardization, Brussels, Belgium, Standard EN 14214, Automotive Fuels E Fatty Acid Methyl Esters (FAME) for Diesel Engines e Requirements and Test Methods, 2008.
- [24] D.S. Carneiro-Torres, I. Cordeiro, A.M. Giulietti, P.E. Berry, R. Riina, Three new species of *Croton* (Euphorbiaceae s.s.) from the Brazilian Caatinga, *Brittonia* 1 (2011) 122–132.
- [25] R. Kleiman, C.R. Smith Jr., S.G. Yates, Q. Jones, Search for new industrial oils. XII. Fifty-eighth Euphorbiaceae oils, including one rich in vernolic acid, *J. Am. Oil Chem. Soc.* 1 (1965) 169–172.
- [26] M.Y. Raie, S. Zaka, S. Iqbal, A.W. Sabir, S.A. Khan, *Sapium sebiferum* oil and fat analysis by chromatographv, *Fett Wiss Technol.* 2 (1983) 359–362.
- [27] V.J. Santos, M.F. Sales, A tribo Hippomaneae A. Juss. ex Spach. (Euphorbiaceae Juss.) no estado de Pernambuco, *Bras. Acta Bot. Bras.* 3 (2009) 976–990.
- [28] M. Bafor, M. Smith, L. Jonsson, K. Stobart, S. Szymne, Biosynthesis of vernoleate (cis-12-epoxyoctadeca-cis-9- enoate) in microsomal preparations from developing endosperm of *Euphorbia lagascae*, *Arch. Biochem. Biophys.* 303 (1993) 145–151.
- [29] F.D. Gunstone, J.L.C. Harwood, F.B. Padley, *The Lipid Handbook*, second ed., Chapman & Hall, Chemical Database, London, Weinheim, New York, 1994.
- [30] V. Spitzer, K. Aitzetmuller, K. Vosmann, The seed oil of *Bernardia pulchella* (Euphorbiaceae) – a rich source of vernolic acid, *J. Am. Oil Chem. Soc.* 12 (1996) 1733–1735.
- [31] E. Bagci, Fatty acid and tocopherol patterns of two *Euphorbia* L. (Euphorbiaceae) species, *Int. J. Sci. Technol.* 2 (2007) 93–98.
- [32] N. Zapata, M. Vargas, J.G. Reyes, G. Belmar, Quality of biodiesel and press cake obtained from *Euphorbia lathyris*, *Brassica napus* and *Ricinus communis*, *Ind. Crop Prod.* 1 (2012) 1–5.
- [33] ISO 12966–2: Animal Vegetables Fats and Oils – Gas Chromatography of Fatty Acid Methyl Esters – Part 2: Preparation of Methyl Esters of Fatty Acids, 2012, p. 20.
- [34] F. Huang, C. Bao, M. Peng, G. Zhu, Z. He, X. Chen, R. Luo, Y. Zhao, Chromatographic analysis of fatty acid composition in differently sized seeds of castor accessions, *Biotechnol. Biotechnol. Equip.* 29 (2015) 892–900.
- [35] Y. Ma, J. Chun, S. Wang, F. Chen, Allelopathic potential of *Jatropha curcas*, *Afr. J. Biotechnol.* 10 (2011) 11932–11942.
- [36] J.D. Fontana, Biodiesel from uncommon fatty acids, *J. Chromatogr. Sci.* 47 (2009) 808–811.

- [37] S.K. Kariyappa, S.M. Ravindra, M.H. Kallappa, Unique occurrence of unusual fatty acid in the seed oil of *Aegle marmelos* Corre: screening the rich source of seed oil for bioenergy production, *Appl. Energy* 88 (2011) 1797–1802.
- [38] H.J. Nieschlag, W.H. Tallent, I.A. Wolff, Simplified preparation of a diester plasticizer from crambe seed oil, *Ind. Eng. Chem. Prod. Res. Dev.* 16 (1967) 101–107.
- [39] M. Nazzaroporro, S. Passi, M. Picardo, A. Breathnach, R. Clayton, G. Zina, Beneficial effect of 15-percent azelaic acid cream on acne vulgaris, *Br. J. Dermatol.* 109 (1983) 45–48.
- [40] B.S. Nayak, K.N. Patel, Physicochemical characterization of seed and seed oil of *Jatropha curcas* L. collected from Bardoli (South Gujarat), *Sains Malays.* 2 (2010) 951–955.
- [41] J. Salimon, D.A.M. Norr, A.T. Nazrizawati, M.Y. Firdaus, A. Noraishah, Fatty acid composition and physicochemical properties of Malaysian castor bean *Ricinus communis* L. seed oil, *Sains Malays.* 2 (2010) 761–764.
- [42] I.C.F. Santos, S.H.V. Carvalho, J.I. Solleti, W.F.L. Salles, K.T.S. Salles, S.M.P. Meneghetti, Studies of *Terminalia catappa* L. oil: characterization and biodiesel production, *Bioresour. Technol.* 2 (2008) 6545–6549.
- [43] E.T. Akintayo, Characteristics and composition of *Parkia biglobbosa* and *Jatropha curcas* oils and cakes, *Bioresour. Technol.* 1 (2004) 307–310.
- [44] M.J. Ramos, C.M. Fernández, A. Casas, L. Rodríguez, A. Pérez, Influence of fatty acid composition of raw materials on biodiesel properties, *Bioresour. Technol.* 1 (2009) 261–268.
- [45] REO. Regulations on Edible Oils, Official Gazette of the Republic of Slovenia, No. 56-2658/1999, 2003, pp. 7183–7186.
- [46] D.M. Fernandes, R.M.F. Souza, A. Oliveira, S.S.L. Morais, E.M. Richter, R.A.A. Munoz, *Moringa oleifera*: a potential source for production of biodiesel and antioxidant additives, *Fuel* 2 (2015) 75–80.
- [47] D.Y.C. Leung, X. Wu, M.K.H. Leung, A review on biodiesel production using catalyzed transesterification, *Appl. Energy* 2 (2010) 1083–1095.
- [48] H.J. Berchmans, S. Hirata, Biodiesel production from crude *Jatropha curcas* L. seed oil with a high content of free fatty acids, *Bioresour. Technol.* 1 (2008) 1716–1721.
- [49] U. Rashid, F. Anwar, G. Knothe, Biodiesel from milo (*Thespesia populnea* L.) seed oil, *Biomass Bioenergy* 3 (2011) 4034–4039.
- [50] S. Schober, M. Mittelbach, The impact of antioxidants on biodiesel oxidation stability, *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 2 (2004) 382–389.
- [51] G. Knothe, Dependence of biodiesel fuel properties on the structure of fatty acid alkyl esters, *Fuel Process Technol.* 86 (2005) 1059–1070.

4 ARTIGO 2



Qualis: B1

Fator de Impacto: 1.505

Manuscrito publicado no periódico *Journal of the American Oil Chemists'*

Society



Comparative Study of the Physicochemical Properties of FAME from Seed Oils of Some Native Species of Brazilian Atlantic Forest

Diogenes José Gusmão Coutinho¹ · Mariana Oliveira Barbosa¹ · Renata Janaína Carvalho de Souza² · Adervando Sebastião da Silva³ · Suzene Izídio da Silva⁴ · Antonio Fernando Morais de Oliveira¹

Received: 30 May 2016 / Revised: 12 September 2016 / Accepted: 17 September 2016
© AOCS 2016

Abstract The rapid decline in fossil fuel reserves in the world, rising oil prices, and growing concerns about the increase in pollutant gas emissions from this type of energy, have led to the exploration of new energy sources for the production of alternative fuels. The use of vegetable oils as a low-cost raw material for biodiesel production is an effective way to reduce biodiesel costs. This paper reports on the production and biodiesel properties of the seed oils of six native species belonging to different families of plants from the Atlantic Forest in northeast Brazil. The results are compared with those obtained from traditional crops such as soybean and olive. The relative oil content of the seeds ranged from 31.5 to 67.4 %, while the biodiesel yield from these oils ranged from 93.2 to 97.6 wt%. The fatty acid composition is mainly constituted of oleic acid in three species (*Cissampelos andromorpha*, *Rauwolfia grandiflora*, and *Tabernaemontana flavicans*), eicosenoic acid in two species (*Serjania caracasana* and *Serjania salzmanniana*) and palmitic acid in *Protium heptaphyllum*. The physicochemical parameters of oil (density, viscosity, % FFA, and % of linolenic acid) and biodiesel (density, viscosity, acid

number, copper strip corrosion, flash point, sulfur content, sulfated ash, water, oxidative stability, free and total glycerin) were in agreement with ASTM 6751 and EN 14214 standards. The fatty acid composition, biodiesel yield, oil, and biodiesel properties of the six native species studied demonstrate the high potential for producing alternative fuel in conventional diesel engines.

Keywords Biodiesel feedstocks · Bioenergy · Oilseeds · Fuel properties

Introduction

The indiscriminate extraction of fossil fuels has led to a shortage of conventional fuels and the rapid increase in the costs of oil products. Currently, the use of alternative motor fuels is seen as a good option for solving these problems, and they can be produced from locally available seed oils [1]. Biodiesel is a form of renewable energy and a promising alternative for replacing petroleum-based fuels. It can be derived from a variety of sources, including animal fats, biomass algae, and vegetable oils and is one of the most prominent feedstocks for the future [2].

In developing countries such as Brazil and India, which depend on crude oil imports, the production of fuels from biomass is a viable alternative that should be seriously considered. The use of a small amount of biodiesel already has a significant impact on the economy and environment and its rise can influence the rural economy, as the demand for vegetable oils will result in increased production in this area [3]. The use of raw materials from non-conventional plant species that have non-edible oils can reduce the cost of biodiesel production and increase supply, avoiding the use of traditional food species and competition with the food market [4].

✉ Antonio Fernando Morais de Oliveira
afmoliveira@gmail.com

¹ Department of Botany, Federal University of Pernambuco, Av. Prof. Moraes Rego s/n, Cidade Universitária, Recife, PE 50670-901, Brazil

² Department of Nuclear Energy, Federal University of Pernambuco, Av. Prof. Lúís Freire, Cidade Universitária, Recife, PE 50740-540, Brazil

³ Department of Chemistry, Federal University of Paraíba, João Pessoa, PB 58059-900, Brazil

⁴ Department of Biology, Federal Rural University of Pernambuco, Av. Dom Manoel de Medeiros s/n, Dois Irmãos, Recife, PE 52171-900, Brazil

In Brazil, some species are potentially useful for the production of biodiesel, such as castor beans, soybeans, jatropha, sunflower, cotton, palm oil and babassu [4]. In contrast, some of these species are also used in foodstuffs, primarily soy, sunflower, cotton, palm kernel, and babassu. The current challenge for the scientific community is the search for new potential oil varieties for inclusion in the biodiesel production chain, aiming for their use in consortium with other species already adapted to cultivation [3]. The use of native species for biodiesel production is advantageous since they are adapted to the local climate, soil and water availability conditions, which often hamper the cultivation of traditional oilseeds [5].

Some recent studies in the northeast of Brazil indicate some families as a source of non-conventional oils with the potential for biodiesel production, such as Euphorbiaceae, Sapindaceae, Malpighiaceae, and Celastraceae, especially from the Brazilian Tropical Dry Forest (=Caatinga) habitat that has suffered from anthropic pressure and desertification [3–5]. In addition to the Caatinga, typical species of the Brazilian Atlantic Forest are potentially useful as seed oil sources, such as *Croton floribundus* Spreng., (27.6 % oil content) and *Sapium glandulatum* (Vell.) Pax. (37.7 %) [2].

To the best of our knowledge, there have been very few studies regarding the oil properties and biodiesel production from the Brazilian Atlantic Forest. The Atlantic Forest area is distributed along the Brazilian coastline, and it has been shown to be a mosaic of fragments of various sizes

and shapes. The Forest hosts a total of 20,000 plant species, of which about 8000 are endemic, and is thus considered one of the 25 world hotspots [6].

Thus, this study aimed to determine the oil content and fatty acid profile, as well as the production of biodiesel and its physicochemical properties, of the seeds of six species native to the Atlantic Forest of northeastern Brazil, in order to evaluate the potential for production of alternative fuels from non-conventional species. In order to compare the physicochemical properties of biodiesel, our data have been confronted with data obtained from olive and soybean commercial oils.

Materials and Methods

Collection Area and Biometric Characteristics of Seeds

Seeds of *Rauwolfia grandiflora* Mart. ex A. DC. and *Tabernaemontana flavicans* Willd. ex Roem. & Schult. (Apocynaceae), *Protium heptaphyllum* Marchand (Burseraceae), *Cissampelos andromorpha* DC. (Menispermaceae), *Serjania caracasana* Willd., and *Serjania salzmanniana* Schltdl. (Sapindaceae) were obtained between January and October 2014 from four locations in Pernambuco State, northeastern Brazil. Collection site, geographic coordinates, and biometric characteristics are shown in Table 1. A voucher species has been deposited at the PEURF

Table 1 Habit, collection site, geographic coordinates, and biometric characteristics of the seeds of some species from Atlantic Forest of northeast Brazil (Pernambuco state, PE)

Family/Species	Voucher	Habit	Collection site	Geographic Coordinates	Seed dimensions (mm)*			
					Length	Width	Thickness	Mass (g)*
Apocynaceae								
<i>Rauwolfia grandiflora</i>	PEURF 50.238	Tree	Recife city (PE)	S7°59'46" W34°56'38"	21.8 ^a ± 0.7	8.5 ^a ± 0.6	4.7 ^b ± 0.4	6.7 ± 0.5
<i>Tabernaemontana flavicans</i>	PEURF 50.231	Tree	Camaragibe city (PE)	S7°57'69" W35°1'72"	14.2 ^c ± 0.7	5.0 ^b ± 0.4	4.1 ^c ± 0.2	8.9 ± 1.1
Burseraceae								
<i>Protium heptaphyllum</i>	PEURF 50.235	Tree	São Lourenço city (PE)	S08°8'68" W35°13'54"	16.7 ^b ± 0.8	8.8.3 ^a ± 0.3	7.2 ^a ± 0.6	13.7 ± 0.7
Menispermaceae								
<i>Cissampelos andromorpha</i>	PEURF 50.234	Climbing	São Lourenço city (PE)	S8°1'76" W35°12'73"	5.9 ^d ± 0.5	4.4 ^c ± 0.3	4.1 ^c ± 0.5	5.4 ± 0.4
Sapindaceae								
<i>Serjania caracasana</i>	PEURF 57	Climbing	Paulista city (PE)	S7°55'65" W34°52'51"	4.7 ^e ± 0.1	4.3 ^c ± 0.4	4.2 ^c ± 0.3	10.3 ± 0.5
<i>Serjania salzmanniana</i>	UFP 69.841	Climbing	Recife city (PE)	S7°59'18" W34°56'55"	4.4 ^e ± 0.2	3.7 ^d ± 0.1	3.5 ^d ± 0.2	9.3 ± 0.9

Different letters in the same column indicate significant differences among species ($p < 0.05$)

* Data are mean (±SD) of 50 seeds for all species

Herbarium at the Federal Rural University of Pernambuco and Herbarium UFP at the Federal University of Pernambuco. Commercial olive (*Olea europaea* L.) and soybean (*Glycine max* (L.) Merrill) oils were purchased from local store and used as a baseline for the analysis of the yields and physicochemical properties of the biodiesels.

The length, width, and thickness of 50 seeds from each species were measured using an electronic digital sliding caliper (Starrett Series 727, Athol, MA, USA) with an accuracy to 0.0005"/0.01 mm. The fresh weight of the seeds was determined from 50 samples using a precision balance (Mettler Toledo AG204, Inc., Hightstown, NJ, USA) to the nearest 0.0001 g. The mean weight was calculated and the results expressed in grams (g). The biometric characteristics of the seeds are shown on Table 1.

Oil Extraction and Content

Powdered seed samples from three different individuals of each species were dried in an oven at 48 °C for 48 h. The oil was extracted using *n*-hexane (b.p. 68 °C) and a Soxhlet apparatus for 8 h. The solvent was evaporated in a rotary evaporator under reduced pressure and N₂ flow. The oil content was gravimetrically calculated using the equation: % oil content = weight of oil obtained (g)/weight of sample (g) × 100. The oil percentage obtained was used to estimate the amount of oil present in one seed based on mass. The oil was stored at 4 °C until further analysis.

Hydrolysis and Fatty Acid Analyses

The oil hydrolysis and fatty acid analyses were performed according to [7]. Briefly, approximately 0.025 g of oil from three independent extractions was subjected to alkaline hydrolysis in 1.5 mL of KOH (0.5 M) in methanol at 100 °C for 10 min, and the recovered fatty acids were methylated in 14 % boron trifluoride in methanol (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA). Fatty acid methyl esters (FAME) from three different and independent samples were identified by gas chromatography coupled with mass spectrometry (GC/MS QP5050 Shimadzu, Kyoto, Japan), using a DB-5 capillary column (5 % diphenyl, 95 % dimethylpolysiloxane, 30 m × 0.25 mm × 0.25 μm, J & W Scientific, Folsom, CA, USA). The initial oven temperature was 150 °C, which was then ramped up by 4 °C/min to 280 °C and maintained at 280 °C for 15 min. The injector and detector temperatures were 250 and 290 °C, respectively. Helium was used as the carrier gas with a flow rate of 1 mL/min and a 1:39 split. The methyl ester peaks were identified by retention time comparison with those of commercially available fatty acid methyl esters (FAME; Supelco™ mix C4-C24, Bellefonte, PA, USA) and by comparison with mass spectra in both the Wiley 229 database (Wiley, NY, USA) and the NIST/

EPA/NIH Mass Spectral Library (NIST 05). The relative amount of each FAME was calculated from the integrated area of each peak, without adjustment of response factors, and expressed as a percentage of the total area of all peaks using a capillary gas chromatograph equipped with a flame ionization detector (GC-FID 17A, Shimadzu, Kyoto, Japan) in the same conditions described above. Injection volumes of 1 μL were used with the aid of an auto injector (Shimadzu AOC-20i). The retention times were compared with those from commercially methyl esters kit (FAME; Supelco™ mix C4-C24, Bellefonte, PA, USA).

Physicochemical Properties of the Oils and Biodiesel

The density (ASTM D5002) and kinematic viscosity (ASTM D445) of the oils were determined at 15 and 40 °C, respectively, using an Anton Paar SVM 3000/G2 digital Stabinger viscometer, in accordance with the American Society for Testing and Materials [8, 9].

The acidity was determined using the AOAC method no. 969.18 [10] and the percentage of free fatty acids (%FFA) was determined according to [11]. The saponification number (SN) and iodine value (IV) were calculated using Eqs. 1 and 2, respectively [12].

$$SN = \Sigma (560 \times Ai) / MWi \quad (1)$$

$$IV = \Sigma (254 \times D \times Ai) / MWi \quad (2)$$

where *Ai* is the percent of fatty acids; *MWi* is the molecular weight; *D* is the number of double bonds; and SN and IV are saponification number and iodine value, respectively.

The main physicochemical properties density (ASTM D5002), kinematic viscosity (ASTM D445), acidity value (ASTM D664), copper strip corrosion (ASTM D130), flash point (ASTM D93), sulfur content (ASTM D4294), sulfated ash (ASTM D874), dissolved water EN 14751), oxidative stability (EN 15751), free glycerin (ASTM D6584), and total glycerin (ASTM D6584) of biodiesel were determined using the standard test methods according to ASTM D6751 and EN 14214 [10, 13].

Transesterification of Oil

Acid-catalyzed transesterification reactions were performed in 250-mL flasks equipped with reflux condensers and magnetic stirrers with thermometers connected. Prior to biodiesel production, the oils (30–100 g) were heated to 50 °C, followed by the addition of methanol (methanol/oil molar ratio 6:1) and H₂SO₄ (0.5 % w/w oil). The alkali-catalyzed transesterification was performed for 30 min at 60 °C at 300 rpm/min. Subsequently, 1.0 wt% KOH was added and the mixture was reacted for 1 h (basic transesterification). After gravimetric separation in a funnel for 24 h,

the upper layer (biodiesel) was collected for analysis and the lower phase (glycerol) was discarded. The residual catalyst comprising methanol and soap were removed through successive rinses until the washing water was neutral. The washed biodiesel was dried under anhydrous sodium sulfate and subsequently filtered under reduced pressure.

Statistical Analyses

The oil content and fatty acid profile were analyzed from three different individuals for each species. The data were analyzed using variance analyses (one-way ANOVA) and Tukey's test. All significance tests were set at $p < 0.05$, and the statistics were analyzed using the Statistica software package ver. 8.0 (Statsoft Inc., Tulsa, OK, USA).

Results and Discussion

Seed Biometrics, Oil Content, and Fatty Acid Profiles

Despite the advances in bioprospecting of plant species as oil supplies and potential use in the biofuels industry and for other technological purposes, the literature on the

economic use of native species such as oilseed is still very scarce, especially for species of the Atlantic Forest in the northeast of Brazil. This study broadens the knowledge about the potential oleaginous species native to the Atlantic Forest of northeastern Brazil. In addition to the biometric characteristics of seeds, oil content, fatty acid profile, and physicochemical properties of oil and biodiesel are shown for the first time.

The analysis of biometric characteristics together with seed oil content provides a first insight into the performance of the plants analyzed as oil sources. The seeds of six species show significant differences ($p < 0.05$) between their biometric characteristics (Table 1) and oil content (Table 2). Climbing species such as *Cissampelos andromorpha*, *Sejania caracasana*, and *S. salzmanniana* have seeds with smaller dimensions. Larger seeds were found in arboreal species such as *R. grandiflora*, *Protium heptaphyllum*, and *Tabernaemontana flavicans*. In addition, *Protium heptaphyllum* also has the largest mass. *Serjania caracasana* seeds, despite being small in size, were the second in terms of mass (Table 1).

In our study, the relative oil content ranged from 31.5 % in *T. flavicans* to 67.4 % in *Serjania salzmanniana* (Table 2). The climbing species (*Serjania* and

Table 2 Oil content and fatty acids composition of some seeds of the Atlantic Forest of northeast Brazil—Pernambuco state

Oil and fatty acids content (%)	Plant species						Commercial oils	
	<i>R. g.</i>	<i>T. f.</i>	<i>P. h.</i>	<i>C. a.</i>	<i>S. c.</i>	<i>S. s.</i>	Olive	Soybean
Relative oil content	53.4 ^b ± 0.3	31.5 ^a ± 0.2	36.9 ^d ± 0.5	38.0 ^c ± 1.8	66.6 ^a ± 0.8	67.4 ^a ± 1.8	–	–
Palmitic acid (16:0)	13.3 ^c ± 0.2	11.0 ^d ± 0.3	58.8 ^a ± 0.4	2.2 ^e ± 0.1	2.2 ^e ± 0.4	1.0 ^e ± 0.3	19.2 ^b ± 1.9	11.3 ^d ± 0.01
Stearic acid (18:0)	5.3 ^b ± 0.3	5.3 ^b ± 0.2	2.4 ^d ± 0.7	8.3 ^a ± 0.1	1.6 ^e ± 0.6	–	4.1 ^c ± 0.3	4.4 ^c ± 0.01
Araquidic acid (20:0)	–	–	–	0.1 ^c ± 0.1	9.6 ^a ± 0.2	3.4 ^b ± 0.2	–	–
Behenic acid (22:0)	–	–	–	–	–	3.4 ± 0.1	–	–
Saturated total (Σ)	18.6	16.3	61.2	10.6	13.4	7.8	23.3	15.6
Palmitoleic acid (16:1)	–	–	–	–	–	–	2.1 ± 0.8	–
Oleic acid (18:1)	55.7 ^b ± 0.4	69.5 ^a ± 0.1	22.1 ^d ± 0.3	68.9 ^a ± 1.1	8.8 ^e ± 0.4	7.6 ^e ± 0.1	66.7 ^a ± 0.01	31.3 ^c ± 0.1
Eicosenoic acid (20:1)	–	–	–	–	69.4 ^a ± 0.6	64.7 ^b ± 0.3	–	–
Erucic acid (22:1)	–	–	–	–	5.0 ^b ± 0.3	19.0 ^a ± 0.1	–	–
Monounsaturated total (Σ)	55.7	69.5	22.1	68.9	83.2	91.3	68.8	31.3
Linoleic acid (18:2)	21.5 ^b ± 0.2	12.8 ^e ± 0.1	14.1 ^c ± 0.2	13.2 ^d ± 0.6	1.4 ^b ± 0.4	–	5.5 ^f ± 0.4	51.5 ^a ± 0.01
Linolenic acid (18:3)	2.3 ^b ± 0.3	1.4 ^c ± 0.2	2.6 ^b ± 0.6	3.4 ^a ± 0.8	–	–	2.5 ^b ± 1.3	0.3 ^d ± 0.1
Polyunsaturated total (Σ)	23.8	14.2	16.7	16.6	1.4	–	7.9	51.8
Others lipids	1.9	–	–	3.7	2.0	0.9	–	1.2
Unsat total (Σ)	79.5	83.7	38.8	85.7	84.6	91.3	76.7	83.2
Unsat/Sat	4.3	5.1	0.6	8.1	6.3	11.7	3.3	5.3
Fraction MUFA/Linoleic	77.2	82.3	36.2	82.1	10.2	–	12.6	0.6

Different letters within a same line indicate significant differences among species ($p < 0.05$)

All data reported here are arithmetic means of triplicate assays

R. g., *Rauwolfia grandiflora*; *T. f.*, *Tabernaemontana flavicans*; *P. h.*, *Protium heptaphyllum*; *C. a.*, *Cissampelos andromorpha*; *S. c.*, *Serjania caracasana*; *S. s.*, *Serjania salzmanniana*

– Not detected (content lower than 0.1 %) or not tested

Cissampelos genera) have more oil (more than 60 %) than the arboreal species. The higher oil content observed in the seeds of *Serjania caracasana* and *S. salzmänniana* is similar to that reported in seeds of other species of Sapindaceae [3].

The amount of oil is an important parameter for defining oil-rich species for industrial purposes. Thus, in this study, all the species can be classified as oilseeds (more than 30 % oil content). However, according to some authors [1], other parameters should be considered, such as reproductive cycle, seed mass, and productivity [2]. Because the species in this study are native, further studies are needed for a better understanding of their biology and productivity. Biometry, oil content, and phenological and agronomic aspects should be considered together for better understanding of the industrial potential of a species.

In the seeds studied, nine fatty acids were identified, ranging from palmitic (C16:0) to erucic acids (C22:1) (Table 2). The fatty acid profile was mostly unsaturated (more than 80 %). *C. andromorpha*, *T. flavicans*, *S. caracasana* e *S. salzmänniana* species contain a major predominance of monounsaturated acids, such as oleic, erucic and eicosenoic acids, and is similar to the olive oil composition (Table 2). In contrast, *P. heptaphyllum* presented more saturated acid (61.2 %) of which 96 % is palmitic acid). Palmitic acid (C16:0) and oleic acid (C18:1) were the only ones that occurred in the six species, followed by stearic (C18:0) and linoleic acids (C18:2) in five species, and linolenic acid (C18:3) in four species. The unsaturated/saturated ratio ranged from 0.63 in *P. heptaphyllum* to 11.7 in *S. salzmänniana* (Table 2).

Monounsaturated and linoleic acids (MUFA/Linoleic ratio) occurred mainly in *T. flavicans* (82.3 % MUFA/Linoleic), in *C. andromorpha* (82.1 % MUFA/Linoleic) and in *R. grandiflora* (77.2 % MUFA/Linoleic) oils (Table 2). These values are similar to those reported for other species of Apocynaceae and Menispermaceae [14]. The oils of Apocynaceae species are commonly recommended for biofuels, lubricants, plastics, adhesives industries, and cosmetic and pharmaceutical products due to the presence of oleic and linoleic acids in amounts greater than 50 % [15].

The fatty acid profile of *C. andromorpha* (Menispermaceae) is quite peculiar. The species produces seeds with 38 % oil and has proved to be an excellent source of oleic acid (68.9 %), with an unsaturation total of 85.7 %. Linoleic (13.2 %), stearic (8.3 %), and linolenic (3.4 %) acids are minor constituents of oil. This fatty acid composition is similar to olive oil (Table 2) [16].

Some species of Menispermaceae are used economically, such as *Anamirta cocculus* Wight & Arn. and *Sphenocentrum jolyanum* Pierre, the fatty acids profile of which is interesting for biodiesel production and pharmacology [17].

The two species of the *Serjania* (*S. caracasana* e *S. salzmänniana*) genus have a predominantly unsaturated fatty acid profile (84.6 and 91.3 %, respectively), due mainly to the large amount of monounsaturated acids (oleic, eicosenoic and erucic acids). This composition is similar to the soybean oil (83.2 %) (Table 2). Eicosanoic acid (C20:1) was the predominant fatty acid in these two species (more than 60 %). The highest predominance of monounsaturated eicosenoic, erucic and oleic acids in *S. caracasana* and *S. salzmänniana* has been previously reported [1]. Similarly, this profile was found in other species of the same genus [3, 18].

To date, the oleochemical potential of Sapindaceae species is underdeveloped. However, some Sapindaceae species have been analyzed for oil content and fatty acid composition for this purpose, such as *Nephelium lappaceum* L. and *Schleichera oleosa* Merr. [17], and *S. lethalis* A. St.-Hil. [3]. In addition, it is known that other species have edible fruits and seeds, for example, *Blighia sapida* K.D. Koenig, *Litchi chinensis* Sonn., *Nephelium lappaceum* L. and *Dimocarpus longan* Lour., which are widely consumed mainly in Asia and Australia. On the other hand, some species of the family can produce toxic compounds, which limit their use for food and cosmetic purposes [19].

Evaluation of the Oil Properties

In addition to calculating oil content and fatty acids profile, the physicochemical properties of the oil for biodiesel purposes are crucial to industry [1, 5]. Thus, viscosity, density, acidity, and iodine indexes are important parameters that can affect the quality of biofuels. Therefore, the physicochemical properties of the oil from the six species were calculated and are summarized in Table 3.

The density of the oils ranged from 889 (kg m⁻³) in *P. heptaphyllum* to 908 (kg m⁻³) in *T. flavicans*, while the kinematic viscosity ranged from 3.4 (mm² s⁻¹) in *S. salzmänniana* to 3.9 (mm² s⁻¹) in *P. heptaphyllum* and *T. flavicans*. The higher density value found in *T. flavicans* can be explained by the high proportion of unsaturated fatty acids in seed oil [1]. In contrast, the low viscosity values can be related to the high proportion of unsaturated fatty acids. The kinematic viscosity is inversely proportional to the degree of unsaturation of the carbon chain [20].

The oil acidity level did not exceed 5 mg KOH g⁻¹ and the most acid oil was from *S. salzmänniana*, with 4.54 mg KOH g⁻¹. These acid values are higher than in crop species such as soybean (1.72), oil palm (0.84) [21], and sesame oil (0.70) [22]. However, they remained within the limits established for petroleum products (less than 6 mg KOH g⁻¹ of oil—ASTM D664). Monitoring of oil acidity and biodiesel is of great importance during storage, in which any changing values in this period can signify the

Table 3 Oil properties of seed oils of some species of the Atlantic Forest of Northeast Brazil—Pernambuco state

Physicochemical property	Plant species					
	<i>R. grandiflora</i>	<i>T. flavicans</i>	<i>P. heptaphyllum</i>	<i>C. andromorpha</i>	<i>S. caracasana</i>	<i>S. salzmänniana</i>
Density at 15 °C (kg m ⁻³)	905 ^{bc} ± 0.02	908 ^a ± 0.01	889 ^d ± 0.01	906 ^{bc} ± 0.03	901 ^{cd} ± 0.01	900 ^d ± 0.01
Kinematic viscosity (mm ² s ⁻¹)	3.7 ^{bc} ± 0.02	3.9 ^{ab} ± 0.05	3.9 ^{ab} ± 0.04	3.8 ^{bc} ± 0.08	3.5 ^{cd} ± 0.07	3.4 ^{cd} ± 0.01
Acidity value (mg KOH g ⁻¹)	1.8 ^d ± 0.06	2.1 ^a ± 0.10	4.32 ^b ± 0.03	2.29 ^{ab} ± 0.01	3.21 ^c ± 0.05	4.54 ^a ± 0.01
Water content (wt%)	0.09 ^d ± 0.17	0.17 ^a ± 0.11	0.12 ^c ± 0.21	0.09 ^d ± 0.14	0.14 ^{bc} ± 0.19	0.13 ^{bc} ± 0.11
Iodine number (g I ₂ /100 g)	114.8 ^a ± 0.12	89.5 ^c ± 0.13	52.7 ^a ± 0.42	95.3 ^b ± 0.12	71.02 ^d ± 0.31	61.3 ^a ± 0.23
Saponification number	196.3 ^b ± 0.16	200.59 ^f ± 0.12	208.7 ^a ± 0.11	191.5 ^c ± 0.15	179.01 ^d ± 0.14	148.9 ^e ± 0.33
% FFA (as oleic acid)	0.9 ^a ± 0.09	1.05 ^d ± 0.14	2.16 ^b ± 0.12	1.14 ^{cd} ± 0.21	1.60 ^f ± 0.26	2.27 ^{ab} ± 0.31
Linolenic acid content [% (m/m)]	2.3 ^c ± 0.12	1.4 ^d ± 0.06	2.6 ^b ± 0.21	3.4 ^a ± 0.12	–	–

All data are arithmetic means of triplicate assays ± SD

Different letters in the same line indicate significant differences among species ($p < 0.05$)

– No specified limit

presence of water. In our study, acid values were relatively low in most of the species studied [22].

The oil acid numbers were higher in accordance with the criteria of ASTM D974 [23].

The initial acid-catalyzed transesterification is a pre-treatment step to reduce the FFA in the oil before proceeding to an alkali-catalyzed transesterification, and low levels the FFA favor both the biodiesel storage process and the transesterification reaction [5].

On the other hand, the iodine index has a wider range of variation, ranging from 52.7 g I₂/100 g in *P. heptaphyllum* to 114.8 g I₂/100 g in *R. grandiflora* (Table 3). These values are lower than the maximum limit required by the EN 14214 standard (maximum value accepted of 120 g I₂/100 g) and such as soybean (122.56 g I₂/100 g) [21], jatropha (103.62 g I₂/100 g) [11], false-flax (104.7 g I₂/100 g), cotton (143 g I₂/100 g), sunflower (125 g I₂/100 g) [24]. The iodine index is used to measure the degree of unsaturation of the oil, which not only has an effect on density values of biodiesel and viscosity, but is also of great importance to the oxidative stability of the oil and biodiesel.

The saponification number ranged from 148.9 in *S. salzmänniana* to 208.7 in *P. heptaphyllum* (Table 3). Although there are no limits specified for the saponification value, this parameter is an indirect measure of average molecular weight of fatty acids. This index was high in most species, as is the case for soybean (179.4) [21], and jatropha (190) [25].

The saponification number is exact amount of KOH in mg necessary to emulsify 1 g of oil. It is related to the average molecular weight, so the oil saponification rate decreases with increasing molecular weight.

Among the analyzed species, the percentage of FFA did not exceed 2.27 % (*S. salzmänniana*). The percentage of

FFA in the oils studied was similar to that found for edible oils such as soybean (0.86 %) [21] and inedible oils such as jatropha (2.23 %) [25] and moringa—*Moringa oleifera* (1.92 %) [26].

Linolenic acid methyl ester occurred in four species: *R. grandiflora* (2.3 %), *T. flavicans* (1.4 %), *P. heptaphyllum* (2.6 %) and *C. andromorpha* (3.4 %) (Table 3). For biodiesel purposes, the EN 14214 standards regulate that the linoleic acid content must not exceed 12 % [27]. Thus, all of the species are in agreement with this parameter. Content above this value, resulting after heating the polymerization glycerides, leads to the formation of precipitates, deterioration of lubricants, and undermines stability in biodiesel storage [28].

Biodiesel Properties

In our study, the physicochemical properties resulting from transesterification of the oil (biodiesel) were also evaluated (Table 4). The results were compared with those obtained from soy and olive biodiesel, as well as the specification of ASTM D 6751 [13] and EN 14214 standards [27]. Olive and soybean commercial oils were selected for comparison with the native species, since they have the intermediate characteristics of all the oils studied, and a high concentration of oleic and linoleic acid, respectively (Table 4). The amount of biodiesel produced from six wild species was high (ranging from 93.2 to 97.6 %) when compared with traditional oilseeds such as palm oil (82 %) [28] and castor bean (86.6 %) [29]. *C. andromorpha* and *R. grandiflora* (Table 4) have more biodiesel quantity than olive (89.6 %) and soybean (95.3 %) (Table 4) and cotton (96.9 %) [28].

Studies report that experimental conditions and quality of the starting oil (crude or unrefined oil, oxidized oil, waste oil) influence increases or decreases in biodiesel

Table 4 Yield and physicochemical properties of biodiesel of seed oils of some species of the Atlantic Forest of northeast Brazil—Pernambuco state

Physicochemical property	Native species					Commercial oils		
	<i>R.g</i>	<i>T.f</i>	<i>P.h</i>	<i>C.a</i>	<i>S.c</i>	<i>S.s</i>	Olive	Soybean
Biodiesel yield (wt%)	96.3 ^b ± 0.71	94.4 ^{ef} ± 0.31	94.5 ^{ef} ± 0.12	97.6 ^d ± 0.15	93.2 ^f ± 0.81	94.8 ^{de} ± 0.11	89.6 ^g ± 0.17	95.3 ^c ± 0.41
Density at 15 °C (kg m ⁻³)	889 ^{ab} ± 0.01	892 ^a ± 0.03	861 ^f ± 0.05	873 ^c ± 0.01	871 ^d ± 0.05	868 ^e ± 0.02	889 ^{ab} ± 0.01	883 ^b ± 0.04
Kinematic viscosity at 40 °C (mm ² s ⁻¹)	2.6 ^g ± 0.04	2.8 ^{ef} ± 0.02	3.4 ^{bc} ± 0.06	3.2 ^{cd} ± 0.11	2.8 ^{ef} ± 0.07	3.1 ^{cd} ± 0.01	3.4 ^{bc} ± 0.04	4.2 ^a ± 0.02
Acidity value (mg KOH g ⁻¹)	0.34 ^e ± 0.14	0.38 ^c ± 0.31	0.32 ^{fg} ± 0.74	0.44 ^b ± 0.31	0.29 ^h ± 0.13	0.31 ^g ± 0.09	0.36 ^d ± 0.21	0.53 ^a ± 0.35
Copper strip corrosion (50 °C; 3 h)	1a	1a	3a	1a	1a	1a	1a	1a
Flash point (°C)	138 ^f ± 0.02	143 ^e ± 0.03	134 ^g ± 0.06	140 ^f ± 0.01	151 ^d ± 0.02	158 ^b ± 0.04	165 ^a ± 0.01	153.2 ^c ± 0.02
Sulfur content (mg kg ⁻¹)	4.2 ^c ± 0.12	3.1 ^e ± 0.03	5.2 ^a ± 0.05	2.6 ^f ± 0.15	2.4 ^g ± 0.07	3.8 ^d ± 0.32	2.1 ^h ± 0.26	4.7 ^b ± 0.52
Sulphated ash (wt%)	0.02 ^a ± 0.05	0.003 ^b ± 0.08	0.002 ^b ± 0.03	0.003 ^b ± 0.05	0.02 ^a ± 0.07	0.02 ^a ± 0.09	0.01 ^a ± 0.03	0.08 ^a ± 0.06
Water (mg kg ⁻¹)	246 ^{ab} ± 0.02	258 ^f ± 0.01	281 ^e ± 0.03	329 ^c ± 0.05	341 ^b ± 0.03	319 ^d ± 0.05	450 ^a ± 0.01	243 ^h ± 0.02
Oxidative stability (h; 110 °C)	4.9 ^{fg} ± 0.02	5.3 ^{de} ± 0.03	4.1 ^h ± 0.08	6.9 ^b ± 0.12	5.2 ^e ± 0.16	4.8 ^g ± 0.09	7.2 ^a ± 0.02	5.6 ^f ± 0.04
Free glycerin (% mass)	0.023 ^d ± 0.03	0.016 ^e ± 0.01	0.051 ^a ± 0.55	0.019 ^e ± 0.21	0.012 ^h ± 0.34	0.013 ^{gh} ± 0.32	0.027 ^{bc} ± 0.23	0.026 ^{cd} ± 0.11
Total glycerin (% mass)	0.153 ^d ± 0.08	0.183 ^b ± 0.03	0.112 ^g ± 0.31	0.135 ^f ± 0.03	0.203 ^a ± 0.25	0.172 ^c ± 0.63	0.145 ^e ± 0.21	0.102 ^h ± 0.37

All data are arithmetic means of triplicate assays ± SD

Different letters in the same line indicate significant differences among species ($p < 0.05$)*R. g.*, *Rauwolfia grandiflora*; *T. f.*, *Tabernaemontana flavicans*; *P. h.*, *Protium heptaphyllum*; *C. a.*, *Cissampelos andromorpha*; *S. c.*, *Serjania caracasana*; *S. s.*, *Serjania salzmanniana*

– No specified limit

Table 5 Biodiesel specifications in ASTM D6751 and EN 14214 standards

Properties	Biodiesel specifications	
	ASTM D6751	EN 14214
Biodiesel yield (wt%)	–	–
Density at 15 °C (kg m ⁻³)	–	860–900
Kinematic viscosity at 40 °C (mm ² s ⁻¹)	1.9–6.0	3.5–5.0
Acidity value (mg KOH g ⁻¹)	0.5 max	0.5 max
Copper strip corrosion (50 °C; 3 h)	No. 3 max	No. 1 min
Flash point (°C)	130 min	101 min
Sulfur content (mg kg ⁻¹)	15.0 max	10.0 max
Sulfated ash (wt%)	0.02 max	–
Water (mg kg ⁻¹)	–	500 max
Oxidative stability (h; 110 °C)	3.0 min	6.0 min
Free glycerin (% mass)	0.02 max	0.02 max
Total glycerin (% mass)	0.24 max	0.25 max

– No specified limit

yield. In this paper the molar ratio of oil/methanol (6:1), reaction time (60 min), constant temperature (60 °C), and the concentration of catalyst (0.5 %) were used, which is consistent with data from other authors and are typically used in industrial processes to obtain methyl esters with higher yields than 95 % from vegetable oils [29].

The appearance of the biodiesel from the species was clear and free of impurities. This is a parameter considered only in RANP 07/08 [30]. This is a preliminary analysis, which seeks to verify the presence of impurities that can be identified visually, such as materials in suspension, sediment, or even turbidity in the biodiesel sample, which may be due to the presence of water. In the absence of contaminants, biodiesel is classified as clear and free of impurities.

The density of the biodiesel of the species analyzed (861–892 kg m⁻³) conforms with the limit set by the European standard EN 14214 (between 860 and 900 kg m⁻³). ASTM D6751 specifies no limit for this parameter (Table 5). Biodiesel density is directly related to the molecular structure of fatty acids. The longer carbon chain length and high unsaturation number causes the higher biodiesel density [20, 28, 31].

The biodiesel kinematic viscosity ranged from 2.6 to 3.4 mm² s⁻¹ (Table 4) and all the values found for the species are within an acceptable range for the ASTM D6751 standard (1.9–6.0 mm² s⁻¹) [13] (Table 5), but not all are in accordance with EN 14214 [27]. The viscosity of biodiesel increases with the length of the carbon chain and the degree of saturation, having an influence on the burning process in the engine combustion chamber. High viscosity causes heterogeneity in the combustion of biodiesel due to decreased atomization efficiency in the combustion chamber, causing deposition of residues on internal engine parts [31].

Importantly, the viscosity and density values of some species were well below those for conventional vegetable oils such as soy and olive (Table 4). Given that *Serjania* species have higher levels of monounsaturated fatty acid (e.g. C20:1 and C22:1) they have lower viscosity indexes due a large proportion of acids with double bonds [32].

The acid value observed in the new species studied was very low (0.29–0.44 mg KOH g⁻¹) (Table 4) and are in accordance with the standards (0.5 max) (Table 5). It is also possible to observe that the density parameters, viscosity, and acidity obtained in the crude oil decreased compared to the biodiesel. However, the acid value of soybean biodiesel was slightly higher than that stipulated by the standards (0.53 mg KOH g⁻¹) (Tables 3, 4).

Copper strip corrosion (3 h at 50 °C) is a parameter set to determine the potential capacity of the fuel to cause corrosion to metal parts, which may be the engine or the storage tank. The maximum acceptable values are 1 degree of corrosion in EN 14214 [27] and grade 3 for ASTM D6751 [13]. Only *P. heptaphyllum* did not meet the standard EN 14214. This may be due to a high concentration of sulfur content [27].

The flashpoint parameter is the temperature at which the biodiesel ignites when exposed to a flame or spark [4], which is observed in the release of vapors from a liquid in an amount sufficient enough to form a flammable mixture with air. The flash point values of the biodiesel samples produced in this study were of 134 °C (Table 4), being above the minimum values set out in ASTM D6751 (130 min.) and EN 14214 (101 min.) [13, 27] (Table 5).

The sulfur content was below the limit set by ASTM D6751 and EN 14214 standards [13, 27] in all species. High sulfur content affects catalytic converters, increasing the emission of particulate matter and causing corrosion of engine parts due to sulfuric and sulfonic acid formed during the oxidation of the fuel [33].

The concentration of inorganic contaminants from the biodiesel can be evaluated based on sulfated ash content (wt%), which consists of burning the sample in the presence of sulfuric acid to convert the metal impurities into their corresponding sulfates while reducing material loss by evaporation. All the species showed lower values than the maximum level of sulfated ash established by EN 14214, which is 0.02 wt% (Analytical method EN ISO 3987) [27]. ASTM D6751 [13] does not include this method as a quality parameter for biodiesel.

The water content of the biodiesel (246–341 mg kg⁻¹) (Table 4) was below the maximum allowed by the standard EN 14214 (500 mg kg⁻¹ max.) [27] (Table 5). Water and hydrolysis of biodiesel, resulting in free fatty acids, are also associated with the proliferation of microorganisms and corrosion in storage tanks with sediment deposition. As biodiesel exhibits a certain degree of hygroscopicity, water content should be monitored during storage [31].

Oxidative stability has been one of the main technical properties for assessing the quality of biodiesel. The oxidative stability of biodiesel is directly related to the degree of unsaturation of the alkyl esters present, but also with the position of double bonds in the carbon chain. A high proportion of saturated acids in *P. heptaphyllum* indicates the oil's resistance to oxidation and rancidity [31]. This parameter was determined according to the Rancimat method (EN 15751) [27], resulting in an induction period (IP) of 4.1–6.9 h, which was above the minimum specified in ASTM D6751 (IP 3 h), but did not conform entirely with EN 14214 (Table 5) [13, 27]. The greater the unsaturation number, the more the molecule is susceptible to degradation, as thermal oxidation forming insoluble products causes problems of deposit formation and clogging of engine fuel injection systems. Natural antioxidants from vegetable oils promote higher oxidation stability (e.g., tocopherols); however, these may be lost during the refining process or thermal degradation [31]. Glycerin is a co-product of the transesterification reaction of oils and fats. Residual free glycerin can be easily eliminated by washing of biodiesel. Although it is practically insoluble in biodiesel, glycerin can be found dispersed as droplets. The presence of residual soaps may interfere, increasing the concentration of glycerin in biodiesel due to the formation of emulsions. The maximum permitted level of free glycerin in biodiesel is 0.02 % mass and it is calculated using chromatographic methods EN ISO 14105 and EN ISO 14106; most species fell within this limit. The total glycerin (0.112–0.203 % mass) was below the ceiling set by the standards of ASTM D6751 (0.24 % mass) and EN 14214 (0.25 % mass) [13, 27] (Table 5). The total glycerin calculation serves as a parameter for evaluating the efficiency of the biodiesel purification process. High glycerin concentrations in biodiesel cause problems such as the formation of deposits, clogging of nozzles, and engine emissions of aldehydes [31].

Conclusions

This study revealed that oils from *S. caracasana* and *S. salzmanniana* are particularly rich in eicosanoic acid and that of *C. andromorpha* in oleic acid. A more saturated profile occurred in the species *P. heptaphyllum*, which mainly accumulated palmitic acid. The analysis reveals the possible use of these oils, due to their high levels of monounsaturated fatty acids (oleic and eicosenoic), for the production of biodiesel. Due to the high oil and biodiesel yields, the presence of oleic (*C. andromorpha*, *R. grandiflora*, and *T. flavicans*) and eicosenoic (*S. caracasana* and *S. salzmanniana*) acids, and based on the results obtained regarding the biodiesel properties, these species are likely to be included in biodiesel production programs. We therefore suggest that further investigations are carried out to evaluate agricultural

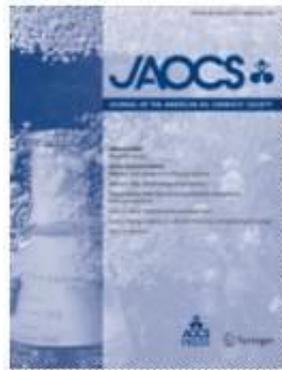
and agronomic aspects of arrays of species, as well as the effect of climatic and biological (phenology) variables on the yield and physical and chemical properties of oils and biodiesels.

Acknowledgments The authors would like to thank CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, Brasília, Brazil) for providing a postgraduate scholarship to the first author.

References

- Coutinho DJG, Barbosa MO, Souza RJC, Silva AS, Silva SI, Oliveira AFM (2016) Biodiesel potential of the seed oils from some Brazilian native Euphorbiaceae species. *Renew Energy* 91:275–281
- Silva SI, Oliveira AFM, Negri G, Salatino A (2014) Seed oils of Euphorbiaceae from the Caatinga, a Brazilian tropical dry forest. *Biomass Bioenerg* 2:124–134
- Pinho RS, Oliveira AFM, Silva SI (2009) Potential oilseed crops from the semiarid region of northeastern Brazil. *Bioresour Technol* 2:6114–6117
- Salles KTSI, Meneghetti SMP, Salles WFL, Meneghetti MR, Santos ICF, Silva JPV, Carvalho SHV, Soletti JI (2010) Characterization of *Syagrus coronata* (Mart.) Becc. oil and properties of methyl esters for use as biodiesel. *Ind Crop Prod* 32:518–521
- Morçira MAC, Arrúa MIEP, Antunes AC, Fiuza TER, Costa BJ, Neto PHW, Antunes SRM (2013) Characterization of *Syagrus romanzoffiana* oil aiming at biodiesel production. *Ind Crop Prod* 48:57–60
- Tabarelli M, Melo MDVC, Lira OCA (2006) Mata Atlântica do Nordeste. Mata Atlântica Uma Rede pela Floresta. Brasília, Rede de ONGs da Mata Atlântica, pp 149–164
- Barbosa MO, Almeida-Cortez JS, Silva SI, Oliveira AFM (2014) Seed oil content and fatty acid composition from different populations of *Calotropis procera* (Aiton) W. T. Aiton (Apocynaceae). *J Am Oil Chem Soc* 21:1433–1441
- ASTM D5002—16 (2016) Standard test method for density and relative density of crude oils by digital density analyzer. ASTM International, West Conshohocken
- ASTM D445—15a (2015) Standard test method for kinematic viscosity of transparent and opaque liquids (and calculation of dynamic viscosity). ASTM International, West Conshohocken
- AOAC (1990) Association of official analytical chemists, AOAC official methods of analysis. AOAC International, Arlington
- Akbar E, Yaakob Z, Kamarudin SK, Ismail M, Salimon J (2009) Characteristic and composition of *Jatropha curcas* oil seed from Malaysia and its potential as biodiesel feedstock. *Eur J Sci Res* 29:396–403
- Kalayayiri P, Jayashke N, Krisnangkura K (1996) Survey of seed oils for use as diesel fuels. *J Am Oil Chem Soc* 73:471–474
- ASTM (2012) American Society for Testing and Materials, D6751 standard specification for biodiesel fuel blend stock (B100) for middle distillate fuels. ASTM, West Conshohocken
- Daulatabad CD, Ankalgi RF (1985) Studies on *Apocynaceae* seed oils. *Eur J Lipid Sci Tech* 87:247–249
- Spitzer V, Rates SMK, Henriques AT, Marx F (1995) The fatty acid composition of the seed oil of *Peschiera australis* (Apocynaceae). *Eur J Lipid Sci Tech* 97:334–335
- Matthäus B, Özcan MM (2011) Determination of fatty acid, tocopherol, sterol contents and 1,2- and 1,3-diacylglycerols in four different virgin olive oil. *J Food Process Technol* 2:1–4

5 ARTIGO 3



Qualis: B1

Fator de Impacto: 1.505

Manuscrito a ser submetido no periódico *Journal of the American Oil*

Chemists' Society

Potencial biodiesel de óleos não comestíveis de espécies de Clusiaceae de florestas tropicais brasileiras

Diogenes José Gusmão Coutinho • Mariana Oliveira Barbosa • Renata Janaína Carvalho de Souza • Adervando Sebastião da Silva • Suzene Izídio da Silva • Antonio Fernando Morais de Oliveira

Resumo - Há uma necessidade crescente de busca de novas fontes de óleo de sementes não-convencionais para a produção de biodiesel devido a carência de oferta e disponibilidade de oleaginosas tradicionais, geralmente utilizada como fonte alimentícia para a produção de biocombustíveis. Sendo assim, as florestas tropicais brasileiras, pela imensa riqueza de espécies, podem se apresentar como fontes de espécies oleaginosas que servirão de matéria-prima nativa para a indústria de biocombustíveis. Neste contexto, o óleo de sementes de três espécies da família Clusiaceae foi avaliado quanto ao seu potencial como fontes de matéria-prima não-convencional para a produção de biodiesel. *Clusia nemorosa*, *C. paralicola* e *Tovomita brevistaminea* apresentaram teores de óleo acima de 40%, sementes médias (entre 5,6 e 8,6 mm de comprimento) e peso variando entre 7,2 e 12,2 g. Foram identificados nove ácidos graxos, sendo os majoritários os ácidos oleico, linoleico e palmítico. As espécies de *Clusia* tiveram porcentagem de ácidos graxos insaturados maior que 70%. O rendimento do biodiesel ficou entre 98,6 em *T. brevistaminea* e 99,3 em *C. nemorosa*. Verificou-se que todas as espécies obtiveram propriedades físico-químicas do biodiesel (Densidade, Viscosidade cinemática, Ponto de fulgor, Teor de enxofre, Cinzas sulfatadas, Índice de acidez, Corrosão, Água, Estabilidade oxidativa e Glicerina total) dentro do especificado nas normas EN 14214 e ASTM D6751, exceto *C. paralicola* que no parâmetro corrosão não se enquadrava na norma EN 14214. Apontamos a necessidade de maiores estudos que avaliem as demais propriedades do biodiesel e de sua mistura, seu desempenho em motores e sua qualidade ao armazenamento, bem como características agriculturáveis das plantas, sua fenologia, ecologia e aspectos de cultivo para o efetivo aproveitamento dessas espécies.

Palavras-chave biomassa • oleaginosas • bioprospecção • propriedades do combustível

D. J. G. Coutinho • M. O. Barbosa • A. F. M. Oliveira*

Departamento de Botânica, Universidade Federal de Pernambuco, Av. Prof. Moraes Rego s/n, Cidade Universitária, 50.670-901, Recife, PE, Brasil

*E-mail: afmoliveira@gmail.com

R. J. C. Souza

^bDepartamento de Energia Nuclear, Universidade Federal de Pernambuco, Av. Prof. Luís Freire, Cidade Universitária, 50.740-540, Recife, PE, Brasil

A. S. Silva

Departamento de Química, Universidade Federal da Paraíba, 58059-900, João Pessoa, PB, Brasil

S. I. Silva

Departamento de Biologia, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Av. Dom Manoel de Medeiros s/n, Dois Irmãos, 52171-900 Recife, PE, Brasil

1. Introdução

O biodiesel (ésteres alquílicos de ácidos graxos) é um tipo de combustível considerado limpo e renovável proveniente especialmente de óleos vegetais, que possui propriedades superiores ao combustível diesel de petróleo, promovendo a redução de emissões de poluentes atmosféricos e, conseqüentemente, do efeito estufa, sendo considerado não-tóxico, ambientalmente seguro e biodegradável (Atapour e Kariminia, 2011).

Atualmente, os biocombustíveis são uma vertente energética em expansão no Brasil que contribuem, dentre outros aspectos, para que o país atinja as metas de participação no mercado de “bônus de carbono” do Protocolo de Kyoto, bem como o desenvolvimento

regional, com inovações produtivas (Rathmann et al., 2005). Além disso, a produção de biodiesel no Brasil tem levado a um crescimento macroeconômico, que gera oportunidades de emprego para a população rural devido à expansão da demanda por produtos agrícolas. Contudo, apenas um pequeno número de culturas predomina no mercado internacional e nacional de oleaginosas tradicionais para a produção de biodiesel. Neste sentido, o Brasil possui a uma larga vantagem em relação a outros países produtores de oleaginosas, devido a sua grande diversidade de ecossistemas e dimensão continental que favorecem a diversificação de espécies que podem ser utilizadas para a obtenção de óleo fixo para a produção de biodiesel (Coutinho et al., 2016).

As vantagens apresentadas pelo Brasil têm incentivado as pesquisas na linha de bioprospecção de plantas nativas como fontes alternativas para a obtenção de óleo fixo, com o intuito de suprir a elevada demanda por esses recursos e o rápido esgotamento das reservas de petróleo (Barbosa et al., 2014). Boa parte das pesquisas está cunhada na descoberta de espécies nativas com óleos não comestíveis, no desafio de incorporá-los como matéria-prima para esse fim, diminuindo a competição com o mercado alimentício e complementar a oferta de matéria-prima para biodiesel (Pinho et al., 2009; Silva et al., 2014). Assim, alguns esforços têm sido realizados por parte dos pesquisadores na procura de espécies nativas com óleos não alimentícios de baixo custo que possam ser cultivados para obtenção de biodiesel, o que poderá baixar o custo de produção (Mayworm et al., 1998; Pinho et al., 2009; La Salles et al., 2010; Macedo et al., 2011; Moreira et al., 2013; Silva et al., 2014).

A escolha das espécies para esta finalidade depende de vários fatores, tais como alta produtividade de frutos e sementes (peso de óleo por hectare), baixa demanda na fertilidade do solo, a não concorrência com as espécies alimentícias e boas propriedades físico-químicas do óleo de semente (Barbosa et al., 2014). No Brasil, o Programa Nacional de Produção e Uso de Biodiesel (PNPB) incentiva pesquisas para a bioprospecção de espécies nativas como

novas oleaginosas, bem como desenvolver novas variedades e cultivares. Dentre as famílias com interesse econômico, por possuírem sementes ricas em óleo, destaca-se a Clusiaceae. Existem algumas espécies com mais de 60% de óleo nas sementes, como é o caso de *Calophyllum inophyllum* L. 76,9% (Adeyeye, 1991), *Caraipa minor* Huber. 74,7% (Pesce, 1985) e *Mesua ferrea* L. 68,5% (Azam et al. 2005). *Calophyllum inophyllum* e *Mesua ferrea* possuem sementes com um óleo viscoso e não-comestível, que vem sendo explorado como novas fontes para produção de energia renovável como o biodiesel. Entretanto, o rendimento do biodiesel e o ponto de fulgor de suas sementes estão fora dos parâmetros estabelecidos pela norma europeia (Hosamani et al., 2009).

Desta forma, o óleo de sementes de três espécies nativas de Clusiaceae ocorrentes em florestas tropicais do Brasil foi investigado a fim de averiguar seu potencial como fontes de matéria-prima não convencional para a produção de biodiesel. Para tanto, foram analisadas a biometria, teor de óleo, perfil em ácidos graxos e propriedades físico-químicas do óleo e biodiesel, comparando com espécies da mesma família descritas na literatura.

2. Materiais e Métodos

2.1. Material vegetal e características biométricas das sementes

As sementes de *Clusia nemorosa* G. Mey., *Clusia paralicola* G. Mariz e *Tovomita brevistaminea* Engl. foram coletadas em habitats de Floresta Atlântica e Caatinga em diferentes municípios do estado de Pernambuco - Brasil. Exemplares das espécies foram depositados no Herbário Geraldo Mariz UFP da Universidade Federal de Pernambuco (Tabela 1).

O comprimento, largura e espessura de 50 sementes de cada espécie (Tabela 1) foram medidos usando um paquímetro de calibre eletrônico digital deslizante (Starrett Série 727, Athol, MA, EUA) com uma precisão de 0,0005"/0,01 mm. O peso das sementes foi

determinado a partir de 50 amostras usando uma balança de precisão (Mettler Toledo AG204, Inc., Hightstown, NJ, USA) para o mais próximo de 0,0001 g. O peso médio de cada semente individual foi calculado com base na biomassa da semente, e a massa final foi expressa em gramas (g).

2.2. *Extração de óleo de sementes*

As amostras de sementes foram secas num forno a 48 °C durante 48 h e o óleo foi extraído (1-2 g de sementes trituradas) usando *n*-hexano (b.p. 68°C) em um aparelho de Soxhlet durante 8 h. O solvente foi evaporado num evaporador rotativo sob pressão reduzida e o resíduo retirado sob uma corrente de N₂. O teor relativo de óleo foi gravimetricamente calculado usando a equação: teor de óleo = % em peso, de óleo obtido (g) / peso da amostra (g) x 100. A percentagem de óleo obtido foi utilizada para estimar a quantidade de óleo presente em uma semente com base na biomassa. O óleo foi armazenado a 4°C para análises futuras.

2.3. *Hidrólise e preparação dos ésteres metílicos de ácidos graxos*

Cerca de 1,5 mL de KOH (0,5 M) em metanol foi adicionado a 0,025 g do óleo, e os triglicerídeos foram hidrolisados a 100°C durante 10 min num banho-maria. Após arrefecimento em gelo durante 5 min, 2,5 mL de trifluoreto de boro 14% em metanol (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) foram adicionados. A amostra foi então colocada novamente no banho-maria durante 30 min e arrefeceu-se novamente durante 5 min. Por fim, 2,5 mL de NaCl a 1% e foram adicionados 3 mL de *n*-heptano, e a amostra foi centrifugada a 730 g durante 5 min. O excesso de umidade foi removido por adição de 0,1 g de sulfato de sódio anidro (Na₂SO₄) (Barbosa et al., 2014).

Os ésteres metílicos foram quantificados e identificados em cromatógrafo Agilent 7890 A (Agilent Technologies, Waldbronn, Alemanha) com detector de ionização de chama

(FID) e uma coluna capilar de sílica DB-5 (difenil 5% e dimetilpolisiloxano 95%, 30 m x 0,25 mm) (Agilent Technologies, Waldbroon, Alemanha). As condições de análise foram: temperatura inicial da coluna 150 °C; taxa de aquecimento 4° C/min até 280 °C; 280 °C (15 min). As temperaturas do detector e injetor foram de 250 °C e 290 °C, respectivamente. Hélio foi utilizado como gás de arraste com fluxo de 1 mL/min. O volume de injeção foi 2 µL e a razão do split de 1:39. Os ésteres metílicos foram identificados pela comparação com tempos de retenção de padrões de ésteres metílicos de ácidos graxos (Supelco FAME mix C4-C24, Bellefonte, PA, USA). A quantidade relativa dos ésteres metílicos foi determinada pela área integrada de cada pico e expressa em porcentagem da área total de todos os picos.

2.4. *Transesterificação do óleo*

As reações de transesterificação foram realizadas em frascos de 250 mL acoplado com condensadores de refluxo e um agitador magnético com termômetros ligados. Antes de produção de biodiesel, os óleos (30 a 100 g) foram aquecidos a 50 °C, seguido pela adição de metanol (razão molar metanol/óleo 6:1) e H₂SO₄ (0,5% peso/peso do óleo). A catálise ácida foi realizada durante 30 min a 60° C a 300 rpm/min. Subsequentemente, 1,0% p.v. de KOH foram adicionadas a mistura e deixado reagir durante 1 h (transesterificação básica). Após a separação gravimétrica num funil durante 24 horas, a camada superior (biodiesel) foi recolhida para análise e a fase inferior (glicerol) foi descartada. O catalisador residual que compreende metanol e sabão foram removidos por meio de lavagens sucessivas até que a água de lavagem estar neutra. O biodiesel lavado foi seco sob sulfato de sódio anidro e, subsequentemente, filtrou-se sob pressão reduzida.

O rendimento biodiesel foi calculado usando a seguinte equação:

Rendimento de biodiesel (peso %) = Quantidade de FAME (g) x 100%/Quantidade de óleo usado (g).

2.5. Propriedades físico-químicas do óleo e biodiesel

A viscosidade cinemática e densidade dos óleos foram determinadas a 15 e 40° C, respectivamente, utilizando um viscosímetro Anton Paar SVM 3000/G2 digital Stabinger, de acordo com a American Society for Testing and Materials (ASTM, 2012). O índice de acidez foi determinado utilizando o método AOAC no. 969.18 (AOAC, 1990). A percentagem de ácidos graxos livres (FFA%) foi determinada de acordo com Akbar et al. (2009). O índice de saponificação (SN) e o valor de iodo (IV) foram calculados usando as equações 1 e 2, respectivamente (Kalayasiri et al., 1996).

$$\text{(Eq. 1) SN} = \Sigma (560 \times A_i) / MW_i$$

$$\text{(Eq. 2) IV} = \Sigma (254 \times D \times A_i) / MW_i$$

Onde: A_i é a porcentagem de ácidos graxos; MW_i é o peso molecular; D é o número de duplas ligações; e SN e IV são o número de saponificação e índice de iodo.

As principais propriedades físico-químicas do biodiesel foram determinadas pelos métodos e normas indicadas: densidade (D5002 ASTM), viscosidade cinemática (ASTM D 445), ponto de fulgor (D93 ASTM), ponto de entupimento do filtro a frio (D6371 ASTM), teor de enxofre (ASTM D5453), índice de acidez (ASTM D 664), corrosão em fita de cobre (D130 ASTM), teor de água (ASTM D 95), estabilidade oxidativa (EN 14112), glicerina livre (ASTM D6584) e glicerina total (D6584 ASTM).

2.6. Análises estatísticas

Todas as análises foram realizadas em triplicata. Os dados foram analisados por meio de análise de variância (ANOVA One-way) e teste de Tukey. Todos os testes de significância foram fixados em $p < 0,05$ e os dados analisados em pacote de software Statistica ver. 8.0 (Statsoft Inc., Tulsa, EUA).

3. Resultados e Discussão

3.1. Teor de óleo e características biométricas

As três espécies analisadas apresentaram alto teor de óleo (acima de 30%), tendo *Clusia nemorosa* (60,9%) e *Clusia paralicola* (64,2%) teores acima de 50% (Tabela 2). O teor de óleo observado nas espécies em estudo mostrou-se bastante elevado quando comparamos ao de plantas oleaginosas tradicionais utilizadas no Brasil para a alimentação, como soja (17,4%), palma (32,4%), girassol (23,8%) e milho (11,1%) (Siger et al., 2008) e outras empregadas na indústria de biocombustíveis, como pinhão-manso (34,3%) e mamona (43,2%) (Silva et al., 2014).

Outras espécies desta família já analisadas na literatura também apresentaram teores de óleo acima de 60%, como *Calophyllum inophyllum* L. 76,9% (Adeyeye, 1991), *Caraipa minor* Huber. 74,7% (Pesce, 1985) e *Mesua ferrea* L. 68,5% (Azam et al., 2005). Desta forma, *Clusia paralicola* e *C. nemorosa* demonstram um excelente perfil para a avaliação do potencial de produção de frutos e sementes para a produção de biodiesel.

3.2 Perfil de ácidos graxos

Os ácidos graxos predominantes em *C. nemorosa* e *C. paralicola* foram o oleico (35,2% e 37,1%) e o linoleico (33% e 34,5%), respectivamente (Tabela 3). Composição semelhante também foi observada em *C. inophyllum*, com 30,1% de oleico e 38,4% de linoleico, e *M. ferrea*, 60% de oleico e 15% de linoleico (Adeyeye, 1991; Azam et al., 2005). Elevadas concentrações dos ácidos oleico e linoleico indicam fortemente a aplicação dos óleos de *C. nemorosa* e *C. paralicola* para sua utilização como combustível, assim como *C. inophyllum* que é indicada para a produção de biodiesel e lubrificantes (Venkanna e Venkataramana, 2009). A espécie *T. brevistaminea* obteve em maiores concentrações os

ácidos palmítico (35,5%) e oleico (47,9%) (Tabela 3), composição próxima do óleo de *Garcinia kola* Heckel. uma espécie utilizada na indústria cosmética (23,68% de palmítico; 28,79% de oleico) (Eleyinmi et al., 2006). O óleo desta espécie pode ser indicado para a indústria de cosméticos e biocombustíveis. Contudo, para sua possível aplicação como cosmético ainda são necessários maiores estudos de toxicidade, propriedades sensoriais, entre outras. Infelizmente, ainda existe uma carência de estudos relacionados à química de frutos e sementes e a atividade biológica de óleos fixos e compostos bioativos em espécies de *Clusia* e *Tovomita* nativas e/ou endêmicas das florestas tropicais brasileiras. Os resultados apresentados por *C. nemorosa*, *C. paralicola* e *T. brevistaminea* foram promissores, demonstrando a necessidade de mais estudos com esse enfoque.

3.3 Propriedades físico-químicas do óleo e biodiesel

A determinação das características físico-químicas do óleo indica a qualidade da matéria-prima a ser utilizada na reação de transesterificação e, conseqüentemente, garantir a produção de um biodiesel de boa qualidade. Embora não exista uma especificação definida para óleos vegetais destinados a produção de biodiesel, considera-se como referência a especificação dos parâmetros gerais definidos pelas normas europeia EN 14214 e americana ASTM D6751 (Rashid et al., 2011).

A densidade do óleo variou de 901 kg/m³ (*C. paralicola*) a 904 kg/m³ (*T. brevistaminea*) e foi semelhante ao encontrado em *Mesua ferrea* (900 kg/m³) (Tabela 4). Esse fato pode ser explicado pelo predomínio dos ácidos palmítico, oleico e linoleico. Entretanto, a viscosidade foi bem menor nos óleos investigados (entre 11,3 em *C. paralicola* e 14,9 mm²/s em *T. brevistaminea*) do que em *Calophyllum inophyllum* (21,2 mm²/s) e *Mesua ferrea* (34,10 mm²/s). Baixos índices de viscosidade estão associados ao elevado grau de insaturação de óleos vegetais, fato que ocorreu nas espécies em estudo (entre 53,6% em *T. brevistaminea* a 72,9% em *C. paralicola*) (Tabela 4) (Aslam et al., 2014).

A qualidade do óleo foi avaliada pelos parâmetros de índice de acidez e iodo, porcentagem de ácidos graxos livres e teor de ácido linolênico, fatores que influenciam diretamente a reação de transesterificação. O índice de acidez do óleo (entre 3,42 em *C. nemorosa* e 4,12 mg KOH/g em *T. brevistaminea*) foi reduzido quando comparado de *Calophyllum inophyllum* (29,5 mg KOH/g) e *Mesua ferrea* (18,8 mg KOH/g) (Tabela 4), entretanto, mais elevada que a reportada para soja (0,20 mg KOH/g), girassol (0,15 mg KOH/g) e colza (1,14 mg KOH/g) (Jiao et al., 2013). O limite de acidez para óleos não refinados para produção de biodiesel é 2 mg KOH/g, contudo, em óleos muito ácidos como o da *Jatropha curcas* (36,461 mg KOH/g) (Nayak e Patel, 2010) se recomenda o pré-tratamento ácido, reduzindo significativamente a acidez na produção do biodiesel (Canakci e Gerpen, 2001).

A saponificação variou entre 126,5 em *C. nemorosa* e 202,4 mg KOH/g em *T. brevistaminea* (Tabela 4). Em relação aos demais parâmetros, o índice de acidez e a saponificação não possuem limites especificados por nenhuma metodologia, muito embora sejam utilizados para determinar casos de adulteração por outro óleo bem diferente (Sharma et al., 2008).

Já o índice de iodo (54,1 em *T. brevistaminea* a 96,9 g I₂/100 g em *C. paralicola*) foi mais baixo que *Calophyllum inophyllum* (91,8 g I₂/100 g) e *Mesua ferrea* (131,31 g I₂/100 g) (Tabela 4), soja (132,6 g I₂/100 g), girassol (142,2 g I₂/100 g) e canola (115,5 g I₂/100 g) (Jiao et al., 2013). O valor do índice de iodo informa as quantidades de ligações insaturadas no óleo e o grau de oxidação dos óleos vegetais. Este parâmetro não pode ultrapassar 120 g I₂/100 g, e de acordo com o resultado apresentado, não ocorreu nenhum processo de oxidação significativa.

O rendimento do biodiesel foi elevado, acima de 98% do peso, muito superior a *Calophyllum inophyllum* (86,8%) e *Mesua ferrea* (90%) (Tabela 5). A conversão de ácidos

graxos e triglicerídeos em ésteres metílicos % em massa é um parâmetro utilizado para determinar o nível de eficiência alcançado no processo de produção de biodiesel. Esses valores são ainda superiores ao de oleaginosas tradicionais como mamona (78,4%), pinhão-manso (91,5%), soja (95%) e algodão (96,9%) (Berchmans e Hirata, 2008; Leung et al., 2010; Fernandes et al., 2015). A viscosidade e a densidade ficaram dentro dos limites estabelecidos pelas normas EN 14214 e ASTM D6751 (Tabela 5).

O índice de acidez (0,31 em *C. paralicola* a 0,43 mg KOH/g em *T. brevistaminea*), teor de água (286 em *C. paralicola* a 323 mg kg⁻¹ em *T. brevistaminea*) e a estabilidade oxidativa (6,2 em *C. paralicola* a 6,8 h em *T. brevistaminea*) do biodiesel das espécies de Clusiaceae estão dentro das normas EN 14214 e ASTM D6751, bem como o ponto de fulgor (Tabela 5). O monitoramento da acidez no biodiesel é de grande importância uma vez que o aumento desse índice pode significar a presença de água. Por sua vez, o teor de água, além de promover a hidrólise do biodiesel resultando em ácidos graxos livres, também está associado à proliferação de microrganismos e corrosão em tanques de estocagem com deposição de sedimentos, não devendo, portanto, ultrapassar os limites estabelecidos (Knothe, 2005). A estabilidade oxidativa do biodiesel está diretamente relacionada com o grau de insaturação dos alquilésteres presentes. Quanto maior o número de insaturações, mais susceptível está a molécula à degradação tanto térmica quanto oxidativa, formando produtos insolúveis que ocasionam problemas de formação de depósitos e entupimento do sistema de injeção de combustível do motor (Abramovic e Abram, 2005).

O ponto de fulgor (163 em *C. paralicola* a 167 °C em *T. brevistaminea*) é determinado pela ASTM D6751 e EN 14214, que consiste na temperatura em que é observada a liberação de vapores de um líquido, em quantidade suficiente para formar uma mistura inflamável com o ar, sendo um parâmetro relacionado com o transporte, manuseio e armazenamento do biodiesel de forma segura (Gbogouri et al., 2011) (Tabela 5). Os resultados indicam que o

biodiesel produzido a partir das espécies estabelecidas possui ponto de fulgor maior do que a do diesel convencional e altos valores geralmente diminuem o risco de incêndio, sendo esta uma vantagem do biodiesel em relação ao diesel de petróleo.

O teste de ponto de entupimento de filtro a frio (cold filter plugging point - CFPP) foi realizado utilizando o método ASTM D6371, com valores que variaram de -5 a -11. As normas ASTM D6751 e a EN 14214 não mencionam um parâmetro de baixa temperatura em sua lista de especificações (Tabela 5), entretanto, é preferível que esses valores sejam consideravelmente baixos para melhoria do desempenho de biodiesel a baixas temperaturas (Knothe, 2006). Os valores de CFPP encontrados em *C. nemorosa* e *C. paralicola* são satisfatórios quando se leva em conta que são espécies com alta porcentagem (71,5% e 72,9%) de ácidos insaturados de cadeia longa (Tabela 3), diferentemente de *Calophyllum inophyllum* que apresentou um valor de 9, o que é prejudicial em países frios (Tabela 5). CFPP é um dos principais parâmetros do fluxo a frio do biodiesel e têm como a finalidade garantir a operacionalidade de compressão-ignição de motores a baixas temperaturas relativas, sendo bastante aplicável para regiões frias do mundo (Moreira et al., 2013).

O teste de corrosividade ao cobre é um parâmetro que determina a capacidade potencial do combustível causar corrosão em peças metálicas, que podem ser do motor ou do tanque de armazenamento (Lôbo et al., 2009). Esta propriedade está associada à presença de ácidos ou de compostos de enxofre e os valores obtidos estavam dentro dos limites especificados pela norma ASTM D 6751 e EN 14214 para as espécies de Clusiaceae, exceto *C. paralicola* (2) que não se enquadrou na norma EN 14214 (Tabela 5).

O enxofre é um típico veneno de catalisadores e, portanto, afeta os conversores catalíticos no diesel mineral também está associada à emissão de material particulado, danos à saúde e à corrosão de partes do motor, atribuída aos ácidos sulfúrico e sulfônicos formados durante a oxidação do combustível (Anastopoulos et al., 2005). O biodiesel, no entanto,

possui quantidades muito baixas de enxofre e excelente lubricidade, podendo atuar como aditivo para correção da lubricidade do diesel mineral. As espécies de Clusiaceae estudadas (3,08 a 4,01 mg kg⁻¹) mantiveram dentro deste limite estabelecidos pela norma EN 14214, a qual estabelece o valor máximo de enxofre no biodiesel de 10 mg kg⁻¹ (Tabela 5).

A concentração de contaminantes inorgânicos no biodiesel pode ser avaliada com base no teor de cinzas sulfatadas. O método baseia-se na queima da amostra na presença de ácido sulfúrico, a fim de converter as impurezas metálicas em seus sulfatos correspondentes, reduzindo a perda de material por volatilização (Bowman et al., 2006). O teor máximo de cinzas sulfatadas em biodiesel é de 0,020 % de massa, estabelecido pela norma EN 14214, e todas as espécies estiveram dentro deste limite (Tabela 5).

Outra observação importante é o baixo índice de glicerina total nos ésteres observado nessas espécies (0,09 em *C. nemorosa* a 0,16% massa em *C. paralicola*), sugerindo uma boa purificação do biodiesel (Tabela 5). A glicerina é um co-produto da reação de transesterificação de óleos e gorduras sua alta concentração no biodiesel provoca problemas de armazenamento, formação de sedimentos, entupimento dos bicos injetores do motor e emissões de aldeídos (Sharma et al., 2008). Observa-se que a maioria das propriedades físico-químicas do óleo e biodiesel das Clusiaceae estudadas encontra-se dentro dos limites estabelecidos, confirmando o potencial do biodiesel dessas espécies como fonte alternativa de combustível.

4. Conclusões

Pelo fato de possuírem sementes médias (entre 5,6 e 8,6 mm de comprimento) associadas a elevados conteúdos de óleo (40%, chegando até a 64,2), as espécies analisadas no presente estudo são potencialmente promissoras como fontes oleaginosas para os ambientes de floresta tropical como a Caatinga (floresta seca) e Floresta Atlântica (floresta

úmida). As sementes das espécies estudadas apresentaram elevado rendimento na produção de biodiesel (acima de 98%). As espécies tiveram baixos valores de densidade, viscosidade, teor de água e ponto de entupimento de filtro a frio e obtiveram propriedades físico-químicas (ponto de fulgor, teor de enxofre, cinzas sulfatadas, índice de acidez, corrosão, estabilidade oxidativa e glicerina total) dentro do especificado nas normas EN 14214 e ASTM D6751, exceto *C. paralicola* que no parâmetro corrosão não se enquadrou na norma EN 14214, o que reforça a confiança de utilização dessas espécies pelo mercado e indústria automotiva, garantindo assim o sucesso do novo combustível isolado ou como mistura. É notório o destaque das espécies do gênero *Clusia*, por apresentarem teores de óleo acima de 60%, além de rendimentos de biodiesel acima de 99%. Apontamos a necessidade de maiores estudos que avaliem as demais propriedades do biodiesel e de sua mistura, sua performance em motores e sua qualidade ao armazenamento, bem como características agriculturáveis das plantas, sua fenologia, ecologia e aspectos de cultivo.

5. Referências

- Abburra RE, Zygadlo JA, Guzman CA (1992) Fatty acids variation in Sapindaceae. *Biochem Syst Ecol* 20:469-471
- Abramovic H, Abram V (2005) Physico-Chemical Properties, Composition and Oxidative Stability of *Camelina sativa* Oil. *Food Technol Biotechnol* 43:63–70
- Aderibigbe SA (2012) Antimicrobial Activities of *Garcinia kola* Seed Oil against Some Clinical Microbial Isolates. *Int Res J Pharmaceuticals* 2:68-72
- Adeyeye A (1991) Studies of seed oils of *Garcinia kola* and *Calophyllum inophyllum*. *J Sci Food Agric* 57:441-442.

- Ahmad MM, Husain SK, Ahmad M, Osman SM (1976) Cyclopropenoid fatty acids in seed oils of *Sida acuta* and *Sida rhombifolia* (Malvaceae). *J Am Oil Chem Soc* 53:698-699
- Anastopoulos G, Lois E, Karonis D, Kalligeros S, Zannikos F (2005) Impact of Oxygen and Nitrogen Compounds on the Lubrication Properties of Low Sulfur Diesel Fuels. *Energy* 30: 415-426
- Anwar F, Rashid U, Ashraf M, Nadeem M (2010) Okra (*Hibiscus esculentus*) seed oil for biodiesel production. *Applied Energy* 87:779–785
- Aslam M, Saxena P, Sarma AK (2014) Green Technology for Biodiesel Production From *Mesua Ferrea* L. Seed Oil. *Energ Environ Res* 4:11-21
- Atabani E, Mofijur M, Masjuki HH, Badruddin IA, Kalam MA, Chong WT (2014) Effect of *Croton megalocarpus*, *Calophyllum inophyllum*, *Moringa oleifera*, palm and coconut biodiesel–diesel blending on their physico-chemical properties. *Ind Crop Prod* 60:130–137
- Audu-Peter JD, Olorunfemi PO, Njoku N (2006) Antimicrobial and pharmaceutical properties of *Khaya senegalensis* seed oil. *J Pharm Bioresource* 3:19-24
- Avato P, Rosito I, Papadia P, Fanizzi FP (2005) Cyanolipid-rich Seed Oils from *Allophylus natalensis* and *A. dregeanus*. *Lipids* 40:1-6
- Ayodele OO, Dawodu FA (2014) Production of biodiesel from *Calophyllum inophyllum* oil using a cellulose-derived catalyst. *Biomass Bioenerg* 70:239-248
- Azam MM, Waris A, Nahar NM (2005) Prospects and potential of fatty acid methyl esters of some non-traditional seed oils for use as biodiesel in India. *Biomass Bioenerg* 29:293-302
- Barbosa MO, Almeida-Cortéz JS, Silva SI, Oliveira AFM (2014) Seed oil content and fatty acid composition from different populations of *Calotropis procera* (Aiton) W. T. Aiton (Apocynaceae). *J Am Oil Chem Soc* 21: 1433-1441

- Berchmans HJ, Hirata S (2008) Biodiesel production from crude *Jatropha curcas* L. seed oil with a high content of free fatty acids. *Bioresour Technol* 1:1716 - 1721
- Bowman M, Hilligoss D, Rasmussen S, Thomas R (2006) Biodiesel: A Renewable and Biodegradable Fuel. *Hydrocarbon Processing* 103-106
- Caluwé E, Halamová K, Damme PV (2010) *Adansonia digitata* L. – A review of traditional uses, phytochemistry and pharmacology. *Afrika Focus* 23:11-51
- Canakci M, Gerpen JV (2001) Biodiesel production from oils and fats with high free fatty acids. *Transactions of the ASAE* 44:1429
- Chave MH, Barbosa AS, Neto JMM (2004) Caracterização Química do Óleo da Amêndoa de *Sterculia striata* St. Hil. et Naud. *Quim Nova* 27: 404-408
- Diniz ZN, Bora OS, Neto VQ, Cavalheiro JMO (2008) *Sterculia striata* seed kernel oil: characterization and thermal stability. *Grasas Aceites* 59:160-165
- Djenontin TS, Wotto VD, Avlessi F, Lozano P, Sohounholué DKC, Pioch D (2012) Composition of *Azadirachta indica* and *Carapa procera* (Meliaceae) seed oils and cakes obtained after oil extraction. *Ind Crop Prod* 38:39– 45
- Fernandes DM, Souza RMF, Oliveira A, Morais SSL, Richter EM, Munoz RAA (2015) *Moringa oleifera*: a potential source for production of biodiesel and antioxidant additives. *Fuel* 2:75 - 80
- Gadwal R, Naik GR (2014) *Hibiscus* species seed oils as potential feedstock for biodiesel production, its performance in compression ignition engine along with its blends. *J Chem Pharm Res* 6:212-223
- Gbogouri GA, Brou K, Linder M, Tehrany EA, Gnakri D, Zoro BIIA (2011) Comparative study of physicochemical and thermal properties of the seed oils of three cucurbit species. *Int J Biol Chem Sci* 5:1165-1177

- Ghadge SV, Raheman H (2006) Process optimization for biodiesel production from mahua (*Madhuca indica*) oil using response surface methodology. *Bioresour Technol* 97:379–384
- Gouw TH, Vlugter JC, Roelands CJA (1966) Physical properties of fatty acid methyl esters: VI. Viscosity. *J Am Oil Chem Soc* 43:433 – 434
- Hosamani KM, Hiremath VB, Keri RS (2009) Renewable energy sources from *Michelia champaca* and *Garcinia indica* seed oils: A rich source of oil. *Biomass Bioener* 33:267–270
- Jiao J, Gai Q, Wei F, Luo M, Wang W, Fu J, Zu Y (2013) Biodiesel from *Forsythia suspense* [(Thunb.) Vahl (Oleaceae)] seed oil. *Bioresour Technol* 143:653–656
- Jorge N, Luzia DMM (2012) Caracterização do óleo das sementes de *Pachira aquatica* Aublet para aproveitamento alimentar. *Acta Amaz* 42:149-156
- Kashmiri MA, Yasmin S, Ahmad M, Mohy-Ud-Din A (2009) Characterization, Compositional Studies, Antioxidant and Antibacterial Activities of Seeds of *Abutilon indicum* and *Abutilon muticum* Grown Wild in Pakistan. *Acta Chim Slov* 56:345–352
- Kiliç CS, Aslan S, Kartal M, Coskun M (2011) Fatty Acid Composition of *Hibiscus trionum* L. (Malvaceae). *Rec Nat Prod* 5:65-69
- Knothe G (2005) Dependence of biodiesel fuel properties on the structure of fatty acid alkyl esters. *Fuel Process Technol* 86:1059
- Konan YL, Sylla MS, Doannio JMC, Traoré S (2003) Comparison of the effect of two Excipients (karit nut butter and vaseline) on the efficacy of *Cocos nucifera*, *Elaeis guineensis* and *Carapa procera* oil-based repellents formulations against mosquitoes biting in Ivory Coast. *Parasit Vectors* 10:181–184
- Krishnakumar J, Venkatachalapathy VSK, Elancheliyan S (2008) Technical aspects of biodiesel production from vegetable oils. *Thermal Sci* 12, 159-169

- Kumar V, Jain M, Pal A (2014) An experimental study on biodiesel production of cotton seed oil through conventional method. *Int J Eng Technol Man Appli Sci* 2:178-186
- La Salles KTSL, Meneghetti SMP, La Salles WF, Meneghetti MR, Santos ICF, Silva JPV, Carvalho SHV, Soletti JI (2010) Characterization of *Syagrus coronata* (Mart.) Becc. oil and properties of methyl esters for use as biodiesel. *Ind Crop Prod* 1: 518-521
- Lee JD, Woolard MDA, Slepser JR, Smith VR, Pantalone CNN, Liu HR, White PJ (1992) Oxidative stability of soybean oils with altered fatty acid compositions. *J Am Oil Chem Soc* 69:528 - 532
- Leung DYC, Wu X, Leung MKH (2010) A review on biodiesel production using catalyzed transesterification. *Appl Energy* 2:1083-1095
- Lôbo IP, Ferreira SLC, Cruz RS (2009) Biodiesel: parâmetros de qualidade e métodos analíticos. *Quim Nova* 32:1596-1608
- Macedo FL, Candeia RA, Sales LLM, Dantas MB, Souza AG, Conceição MM (2011) Thermal characterization of oil and biodiesel from oiticica. *J Therm Anal Calorim* 1: 531-534
- Mangas MBP, Rocha FN, Suarez PAZ, Meneghetti SMP, Barbosa DC, Santos RB, Carvalho SHV, Soletti JI (2012) Characterization of biodiesel and bio-oil from *Sterculia striata* (chicha) oil. *Ind Crop Prod* 36:349–354
- Mayworm MAS, Nascimento AS, Salatino A (1998) Seeds of species from the “caatinga”: proteins, oils and fatty acid contents. *Braz J Bot* 1:299-303
- Miralles J, Pares Y (1980) Fatty acid composition of some oils from Senegalese seeds. *Rev Fr Crops Gras* 27:393-396
- Moreira MAC, Arrúa MEP, Antunes AC, Fiuza TER, Costa BJ, Neto PHW, Antunes SEM (2013) Characterization of *Syagrus romanzoffiana* oil aiming at biodiesel production. *Ind Crop Prod* 3:57-60

- Nakpong P, Wootthikanokkhan S (2010) Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) oil as an alternative feedstock for biodiesel production in Thailand. *Fuel* 89:1806–1811
- Nanasaheb DS, Chandrakant MK (2012) Preparation of Methyl Esters from *Thespesia populnea* L. Oil and its Engine Exhausts Studies. *Int J Green Energ* 9:130-138
- Nayak BS, Patel KN (2010) Physicochemical Characterization of Seed and Seed Oil of *Jatropha curcas* L. Collected from Bardoli (South Gujarat). *Sains Malaysiana* 39:951–955
- Ong HC, Silitonga AS, Masjuki HH, Mahlia TMI, Chong WT, Boosroh MH (2013) Production and comparative fuel properties of biodiesel from non-edible oils: *Jatropha curcas*, *Sterculia foetida* and *Ceiba pentandra*. *Energ Convers Manage* 73:245-55
- Park SW, Rhee KC (1988) A capillary GC determination of cyclopropenoid fatty acids in cottonseed oils. *J Food Sci* 53:1497-1502
- Pesce C (2009) Oil palms and other oilseeds of the Amazon. 1985. Reference Publ. Inc. Michigan.
- Pinho RS, Oliveira AFM, Silva SI (2009) Potential oilseed crops from de semiarid region of northeastern Brazil. *Bioresource Technol* 2:6114-6117
- REO (2003) Regulations on Edible Oils. Official gazette of the republic of Slovenia. No. 56 - 2658/1999, 7183 - 7186
- Sethusundaram PP, Govindasamy P, Arulshri KP (2012) *Sterculia* Oil on Single Cylinder Four Stroke Diesel Engine with Water Cooled Exhaust Gas Recirculation. *Eur J Sci Res* 91: 91-99
- Sharma YC, Singh B, Upadhyay SN (2008) Advancements in development and characterization of biodiesel: a review. *Fuel* 87, 23-55
- Siger A, Nogala-Kalucka M, Lampart-Szczapa E (2008) The content and antioxidant activity of phenolic compounds in cold-pressed plant oils. *J Food Lip* 15:137–149

- Silitonga AS, Masjuki HH, Mahlia TMI, Ong HC, Kusumo F, Aditiya HB, Ghazali NNN (2015) *Schleichera oleosa* L oil as feedstock for biodiesel production. *Fuel* 156:63–70
- Silitonga AS, Ong GC, Masjuki HH, Mahlia TMI, Chong WT, Yusaf TF (2013) Production of biodiesel from *Sterculia foetida* and its process optimization. *Fuel* 111:478-484
- Silitonga AS, Ong HC, Mahlia TMI, Masjuki HH, Chong WT (2013) Characterization and production of *Ceiba pentandra* biodiesel and its blends. *Fuel* 108:855-858
- Silva ACO, Oliveira AFM, Santos YAC, Silva SI (2010) An approach to chemotaxonomy to the fatty acid content of some Malvaceae species. *Biochem Syst Ecol* 38:1035–1038
- Silva SI, Oliveira AFM, Negri G, Salatino A (2014) Seed oils of Euphorbiaceae from the Caatinga, a Brazilian tropical dry Forest. *Biomass Bioenerg* 2:124-134
- Spino C, Dodier M, Sotheeswaran S (1998) Anti-HIV coumarins from *Calophyllum* seed oil. *Biorg Med Chem Lett* 8:3475-3478
- Sundar Rao K, Jones GP, Rivett DE, Tucker DJ (1989) Cyclopropene fatty acids of six seed oils from Malvaceae. *J Am Oil Chem Soc* 66:360–361
- Venkanna BK, Venkataramana RC (2009) Biodiesel production and optimization from *Calophyllum inophyllum* linn oil (honne oil) – A three stage method. *Bioresour Technol* 100:5122-5125
- Yogendra SK, Mahanta P, Subhash CMYS, Kushwah, PM (2008) Some studies of fuel characteristics of *Mesua Ferrea*. *Heat Transfer Engineering* 29:405-409
- Yunus Khan TM, Atabani AE, Irfan AB, Ankalgi RF, Khan TKM, Badarudin A (2014) *Ceiba pentandra*, *Nigella sativa* and their blend as prospective feedstocks for biodiesel. *Ind Crop Prod* 65:367-373

Tabela 1. Nome popular, local de coleta e coordenadas geográficas de três espécies de Clusiaceae.

Espécie	Voucher	Nome Popular	Ecosistema	Coordenadas geográficas
<i>Clusia nemorosa</i> G.Mey.	UFP 74.274	Orelha-de-burro	Caatinga	S 8°37'50" W 37° 9'90"
<i>C. paralicola</i> G. Mariz	UFP 74.325	Pororoça	Floresta Atlântica	S 8°40'60" W 35°35'41"
<i>Tovomita brevistaminea</i> Engl.	UFP 74.554	Mangue-da-mata	Floresta Atlântica	S 8°20'03" W 34°56'38"

Tabela 2. Teor de óleo e características biométricas das sementes de três espécies de Clusiaceae.

Espécie	Óleo (%)	Biometria (mm)**			Peso (g)**
		Comprimento	Largura	Espessura	
<i>Clusia nemorosa</i>	60,9 ^b ± 1,5	5,6 ^b ± 0,7	4,7 ^b ± 0,4	3,6 ^b ± 0,3	7,2 ± 0,3
<i>C. paralicola</i>	64,2 ^a ± 0,9	5,7 ^b ± 0,7	4,7 ^b ± 0,4	3,6 ^b ± 0,3	9,9 ± 0,6
<i>Tovomita brevistaminea</i>	49,5 ^c ± 0,4	8,6 ^a ± 0,2	5,5 ^a ± 0,3	4,1 ^a ± 0,4	12,2 ± 0,8

Letras diferentes na mesma coluna indicam diferenças significativas entre as espécies ($p < 0,05$). ** Os dados são média ± DP, $n = 50$ para todas as espécies.

Tabela 3. Composição de ácidos graxos de três espécies de Clusiaceae.

Ácidos graxos (%)	<i>C. n</i>	<i>C. p</i>	<i>T. b</i>
Palmítico (16:0)	13 ± 0,3 ^b	14,4 ± 0,7 ^b	35,5 ± 0,2 ^a
Esteárico (18:0)	2,8 ± 0,1 ^c	6 ± 0,2 ^a	5,6 ± 0,1 ^b
Araquídico (20:0)	0,6 ± 0,4	-	2 ± 0,3
Beênico (22:0)	11,6 ± 0,2 ^a	5,4 ± 0,3 ^b	2,4 ± 0,5 ^c
Lignocérico (24:0)	0,5 ± 0,3	-	-
Saturados Totais	28,5	25,8	45,5
Oleico (18:1)	35,2 ± 0,1 ^c	37,1 ± 0,1 ^b	47,9 ± 0,2 ^a
Eicosenoico (20:1)	3 ± 0,1	1,3 ± 0,5	-
Monoinsaturados Totais	38,2	38,4	47,9
Linoleico (18:2)	33 ± 0,3 ^b	34,5 ± 0,2 ^a	4,9 ± 0,5 ^e
Linolênico (18:3)	0,3 ^e ± 0,2	-	0,8 ^d ± 0,3
Polinsaturados Totais	33,3	34,5	5,7
Outros ácidos graxos	-	1,3	0,9
Insaturados Totais	71,5	72,9	53,6
Insat/Sat (razão)	2,5	2,8	1,1

Letras diferentes na mesma linha indicam diferenças significativas entre as espécies ($p < 0,05$). Todos os dados são médias aritméticas de triplicatas ± DP. - = menor que 0,1%. Espécies: *C.n* = *C. nemorosa*; *C.p* = *C. paralicola*; *T. b* = *T. brevistaminea*.

Tabela 4. Propriedades físico-químicas de óleos de sementes de três espécies de Clusiaceae avaliadas neste estudo e em estudos anteriores.

Propriedades físico-químicas	Clusiaceae				
	<i>C. n</i>	<i>C. p</i>	<i>T. b</i>	<i>C. i</i> ^a	<i>M. f</i> ^b
Densidade a 15°C (kg/m ³)	902	901	904	-	900
Viscosidade cinemática 40°C (mm ² /s)	12,7	11,3	14,9	21,2	34,1
Índice de acidez (mg KOH/g)	3,42	3,76	4,12	29,5	18,8
Índice de Iodo (g I ₂ /100 g)	94,6	96,9	54,1	91,8	131,3
Valor de saponificação (mg KOH/g)	126,5	196,9	202,4	192,4	-
Ácidos graxos livres (%)	1,71	1,88	2,06	14,7	9,40
Ácido linolênico [% (m/m)]	0,3	*	0,8	-	0,3

C.n = *C. nemorosa*; *C.p* = *C. paralicola*; *T. b* = *T. brevistaminea*; *C. i* = *Calophyllum inophyllum*^a; *M. f* = *Mesua ferrea*^b; ^a Ayodele e Dawodu (2014); ^b Aslam et al. (2014); * não detectado; - = não analisado.

Tabela 5. Propriedades físico-químicas do biodiesel de espécies de Clusiaceae neste estudo e em estudos anteriores.

Propriedades físico-químicas	Clusiaceae					Especificações do biodiesel	
	<i>C. n</i>	<i>C. p</i>	<i>T. b</i>	<i>C.i</i> ^a	<i>M.f</i> ^b	ASTM D6751	EN 14214
Rendimento do biodiesel (wt %)	99,3	99,1	98,6	86,8	90	-	-
Densidade a 15 °C (kg/m ⁻³)	884	887	891	877,4	873	-	860-900
Viscosidade cinemática 40 °C (mm ² /s ⁻¹)	3,5	3,1	3,2	5,74	5,52	1,9-6,0	3,5-5,0
Ponto de fulgor (°C)	165	163	167	93,5	113	130 (min,)	101 (min,)
Cold filter plugging point (°C)	-11	-8	-5	9	-	-	-
Teor de enxofre (mg kg ⁻¹)	3,95	4,01	3,08	-	-	-	10
Cinzas sulfatadas (wt.%)	0,02	0,01	0,01	-	-	-	0,020
Índice de acidez (mg KOH/g)	0,35	0,31	0,43	-	1,8	0,50 (max,)	0,50 (max,)
Corrosão (50° C; 3h)	1	2	1	-	-	3	1
Água (mg kg ⁻¹)	294	286	323	-	-	-	500 (max,)
Estabilidade oxidativa (h; 110 °C)	6,7	6,2	6,8	9,42	-	3,0 (min,)	6,0 (min,)
Glicerina livre (% massa)	0,05	0,013	0,03	-	-	-	-
Glicerina total (% massa)	0,09	0,16	0,14	-	-	0,24 (max,)	0,25 (max,)

C.n = *C. nemorosa*; *C.p* = *C. paralicola*; *T. b* = *T. brevistaminea*; *C.i* = *Calophyllum inophyllum*^a; *M.f* = *Mesua ferrea*^b. ^a Ayodele e Dawodu, (2014); ^b Aslam et al., (2014); -* não detectado; - = não analisado.

6 ARTIGO 4



Qualis: B1

Fator de Impacto: 1.505

Manuscrito a ser submetido no periódico *Journal of the American Oil*

Chemists' Society

Avaliação do potencial de sementes de espécies de Malvaceae para a produção de biodiesel

Diogenes José Gusmão Coutinho • Mariana Oliveira Barbosa • Renata Janaína Carvalho de Souza • Adervando Sebastião da Silva • Suzene Izídio da Silva • Antonio Fernando Moraes de Oliveira

Resumo - Há necessidade de busca de fontes de óleo de sementes não-convencionais para a produção de biodiesel, devido a questões como oferta e disponibilidade, bem como a competição de espécies utilizadas tanto para alimento quanto para biocombustível. Neste contexto, características biométricas, perfil de ácidos graxos e propriedades físico-químicas do óleo e biodiesel de quatro espécies de Malvaceae (*Basiloxylon brasiliensis*, *Ceiba pentandra*, *Christiana africana* e *Sterculia excelsa*) foram investigados como possíveis fontes de matéria-prima não convencional com potencialidade para a preparação de biodiesel. As sementes variaram de pequenas (5,8 cm em *Ceiba pentandra* e *Christiana africana*) a grandes (57,2 cm em *Sterculia excelsa*). O teor de óleo foi acima de 30%, com destaque para a *Basiloxylon brasiliensis* com 54,1%. Foram identificados 10 ácidos graxos, sendo os majoritários nas espécies os ácidos palmítico, oleico e linoleico. Em todas as espécies encontramos um perfil predominantemente insaturado (entre 63% em *Sterculia excelsa* e 83,1% em *Christiana africana*). O rendimento do biodiesel foi acima de 98%. Os parâmetros de densidade, ponto de fulgor, teor de enxofre, cinzas sulfatadas, índice de acidez, corrosão, água e glicerina total e livre do biodiesel estiveram dentro dos valores estabelecidos pelas normas ASTM D6751 e EN 14214. Quando comparados com a literatura, o rendimento e as propriedades do biocombustível das espécies do presente estudo exibiram um melhor rendimento do biodiesel e excelentes propriedades de ponto de entupimento de filtro a frio, teor de enxofre, estabilidade oxidativa e glicerina total e livre.

Palavras-chave biomassa • oleaginosas • bioprospecção • propriedades do combustível

Departamento de Botânica, Universidade Federal de Pernambuco, Av. Prof. Moraes Rego s/n, Cidade Universitária, 50.670-901, Recife, PE, Brasil

*E-mail: afmoliveira@gmail.com

R. J. C. Souza

^bDepartamento de Energia Nuclear, Universidade Federal de Pernambuco, Av. Prof. Luís Freire, Cidade Universitária, 50.740-540, Recife, PE, Brasil

A. S. Silva

Departamento de Química, Universidade Federal da Paraíba, 58059-900, João Pessoa, PB, Brasil

S. I. Silva

Departamento de Biologia, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Av. Dom Manoel de Medeiros s/n, Dois Irmãos, 52171-900 Recife, PE, Brasil

1. Introdução

Mais de 80% das necessidades energéticas do mundo são provenientes de fontes como carvão, petróleo e gás natural. Entretanto, tais fontes de energia não-renováveis estão sendo esgotadas ao passar do tempo, além de causar a poluição ambiental por emitirem gases que provocam o efeito estufa. Por essa razão, muito esforço tem sido dedicado à busca de fontes de energia alternativa no mundo, especialmente aquelas derivadas de matérias-primas renováveis como, por exemplo, a biomassa de sementes (Rashid et al., 2011).

Atualmente, o biodiesel (Knothe et al., 2010) um combustível biodegradável, preparado a partir de óleos vegetais, gorduras animais, resíduos de óleos de cozinha, ou potencialmente outras matérias-primas como algas está ganhando impulso. Um dos principais

problemas da produção de biodiesel é a sua viabilidade econômica, principalmente devido ao alto custo dos óleos vegetais como palma, colza, soja e girassol, utilizados como principais matérias-primas na atualidade (Zhang et al., 2003; Knothe et al., 2010). Além disso, o consumo de óleos comestíveis para a produção de biodiesel levou a um problema alimento *versus* combustível, isto é, tem se notado que o uso de óleos comestíveis para produção de biodiesel tem afetado a disponibilidade e preço desses óleos na economia. A utilização de matérias-primas de baixo custo, como óleos de cozinha e óleos de sementes não-comestíveis, pode reduzir os custos de produção do biodiesel. Alguns óleos não-convencionais e não comestíveis foram investigados como matérias-primas de biodiesel: camelina (Frohlich e Rice, 2005), coentro (Moser e Vaughn, 2010), jatropha (Shah et al., 2004), moringa (Rashid et al., 2008), quiabo (Anwar et al., 2010), dentre outros.

Quando se trata de óleos vegetais não-comestíveis, a família Malvaceae tem destaque, devido à grande ocorrência de ácidos graxos tóxicos, denominados ciclopropênicos (Chaves et al., 2004), como o estercúlico (ácido 9,10-metileno-octadec-9-enóico) e malvático (ácido 8,9- metileno-heptadec-8-enóico) no óleo de sementes de grande parte de suas espécies. É importante destacar que a família Malvaceae possui algumas espécies aproveitadas economicamente para fins combustíveis como *Adansonia digitata* (Caluwé et al. 2010), *Hibiscus sabdariffa* L. (Nakpong e Wootthikanokkhan, 2010), *Pterygota alata* Rbr (Azam et al., 2005) e *Sterculia Sterculia striata* St. Hil. et Naud. (Chaves et al., 2004; Sethusundaram et al., 2012), *Sterculia foetida* (Silitonga et al., 2013), *Ceiba pentandra* (Mangas et al., 2012) e *Thespesia populnea* (Rashid et al., 2011).

Assim, o óleo de sementes de quatro espécies de Malvaceae ocorrentes na Floresta Atlântica do Brasil foi investigado a fim de averiguar seu potencial como fontes de matéria-prima não convencional para a produção de biodiesel. Para tanto, foram analisadas a

biometria, teor de óleo, perfil em ácidos graxos e propriedades físico-químicas do óleo e biodiesel, comparando com espécies da mesma família descritas na literatura.

2. Materiais e Métodos

2.1. Material vegetal e características biométricas das sementes

Sementes de quatro espécies de Malvaceae: *Basiloxylon brasiliensis* (Allemão) K. Schum. *Ceiba pentandra* (L.) Gaertn. *Christiana africana* DC. *Sterculia excelsa* Mart. foram coletadas em habitats de Floresta Atlântica e Caatinga em diferentes municípios do estado de Pernambuco - Brasil. Exemplares das espécies foram depositados no Herbário Geraldo Mariz UFP da Universidade Federal de Pernambuco (Tabela 1).

O comprimento, largura e espessura de 50 sementes de cada espécie (Tabela 2) foram medidos usando um paquímetro de calibre eletrônico digital deslizante (Starrett Série 727, Athol, MA, EUA) com uma precisão de 0,0005"/0,01 mm. O peso das sementes foi determinado a partir de 50 amostras usando uma balança de precisão (Mettler Toledo AG204, Inc., Hightstown, NJ, USA) para o mais próximo de 0,0001 g. O peso médio de cada semente individual foi calculado com base na biomassa da semente, e a massa final foi expressa em gramas (g).

2.2. Extração de óleo de sementes

O óleo das espécies foi extraído a frio, a fim de evitar a degradação dos ácidos ciclopropênicos pela temperatura, a partir da mistura do *n*-hexano com as sementes trituradas na proporção 3:1, sendo mantidas à temperatura ambiente por 24h. Posteriormente, o material foi filtrado em papel filtro com sulfato de sódio anidro para retirada da umidade e o óleo concentrado em evaporador rotatório sob pressão reduzida a 40 °C. Os resíduos de solvente

foram retirados sob fluxo de nitrogênio gasoso e o óleo foi armazenado em frasco âmbar a - 20 °C até posterior análise.

2.3. Hidrólise e preparação dos ésteres metílicos de ácidos graxos

A hidrólise e transesterificação dos óleos de sementes das espécies de Malvaceae foram realizadas conforme o método ISO 5509 (1978) com modificações. Ao óleo (0.025 g) foram adicionados 3 mL de *n*-heptano e as amostras agitadas em vórtex por 20 seg. Posteriormente, foram acrescentados 1,5 mL de KOH em metanol (2 M) e agitados novamente por 30 seg. As amostras foram centrifugadas por 10 min/730 g, a fase sobrenadante recolhida e armazenada em frascos âmbar a - 20 °C até posterior análise.

Os ésteres metílicos das espécies foram quantificados em cromatógrafo gasoso com detector de ionização de chama (FID) modelo GC – 2010 *Plus* e autoinjeter AOC-20i (Shimadzu, Kyoto, Japan). Foi utilizada uma coluna capilar ZB-5HT (5% fenil, 95% dimetilpolisiloxano, 30 m x 0,25 mm x 0,10 µm) (Phenomenex, Allcrom, Brasil) nas seguintes condições: temperatura inicial da coluna 135 °C (1 min); taxa de aquecimento de 3 °C/min até 215 °C; 215 °C (20 min); as temperaturas do injetor e detector foram 230 °C e 240 °C, respectivamente. Hélio foi utilizado como gás de arraste com fluxo de 0,59 mL/min. O volume de injeção foi de 2 µL e a razão split 1:100. Os ésteres metílicos foram identificados em cromatógrafo gasoso (Agilent Technologies 7820A, Waldbroon, Alemanha) acoplado a espectrômetro de massas (Agilent Technologies 5975C, Waldbroon, Alemanha) utilizando coluna capilar HP 5MS (5% fenil-metilsiloxano, 30 m x 0,25 mm x 0,25 µm) (Agilent Technologies, Waldbroon, Alemanha), sob as mesmas condições descritas. Os espectros de massa obtidos foram comparados com o banco de dados Wiley 229 (Wiley, New York) e a NIST/EPA/NIH Mass Spectral Library (NIST 08).

2.4. *Transesterificação do óleo*

As reações de transesterificação foram realizadas em frascos de 250 mL acoplado com condensadores de refluxo e um agitador magnético com termômetros ligados. Antes de produção de biodiesel, os óleos (30 a 100 g) foram aquecidos a 50 °C, e adicionados de metanol (razão molar metanol/óleo 6:1) e H₂SO₄ (0,5% peso/peso do óleo). A catálise ácida foi realizada durante 30 min a 60° C a 300 rpm/min. Subsequentemente, 1,0% p.v. de KOH foi adicionado a mistura e deixado reagir durante 1 h (transesterificação básica). Após a separação gravimétrica num funil durante 24 horas, a camada superior (biodiesel) foi recolhida para análise e a fase inferior (glicerol) foi descartada. O catalisador residual que compreende metanol e sabão foi removido por meio de lavagens sucessivas até que a água de lavagem estivesse neutra. O biodiesel lavado foi seco com sulfato de sódio anidro e, subsequentemente, filtrado sob pressão reduzida.

O rendimento biodiesel foi calculado usando a seguinte equação:

Rendimento de biodiesel (peso %) = Quantidade de FAME (g) x 100%/Quantidade de óleo usado (g).

2.5. *Propriedades físico-químicas do óleo e biodiesel*

A viscosidade cinemática e densidade dos óleos foram determinadas a 15 e 40 °C, respectivamente, utilizando um viscosímetro Anton Paar SVM 3000/G2 digital Stabinger, de acordo com a American Society for Testing and Materials (ASTM, 2012). O índice de acidez foi determinado utilizando o método AOAC no. 969.18 (AOAC, 1990). A percentagem de ácidos graxos livres (FFA%) foi determinado de acordo com Akbar et al. (2009). O índice de

saponificação (SN) e o valor de iodo (IV) foram calculados usando as equações 1 e 2, respectivamente (Kalayasiri et al., 1996).

$$\text{(Eq. 1) } SN = \Sigma (560 \times Ai) / MWi$$

$$\text{(Eq. 2) } IV = \Sigma (254 \times D \times Ai) / MWi$$

Onde: Ai é a porcentagem de ácidos graxos; MWi é o peso molecular; D é o número de duplas ligações; e SN e IV são o número de saponificação e o índice de iodo respectivamente.

As principais propriedades físico-químicas do biodiesel foram determinadas pelos seguintes métodos e normas: densidade (D5002 ASTM), viscosidade cinemática (ASTM D 445), ponto de fulgor (D93 ASTM), ponto de entupimento do filtro a frio (D6371 ASTM), teor de enxofre (ASTM D5453), índice de acidez (ASTM D 664), corrosão em fita de cobre (D130 ASTM), teor de água (ASTM D 95), estabilidade oxidativa (EN 14112), glicerina livre (ASTM D6584) e glicerina total (D6584 ASTM).

2.6. Análises estatísticas

Todas as análises foram realizadas em triplicata. Os dados foram analisados por meio de análise de variância (ANOVA One-way) e teste de Tukey. Todos os testes de significância foram fixados em $p < 0,05$ e os dados analisados em pacote de software Statistica ver. 8.0 (Statsoft Inc., Tulsa, EUA).

3. Resultados e Discussão

3.1. Teor de óleo e características biométricas

Todas as espécies analisadas apresentaram alto teor de óleo (acima de 30%), entretanto, *Basiloxylon brasiliensis* se destacou apresentando teores acima de 50% (Tabela 2). O conteúdo de óleo observado nas espécies em estudo mostrou-se bastante elevado quando comparamos ao de plantas oleaginosas tradicionais utilizadas na alimentação no Brasil como

soja (17,4%), palma (32,4%), girassol (23,8%) e milho (11,1%) (Siger et al., 2008) e outras empregadas na indústria de biocombustíveis, como pinhão-manso (34,3%) e mamona (43,2%) (Silva et al., 2014).

As espécies de Malvaceae *B. brasiliensis* e *Sterculia excelsa* apresentaram as maiores e mais pesadas sementes (Tabela 2), além de elevado rendimento em óleo das sementes (respectivamente 54,1 e 39,6%). Espécies de Malvaceae geralmente possuem sementes grandes associadas a elevados teores de óleo, o que favorece a aplicação econômica, como observado em *Sterculia foetida* (51,78% de óleo) (Silitonga et al., 2013), *Pachira aquatica* (38,39%) (Jorge e Luzia, 2012) e *Sterculia striata* (25,8%) (Diniz et al., 2008).

3.2 Perfil de ácidos graxos

O óleo de *B. brasiliensis* acumulou maiores teores dos ácidos palmítico (29,08 %) e linoleico (33,09 %); *Ceiba pentandra* concentrou 21,72% de palmítico, 34,7 % de linoleico e 21,57 % de linolenico; *C. africana* 13,49 % de palmítico, 20,22 % de estercúlico e 43,5% de linoleico, e *S. excelsa* 34,2% de palmítico, 21,3% de oleico e 40% de linoleico (Tabela 3). Espécies dessa família são bem caracterizadas pela ocorrência dos ácidos palmítico, oleico e linoleico (Ahmad et al. 1976; Sundar Rao et al. 1989; Azam et al. 2005; Silva et al. 2010). Em geral, algumas delas possuem ótimo valor nutricional (Chaves et al. 2004), muito embora outras sejam tóxicas, devido aos ácidos graxos ciclopropenoídicos como o estercúlico (ácido 9,10-metileno-octadec-9-enóico) e malvático (ácido 8,9- metileno-heptadec-8-enóico) (Chaves et al. 2004). Desta forma, de acordo com o de perfil de ácidos graxos encontrados nestas espécies seus óleos podem ser utilizados na indústria de biocombustíveis, cosmética e farmacológica.

É importante destacar que a família Malvaceae possui algumas espécies aproveitadas economicamente para fins combustíveis como *Hibiscus sabdariffa* L. (Nakpong e Wootthikanokkhan, 2010), *Pterygota alata* Rbr (Azam et al. 2005) e espécies de *Sterculia* (Sethusundaram et al. 2012); cosméticos: *Abutilon indicum* Sweet. e *A. muticum* Sweet. (Kashmiri et al. 2009), *Adansonia digitata* (Caluwé et al. 2010), e *H. trionum* (Kılıç et al. 2011); e farmacológicos: *A. digitata* L. (Caluwé et al. 2010), *Sterculia striata* St. Hil. et Naud. (Chaves et al. 2004) e *Hibiscus trionum* L. (Kılıç et al. 2011).

3.3 Propriedades físico-químicas do óleo e biodiesel

Comparativamente, os óleos estudados possuem maior densidade e viscosidade que o biodiesel (Tabelas 4 e 5). A densidade do óleo das espécies analisadas foi bem elevada (909 em *C. africana* a 928 kg m⁻³ em *S. excelsa*), bem como a viscosidade (32,1 em *S. excelsa* a 44,1 mm²/s em *B. brasiliensis*) (Tabela 4), entretanto, menor do que o observado em *Sterculia foetida* (937 kg m⁻³). A viscosidade cinemática do óleo variou de 32,1 em *S. excelsa* a 44,1 mm²/s⁻¹ em *B. brasiliensis* (Tabela 4). O valor encontrado no presente estudo de densidade e viscosidade para o óleo de *C. pentandra* (920 kg m⁻³ e 33,1 mm²/s) foi semelhante ao reportado por Yunus Khan et al. (2014) (921 kg m⁻³ e 34,5 mm²/s).

O índice de acidez do óleo foi elevado (2,79 em *C. pentandra* a 4,34 mg KOH/g em *C. africana*) (Tabela 4), muito embora em *C. pentandra* esse valor tenha sido muito menor do que o reportado por Yunus Khan et al. (2014) (20,23 mg KOH/g). Após o tratamento ácido do óleo na produção do biodiesel, verifica-se que a acidez do biodiesel das espécies caiu significativamente (Tabela 5). Outros parâmetros do óleo que foram satisfatoriamente inferiores aos limites estabelecidos na EN 14214 foram o índice de iodo (68,5 em *S. excelsa* a 81,2 g I₂/100 g em *B. brasiliensis*), e o teor de ácido linolênico (1,7 em *C. pentandra* a 2,3%

em *S. excelsa*), e de acordo com a *Regulations on Edible Oils* a porcentagem de ácidos graxos livres de óleos não refinados não pode ultrapassar 3% (1,39 em *C. pentandra* a 2,17% em *C. africana*) (Tabela 4).

O rendimento do biodiesel das espécies de Malvaceae analisadas foi elevado (acima de 98% do peso), muito superior ao de *Sterculia foetida* (93,5%) e *C. pentandra* (89,1%) (Tabela 5) e outras Malvaceae de cunho medicinal como *Hibiscus cannabinus* (78,8%) e *Hibiscus sabdariffa* (75,5%) (Gadwal e Naik, 1014), indicadas para biodiesel com *Thespesia populnea* L. (92%) (Nanasaheb e Chandrakant, 2012) e utilizadas na alimentação como o algodão (97,82%) (Kumar et al., 2014) e o quiabeiro *Hibiscus esculentus* (96,8%) (Anwar et al., 2010).

A densidade do biodiesel das espécies analisadas (864 em *C. pentandra* até 894 kg m⁻³ em *C. africana*) está conforme o limite estabelecido pela norma europeia EN 14214. A norma americana não especifica nenhum limite para este parâmetro (Tabela 5). A densidade do biodiesel está diretamente ligada com a estrutura molecular dos ácidos graxos e quanto maior o comprimento da cadeia carbônica e o número de insaturações, maior será a densidade (Krishnakumar *et al.*, 2008).

A viscosidade cinemática do biodiesel foi reduzida drasticamente em comparação ao óleo (2,9 em *B. brasiliensis* a 4,8 mm²/s⁻¹ em *S. excelsa*) (Tabelas 4 e 5). O valor de densidade e viscosidade do biodiesel encontrado para *C. pentandra* foi semelhante ao reportado por Yunus Khan et al. (2014) (861 kg m⁻³ e 4,4 mm²/s⁻¹, respectivamente). Todos os valores encontrados para espécies estão em um intervalo aceitável para a norma ASTM D6751 (Tabela 5). A elevada viscosidade, por sua vez, afeta a atomização do combustível após a injeção na câmara de combustão, formando sedimentos no motor, sendo a principal

propriedade combustível de óleos vegetais puros que inviabiliza a utilização destes como biocombustíveis (Knothe, 2005).

O parâmetro ponto de fulgor (137 em *C. pentandra* a 171 °C em *S. excelsa*) estão acima dos valores mínimos fixados na ASTM D6751 e EN 14214 (Tabela 5). Este parâmetro é a temperatura na qual o biodiesel inflama quando exposta a uma chama ou faísca (Salles et al., 2007). Por outro lado, o ponto de entupimento de filtro a frio esteve entre -1 e 1 °C, abaixo do reportado para *S. striata* (2 °C) e *C. pentandra* (16 °C) (Tabela 5).

O índice de acidez determinado nas espécies foi baixo (0,14 em *C. pentandra* a 0,48 mg KOH/g em *C. africana*), estando conforme as normas padrões (Tabela 5) e semelhante a *Sterculia foetida* (0,14 mg KOH/g), *S. striata* (0,01 mg KOH/g) e *C. pentandra* (0,16 mg KOH/g) (Tabela 5). O mesmo ocorreu para o teor de água e de glicerina total (Tabela 5).

O índice de enxofre e o teor de cinzas sulfatadas variaram entre (2,86 a 5,22 mg kg⁻¹) e (0,01 a 0,02 % de peso) respectivamente, estando dentro dos limites estabelecidos pela norma EN 14214. Da mesma forma ocorreu para o parâmetro de corrosão da fibra de cobre em que as espécies se mantiveram dentro dos limites estabelecidos, exceto a *C. africana* que não se enquadrou na norma EN 14214 (Tabela 5).

A determinação da glicerina total é o parâmetro que indica a eficiência do processo de purificação do biodiesel. A glicerina livre residual pode ser facilmente eliminada através de lavagens do biodiesel. Embora seja praticamente insolúvel no biodiesel, a glicerina pode ser encontrada dispersa na forma de gotículas. A presença de sabões residuais pode interferir, aumentando a concentração de glicerina no biodiesel devido à formação de emulsões. Esses parâmetros estiveram dentro dos limites estabelecidos pelas normas EN 14214 e ASTM D6751 para todas as espécies de Malvaceae.

Outro parâmetro importante é a água, além de promover a hidrólise do biodiesel resultando em ácidos graxos livres, também está associada à proliferação de microorganismos, corrosão em tanques de estocagem com deposição de sedimentos (Leung et al., 2010). Todas as espécies tiveram teores de água menores que 500 mg kg^{-1} , o que é favorável segundo a norma EN 14214 (Tabela 5).

Em relação à estabilidade oxidativa, apenas *C. pentandra* (3,1 h) não atingiu o limite mínimo de 6 h estabelecido pela EN 14214 (Tabela 5), semelhante ao ocorrido para esta espécie no trabalho de Yunus Khan et al. (2014) (1,14 h). A viscosidade, o índice de peróxido e, principalmente, o tempo de indução do Rancimat são parâmetros que podem ser utilizados para monitoramento da degradação oxidativa do biodiesel (Lobo et al., 2009; Leung et al., 2010).

4. Conclusões

As espécies *Sterculia excelsa* e *Basiloxylon brasiliensis* se destacaram com sementes grandes e elevado teor de óleo (54,1%) e o perfil de ácidos graxos foi predominantemente insaturado (acima de 60%). O rendimento do biodiesel foi acima de 98% e os parâmetros de densidade, ponto de fulgor, teor de enxofre, cinzas sulfatadas, índice de acidez, corrosão, água e glicerina total e livre do biodiesel estiveram dentro dos valores estabelecidos pelas normas ASTM D6751 e EN 14214, sendo competitivos em relação a outras espécies da mesma família como *Sterculia foetida*, *Sterculia striata*, *Ceiba pentandra*, *Adansonia digitata* e *Thespesia populnea*, com destaque para as propriedades de ponto de entupimento de filtro a frio, teor de enxofre, estabilidade oxidativa e glicerina total e livre.

5. Referências

- Abburra RE, Zygadlo JA, Guzman CA (1992) Fatty acids variation in Sapindaceae. *Biochem Syst Ecol* 20:469-471
- Abramovic H, Abram V (2005) Physico-Chemical Properties, Composition and Oxidative Stability of *Camelina sativa* Oil. *Food Technol Biotechnol* 43:63–70
- Aderibigbe SA (2012) Antimicrobial Activities of *Garcinia kola* Seed Oil against Some Clinical Microbial Isolates. *Int Res J Pharmaceuticals* 2:68-72
- Adeyeye A (1991) Studies of seed oils of *Garcinia kola* and *Calophyllum inophyllum*. *J Sci Food Agric* 57:441-442
- Ahmad MM, Husain SK, Ahmad M, Osman SM (1976) Cyclopropenoid fatty acids in seed oils of *Sida acuta* and *Sida rhombifolia* (Malvaceae). *J Am Oil Chem Soc* 53:698-699
- Anastopoulos G, Lois E, Karonis D, Kalligeros S, Zannikos F (2005) Impact of Oxygen and Nitrogen Compounds on the Lubrication Properties of Low Sulfur Diesel Fuels. *Energy* 30:415-426
- Anwar F, Rashid U, Ashraf M, Nadeem M (2010) Okra (*Hibiscus esculentus*) seed oil for biodiesel production. *Applied Energy* 87:779–785
- Aslam M, Saxena P, Sarma AK (2014) Green Technology for Biodiesel Production From *Mesua Ferrea* L. Seed Oil. *Energ Environ Res* 4:11-21
- Atabani E, Mofijur M, Masjuki HH, Badruddin IA, Kalam MA, Chong WT (2014) Effect of *Croton megalocarpus*, *Calophyllum inophyllum*, *Moringa oleifera*, palm and coconut biodiesel–diesel blending on their physico-chemical properties. *Ind Crop Prod* 60:130–137.

- Audu-Peter JD, Olorunfemi PO, Njoku N (2006) Antimicrobial and pharmaceutical properties of *Khaya senegalensis* seed oil. *J Pharm Bioresource* 3:19-24
- Avato P, Rosito I, Papadia P, Fanizzi FP (2005) Cyanolipid-rich Seed Oils from *Allophylus natalensis* and *A. dregeanus*. *Lipids* 40:1-6
- Ayodele OO, Dawodu FA (2014) Production of biodiesel from *Calophyllum inophyllum* oil using a cellulose-derived catalyst. *Biomass Bioenerg* 70:239-248
- Azam MM, Waris A, Nahar NM (2005) Prospects and potential of fatty acid methyl esters of some non-traditional seed oils for use as biodiesel in India. *Biomass Bioenerg* 29:293-302
- Barbosa MO, Almeida-Cortéz JS, Silva SI, Oliveira AFM (2014) Seed oil content and fatty acid composition from different populations of *Calotropis procera* (Aiton) W. T. Aiton (Apocynaceae). *J Am Oil Chem Soc* 21:1433-1441
- Berchmans HJ, Hirata S (2008) Biodiesel production from crude *Jatropha curcas* L. seed oil with a high content of free fatty acids. *Bioresour Technol* 1:1716 - 1721
- Bowman M, Hilligoss D, Rasmussen S, Thomas R (2006) Biodiesel: A Renewable and Biodegradable Fuel. *Hydrocarbon Processing* 103-106
- Caluwé E, Halamová K, Damme PV (2010) *Adansonia digitata* L. – A review of traditional uses, phytochemistry and pharmacology. *Afrika Focus* 23:11-51
- Canakci M, Gerpen JV (2001) Biodiesel production from oils and fats with high free fatty acids. *Transactions of the ASAE* 44:1429
- Chave MH, Barbosa AS, Neto JMM (2004) Caracterização Química do Óleo da Amêndoa de *Sterculia striata* St. Hil. et Naud. *Quim Nova* 27:404-408

- Diniz ZN, Bora OS, Neto VQ, Cavalheiro JMO (2008) *Sterculia striata* seed kernel oil: characterization and thermal stability. *Grasas Aceites* 59:160-165
- Djenontin TS, Wotto VD, Avlessi F, Lozano P, Sohounholué DKC, Pioch D (2012) Composition of *Azadirachta indica* and *Carapa procera* (Meliaceae) seed oils and cakes obtained after oil extraction. *Ind Crop Prod* 38:39– 45
- Fernandes DM, Souza RMF, Oliveira A, Morais SSL, Richter EM, Munoz RAA (2015) *Moringa oleifera*: a potential source for production of biodiesel and antioxidant additives. *Fuel* 2:75 - 80
- Frohlich A, Rice B (2005) Evaluation of *Camelina sativa* oil as a feedstock for biodiesel production. *Ind Crops Prod* 21:25-31
- Gadwal R, Naik GR (2014) *Hibiscus* species seed oils as potential feedstock for biodiesel production, its performance in compression ignition engine along with its blends. *J Chem Pharm Res* 6:212-223
- Gbogouri GA, Brou K, Linder M, Tehrany EA, Gnakri D, Zoro BIIA (2011) Comparative study of physicochemical and thermal properties of the seed oils of three cucurbit species. *Int J Biol Chem Sci* 5:1165-1177
- Ghadge SV, Raheman H (2006) Process optimization for biodiesel production from mahua (*Madhuca indica*) oil using response surface methodology. *Bioresour Technol* 97:379– 384
- Gouw TH, Vlugter JC, Roelands CJA (1966) Physical properties of fatty acid methyl esters: VI. Viscosity. *J Am Oil Chem Soc* 43:433 – 434
- Jiao J, Gai Q, Wei F, Luo M, Wang W, Fu J, Zu Y (2013) Biodiesel from *Forsythia suspense* [(Thunb.) Vahl (Oleaceae)] seed oil. *Bioresour Technol* 143:653–656

- Jorge N, Luzia DMM (2012) Caracterização do óleo das sementes de *Pachira aquatica* Aublet para aproveitamento alimentar. Acta Amaz 42:149-156
- Kashmiri MA, Yasmin S, Ahmad M, Mohy-Ud-Din A (2009) Characterization, Compositional Studies, Antioxidant and Antibacterial Activities of Seeds of *Abutilon indicum* and *Abutilon muticum* Grown Wild in Pakistan. Acta Chim Slov 56:345–352
- Kiliç CS, Aslan S, Kartal M, Coskun M (2011) Fatty Acid Composition of *Hibiscus trionum* L. (Malvaceae). Rec Nat Prod 5:65-69
- Knothe G (2005) Dependence of biodiesel fuel properties on the structure of fatty acid alkyl esters. Fuel Process Technol 86:1059
- Knothe G, Van Gerpen J, Krahl J (2010) The biodiesel handbook. 2nd ed. Urbana, IL: AOCS Press.
- Konan YL, Sylla MS, Doannio JMC, Traoré S (2003) Comparison of the effect of two Excipients (karit nut butter and vaseline) on the efficacy of *Cocos nucifera*, *Elaeis guineensis* and *Carapa procera* oil-based repellents formulations against mosquitoes biting in Ivory Coast. Parasit Vectors 10:181–184
- Krishnakumar J, Venkatachalapathy VSK, Elancheliyan S (2008) Technical aspects of biodiesel production from vegetable oils. Thermal Sci 12:159-169
- Kumar V, Jain M, Pal A (2014) An experimental study on biodiesel production of cotton seed oil through conventional method. Int J Eng Technol Man Appli Sci 2:178-186
- La Salles KTSL, Meneghetti SMP, La Salles WF, Meneghetti MR, Santos ICF, Silva JPV, Carvalho SHV, Soletti JI (2010) Characterization of *Syagrus coronata* (Mart.) Becc. oil and properties of methyl esters for use as biodiesel. Ind Crop Prod 1:518-521

- Lee JD, Woolard MDA, Sleper JR, Smith VR, Pantalone CNN, Liu HR, White PJ (1992) Oxidative stability of soybean oils with altered fatty acid compositions. *J Am Oil Chem Soc* 69:528 - 532
- Leung DYC, Wu X, Leung MKH (2010) A review on biodiesel production using catalyzed transesterification. *Appl Energy* 2:1083-1095
- Lôbo IP, Ferreira SLC, Cruz RS (2009) Biodiesel: parâmetros de qualidade e métodos analíticos. *Quim Nova* 32:1596-1608
- Macedo FL, Candeia RA, Sales LLM, Dantas MB, Souza AG, Conceição MM (2011) Thermal characterization of oil and biodiesel from oiticica. *J Therm Anal Calorim* 1: 531-534
- Mangas MBP, Rocha FN, Suarez PAZ, Meneghetti SMP, Barbosa DC, Santos RB, Carvalho SHV, Soletti JI (2012) Characterization of biodiesel and bio-oil from *Sterculia striata* (chicha) oil. *Ind Crop Prod* 36:349–354
- Mayworm MAS, Nascimento AS, Salatino A (1998) Seeds of species from the “caatinga”: proteins, oils and fatty acid contents. *Braz J Bot* 1:299-303
- Miralles J, Pares Y (1980) Fatty acid composition of some oils from Senegalese seeds. *Rev Fr Crops Gras* 27:393-396
- Moreira MAC, Arrúa MEP, Antunes AC, Fiuza TER, Costa BJ, Neto PHW, Antunes SEM (2013) Characterization of *Syagrus romanzoffiana* oil aiming at biodiesel production. *Ind Crop Prod* 3:57-60
- Modiba E, Osifo P, Rutto H (2014) Biodiesel production from baobab (*Adansonia digitata* L.) seed kernel oil and its fuel properties. *Ind Crop Prod* 59:50–54
- Moser BR, Vaughn SF (2010) Coriander seed oil methyl esters as biodiesel fuel: unique fatty acid composition and excelente oxidative stability. *Biomass Bioenergy* 34:550-558

- Nakpong P, Wootthikanokkhan S. (2010) Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) oil as an alternative feedstock for biodiesel production in Thailand. *Fuel* 89:1806–1811
- Nanasaheb DS, Chandrakant MK (2012) Preparation of Methyl Esters from *Thespesia populnea* L. Oil and its Engine Exhausts Studies. *Int J Green Energ* 9:130-138
- Nayak BS, Patel KN (2010) Physicochemical Characterization of Seed and Seed Oil of *Jatropha curcas* L. Collected from Bardoli (South Gujarat). *Sains Malaysiana* 39:951–955
- Ong HC, Silitonga AS, Masjuki HH, Mahlia TMI, Chong WT, Boosroh MH (2013) Production and comparative fuel properties of biodiesel from non-edible oils: *Jatropha curcas*, *Sterculia foetida* and *Ceiba pentandra*. *Energ Convers Manage* 73:245-55
- Park SW, Rhee KC (1988) A capillary GC determination of cyclopropenoid fatty acids in cottonseed oils. *J Food Sci* 53:1497-1502
- Pesce C (1985) Oil palms and other oilseeds of the Amazon. Reference Publ. Inc. Michigan.
- Pinho RS, Oliveira AFM, Silva SI (2009) Potential oilseed crops from de semiarid region of northeastern Brazil. *Bioresource Technol* 2:6114-6117
- Rashid U, Anwar F, Moser BR, Knothe G (2008) *Moringa oleifera* oil: a possible source of biodiesel. *Bioresour Technol* 99: 8175-8179
- Rashid, U., Anwar, F (2011) Knothe, G. Biodiesel from Milo (*Thespesia populnea* L.) seed oil. *Biomass Bioenergy* 35:4034-4039
- REO (2003) Regulations on Edible Oils. Official gazette of the republic of Slovenia. No. 56 - 2658/1999, 7183 - 7186
- Sethusundaram PP, Govindasamy P, Arulshri KP (2012) *Sterculia* Oil on Single Cylinder Four Stroke Diesel Engine with Water Cooled Exhaust Gas Recirculation. *Eur J Sci Res* 91:91-99

- Sharma YC, Singh B, Upadhyay SN (2008) Advancements in development and characterization of biodiesel: a review. *Fuel* 87:23-55
- Shah S, Sharma S, Gupta MN (2004) Biodiesel preparation by lipase-catalyzed transesterification of Jatropha oil. *Energy Fuels* 18:154-159
- Siger A, Nogala-Kalucka M, Lampart-Szczapa E (2008) The content and antioxidant activity of phenolic compounds in cold-pressed plant oils. *J Food Lip* 15:137–149
- Silitonga AS, Masjuki HH, Mahlia TMI, Ong HC, Kusumo F, Aditiya HB, Ghazali NNN (2015) *Schleichera oleosa* L oil as feedstock for biodiesel production. *Fuel* 156:63–70
- Silitonga AS, Ong GC, Masjuki HH, Mahlia TMI, Chong WT, Yusaf TF (2013) Production of biodiesel from *Sterculia foetida* and its process optimization. *Fuel* 111:478-484
- Silitonga AS, Ong HC, Mahlia TMI, Masjuki HH, Chong WT (2013) Characterization and production of *Ceiba pentandra* biodiesel and its blends. *Fuel* 108:855-858
- Silva ACO, Oliveira AFM, Santos YAC, Silva SI (2010) An approach to chemotaxonomy to the fatty acid content of some Malvaceae species. *Biochem Syst Ecol* 38:1035–1038
- Silva SI, Oliveira AFM, Negri G, Salatino A (2014) Seed oils of Euphorbiaceae from the Caatinga, a Brazilian tropical dry Forest. *Biomass Bioenerg* 2:124-134
- Spino C, Dodier M, Sotheeswaran S (1998) Anti-HIV coumarins from *Calophyllum* seed oil. *Biorg Med Chem Lett* 8:3475-3478
- Sundar Rao K, Jones GP, Rivett DE, Tucker DJ (1989) Cyclopropene fatty acids of six seed oils from Malvaceae. *J Am Oil Chem Soc* 66:360–361
- Venkanna BK, Venkataramana RC (2009) Biodiesel production and optimization from *Calophyllum inophyllum* linn oil (honne oil) – A three stage method. *Bioresour Technol* 100:5122-5125

Yogendra SK, Mahanta P, Subhash CMYS, Kushwah, PM (2008) Some studies of fuel characteristics of *Mesua Ferrea*. Heat Transfer Engineering 29:405-409

Yunus Khan TM, Atabani AE, Irfan AB, Ankalgi RF, Khan TKM, Badarudin A (2014) *Ceiba pentandra*, *Nigella sativa* and their blend as prospective feedstocks for biodiesel. Ind Crop Prod 65:367-373

Zhang Y, Dube MA, McLean DD, Kates M (2003) Biodiesel production from waste cooking oil: 2. Economic assessment and sensitivity analysis. Bioresour Technol 90:229-240

Tabela 1. Nome Popular, local de coleta e coordenadas geográficas de quatro espécies de Malvaceae.

Espécie	Voucher	Nome Popular	Ecossistema	Coordenadas geográficas
<i>Basiloxylon brasiliensis</i> (Allemão) K. Schum.	UFP 75.173	Pau-rei	Cultivada	S 8° 2'33" W 34°55'05"
<i>Ceiba pentandra</i> (L.) Gaertn.	UFP 74.231	Paineira	Floresta Atlântica	S 8° 0'81" W 34°56'71"
<i>Christiana africana</i> DC.	UFP 73.912	Gargaúba	Floresta Atlântica	S 8° 1'28" W 34°55'47"
<i>Sterculia excelsa</i> Mart.	UFP 74.183	Axixá	Floresta Atlântica	S 8° 2'92" W 35° 9'59"

Tabela 2. Teor de óleo e características biométricas das sementes de quatro espécies de Malvaceae.

Espécie	Óleo (%)	Biometria (mm)**			Peso (g)**
		Comprimento	Largura	Espessura	
Malvaceae					
<i>Basiloxylon brasiliensis</i>	54,1 ^a ± 2,2	47,9 ^b ± 1,6	26,0 ^b ± 1,5	5,7 ^a ± 0,6	23,8 ± 0,4
<i>Ceiba pentandra</i>	33,4 ^c ± 1,5	5,8 ^c ± 0,8	4,9 ^c ± 0,6	3,7 ^c ± 0,5	15,2 ± 0,6
<i>Christiana africana</i>	31,6 ^d ± 1,6	5,8 ^c ± 0,6	4,8 ^c ± 0,6	3,6 ^c ± 0,3	1,3 ± 0,3
<i>Sterculia excelsa</i>	39,6 ^b ± 1,6	57,2 ^a ± 1,9	33,8 ^a ± 0,8	5,3 ^b ± 0,6	23,2 ± 0,8

Letras diferentes na mesma coluna indicam diferenças significativas entre as espécies ($p < 0,05$). ** Os dados são médias ± DP, $n = 50$ para todas as espécies.

Tabela 3. Composição de ácidos graxos de sementes de quatro espécies de Malvaceae.

Ácidos graxos (%)	<i>B. b</i>	<i>C. p</i>	<i>C. a</i>	<i>S. e</i>
Palmítico (16:0)	29,08 ± 0,3 ^b	21,72 ± 0,1 ^c	13,49 ± 0,1 ^d	34,2 ± 0,3 ^a
Esteárico (18:0)	1,3 ± 0,1 ^b	1,96 ± 0,3 ^b	1,59 ± 0,4 ^b	2,8 ± 0,6 ^a
Araquídico (20:0)	-	2,5 ± 0,6	-	-
Saturados Totais	30,38	26,18	15,08	37
Palmitoleico (16:1)	0,91 ± 0,4	0,3 ± 0,2	-	-
Oleico (18:1)	5,88 ± 0,2 ^c	0,86 ± 1,2 ^d	11,31 ± 0,5 ^b	21,3 ± 0,8 ^a
Malválico (18:1 ciclo*)	14,74 ± 0,3 ^a	10,61 ± 0,3 ^b	7,34 ± 0,2 ^c	-
Estercúlico (19:1 ciclo*)	2,35 ± 0,2 ^c	4,16 ± 0,5 ^b	20,22 ± 0,3 ^a	-
Eicosenoico (20:1)	1,0 ± 0,4	-	-	-
Monoinsaturados Totais	24,88	15,93	38,87	21,3
Linoleico (18:2)	33,09 ± 0,2 ^d	34,7 ± 0,4 ^{cd}	43,5 ± 0,3 ^a	40,0 ^a ± 1,1 ^b
Linolênico (18:3)	8,21 ± 0,1 ^b	21,57 ± 0,3 ^a	0,8 ± 0,2 ^d	1,7 ± 0,7 ^c
Polinsaturados Totais	41,3	56,27	44,3	41,7
Outros ácidos graxos	3,44	1,62	1,03	-
Insaturados Totais	66,18	72,2	83,17	63
Insat/Sat (razão)	2,17	2,4	3,1	1,7

*Ácidos graxos ciclopropênicos. Letras diferentes na mesma linha indicam diferenças significativas entre as espécies ($p < 0,05$). Todos os dados são medias aritméticas de triplicatas ±DP. - = menor que 0,1%. Espécies: *B. b* = *B. brasiliensis*; *C. p* = *C. pentandra*; *C. a* = *C. africana*; *S. e* = *S. excelsa*.

Tabela 4. Propriedades físico-químicas de óleos de sementes de quatro espécies de Malvaceae.

Propriedades físico-químicas	Malvaceae						
	<i>B. b</i>	<i>C. p</i>	<i>C. a</i>	<i>S. e</i>	<i>S. f</i> ^a	<i>S. s</i> ^b	<i>C. p</i> ^c
Densidade a 15°C (kg/m ³)	918	920	909	928	937	860	921
Viscosidade cinemática 40°C (mm ² /s)	44,1	33,1	34,5	32,1	63,9	51,5	34,5
Índice de acidez (mg KOH/g)	3,53	2,79	4,34	3,57	5,11	8,0	20,2
Índice de Iodo (g I ₂ /100 g)	81,2	78,7	79,5	68,5	-	-	-
Número de cetano	58,4	57,0	56,8	58,1	-	-	-
Valor de saponificação (mg KOH/g)	179,8	173,9	192,0	200,2	-	-	-
Ácidos graxos livres (%)	1,76	1,39	2,17	1,78	-	-	-
Ácido linolênico [% (m/m)]	1,8	1,7	*	2,3	0,7	0,7	1,7

B. b = *B. brasiliensis*; *C. p* = *C. pentandra*; *C. a* = *C. africana*; *S. e* = *S. excelsa*; *S.f* = *Sterculia foetida*^c; *S.s* = *Sterculia striata*^d; *C.p* = *Ceiba pentandra*^e. ^a Silitonga et al. (2013); ^b Mangas et al. (2012); ^c Yunus Khan et al. (2014); * não detectado; - = não analisado.

Tabela 5. Propriedades físico-químicas do biodiesel de espécies de quatro espécies de Malvaceae neste estudo e em estudos anteriores.

Propriedades físico-químicas	Malvaceae									Especificações do biodiesel	
	<i>B. b</i>	<i>C. p</i>	<i>C. a</i>	<i>S. e</i>	<i>S. f</i> ^a	<i>S. s</i> ^b	<i>C. p</i> ^c	<i>A. d</i> ^d	<i>T. p</i> ^e	ASTM D6751	EN 14214
Rendimento do biodiesel (wt %)	98,4	98,5	99,4	99,3	93,5	-	89,1	96	-	-	-
Densidade a 15 °C (kg/m ³)	870	864	894	891	879	890	861	882	880	-	860-900
Viscosidade cinemática 40 °C (mm ² /s ¹)	2,9	4,2	3,8	4,8	3,96	5,39	4,4	4,46	4,25	1,9-6,0	3,5-5,0
Ponto de fulgor (°C)	150	137	157	171	160,5	209	202	192	176	130 (min,)	101 (min,)
Ponto de entupimento de filtro a frio (°C)	-1	1	-2	-1	- 5,0	2	4	2	9,0	-	-
Teor de enxofre (mg kg ⁻¹)	3,23	4,63	2,86	5,22	-	-	-	-	11	-	10
Cinzas sulfatadas (wt.%)	0,03	0,05	0,02	0,01	-	-	-	-	-	-	0,020
Índice de acidez (mg KOH/g)	0,46	0,14	0,48	0,12	0,14	0,01	0,16	-	0,25	0,50 (max,)	0,50 (max,)
Corrosão (50° C; 3h)	1	1	2	1	-	-	-	-	1	3	1
Água (mg kg ⁻¹)	441	352	276	393	-	-	-	-	150	-	500 (max,)
Estabilidade oxidativa (h; 110 °C)	7,5	3,1	8,3	4,0	3,44	-	1,14	3,09	2,91	3,0 (min,)	6,0 (min,)
Glicerina livre (% massa)	0,01	-	-	0,02	-	-	-	-	150	-	--
Glicerina total (% massa)	0,01	-*	-*	0,02	-	-	-	-	1189	0,24 (max,)	0,25 (max,)

B. b = *B. brasiliensis*; *C. p* = *C. pentandra*; *C. a* = *C. africana*; *S. e* = *S. excelsa*; *S. f* = *Sterculia foetida*^a; *S. s* = *Sterculia striata*^b; *C. p* = *Ceiba pentandra*^c; *A. d.* = *Adansonia digitata*^d. *T. p* = *Thespesia populnea*^e; ^a Silitonga et al. (2013); ^b Mangas et al. (2012); ^c Yunus Khan et al. (2014); ^d Modiba et al., (2014); ^e Rashid et al., (2011); * não detectado; - = não analisado.

7 ARTIGO 5



Qualis: B1

Fator de Impacto: 3.182

Manuscrito a ser submetido ao periódico *Food Research International*

Perfil lipídico e propriedades físico-químicas de frutos e sementes de quatro espécies de Arecaceae ocorrentes em florestas tropicais brasileiras

Diogenes J. Gusmão Coutinho ^a, Mariana O. Barbosa ^a, Suzene I. da Silva ^b, Antonio Fernando M. de Oliveira ^{a,*}

^a Departamento de Botânica, Universidade Federal de Pernambuco, Av. Prof. Moraes Rego s/n, Cidade Universitária, 50.670-901, Recife, PE, Brasil.

^b Departamento de Biologia, Universidade Federal Rural de Pernambuco. Av. Dom Manoel de Medeiros s/n, Dois Irmãos, 52171-900 Recife, PE, Brasil

*Autor para correspondência: E-mail: afmoliveira@gmail.com, Fone: +55 81 21267813; Fax: +55 81 21267803.

Resumo

O presente estudo visa ampliar o conhecimento das características físico-químicas, bromatológicas de frutos e sementes comestíveis de quatro espécies de Arecaceae da Floresta Atlântica e Caatinga, bem como quantificar os seus compostos bioativos (carotenoides e fenólicos totais) e atividade antioxidante. As espécies foram selecionadas a partir de levantamento etnobotânico, de visitas a campo e registro dos herbários de Pernambuco - Nordeste do Brasil. As sementes foram de médias a grandes, com teores de óleo acima de 25%, exceto para *Desmoncus polyacanthos*. As espécies geralmente se mostraram ricas em lipídios em polpa (ácidos palmítico, oleico e linoleico) e semente (ácidos láurico, palmítico e oleico) além de minerais como K, P, Mg, Ca, Fe e Zn. As propriedades físico-químicas dos lipídios de polpas e sementes foram comparáveis às de óleos convencionais de boa qualidade, o que é evidenciado pelos baixos teores de ácidos graxos livres, acidez e índice de peróxidos,

inferindo baixa degradação hidrolítica e oxidativa. A maioria das espécies possuiu boas concentrações de compostos bioativos e elevada estabilidade oxidativa. Os frutos e sementes de espécies de Arecaceae comestíveis da Floresta Atlântica e Caatinga de Pernambuco mostraram fornecer um elevado valor energético e nutricional, revelando um grande potencial para utilização na indústria de alimentos. Essas espécies podem ser indicadas em uma dieta saudável e como fontes complementares de carboidratos, proteínas, ácidos graxos essenciais e compostos antioxidantes.

Palavras-chave: Floresta Atlântica, Caatinga, Arecaceae, ácidos graxos, fenóis totais.

1. Introdução

Frutos e sementes são importantes ingredientes da dieta humana que fornecem vários constituintes nutricionais e elevados conteúdos calóricos (Paliyath et al., 2012), sendo ricos em lipídios, proteínas e carboidratos (Andrade e Andrade, 2014). O amido é o principal carboidrato de reserva de muitas plantas superiores (até 75% da massa seca dos cereais), e glicose é a energia mais importante para a maioria dos organismos vivos (Fernandes et al., 2010). Micronutrientes de frutos compreendem minerais (ou cinza), compostos fenólicos, carotenoides, vitaminas solúveis em água (vitamina C) e vitaminas solúveis em gordura (vitamina E). Esses componentes podem fornecer inúmeros benefícios à saúde, como atividade antitumoral, antimicrobiana, antioxidante, cardioprotetora e efeitos fisiológicos diversos, além de participar da nutrição básica de populações que vivem no entorno das florestas (Freitas e Neves, 2010).

O Brasil é o país com a maior biodiversidade do planeta (aproximadamente 13% da biota do mundo), com um número estimado de 210.000 espécies de plantas conhecidas (Rapini et al., 2006). Uma parcela significativa dessa diversidade está concentrada no

semiárido brasileiro, também conhecido como Caatinga, e na Floresta Atlântica. Estes ecossistemas têm diferentes tipos de vegetação, com características pluviométricas, tipo de solo, altitude e heterogeneidade que resulta em uma expressiva diversidade biológica (Araujo et al., 2007).

A Floresta Atlântica e Caatinga oferecem inúmeros recursos madeireiros para construção, uso combustível e medicinal (Nascimento et al., 2011; Coutinho et al., 2016). Em contrapartida, o uso de espécies de plantas em alimentos tem sido pouco investigado para esses biomas. Os frutos e sementes possuem substâncias importantes para a saúde humana, mas muitas delas ainda permanecem desconhecidas na abundante flora brasileira, o que vem chamando a atenção de grupos de pesquisa e atraindo pesquisadores em todo o mundo. Segundo Nascimento et al. (2011) uma quantidade significativa de espécies nativas para utilização em alimentos é reconhecida pela população da Caatinga, com destaque para as frutas. Contudo, algumas dessas plantas alimentícias são subutilizadas devido as suas características desconhecidas, negligenciando seu papel na melhoria da segurança alimentar e nutricional da população.

Das espécies com potencial de utilização, nas regiões da Floresta Atlântica e Caatinga, destacam-se as frutíferas com algumas dezenas de espécies de diferentes famílias, que produzem frutos comestíveis, com formas variadas, cores atrativas e sabor característico. Essas frutas são consumidas em diferentes formas pelas populações locais, regionais e constituem, ainda, uma importante fonte de alimentos para animais silvestres como pássaros, roedores, tatus, canídeos, entre outros (Nascimento et al., 2011). Bons exemplos são as Arecaceae, Licuri (*Syagrus coronata* (Mart.) Becc), Coco de brejaúva (*Astrocaryum aculeatissimum* (Schott), e os catolés (*Syagrus cearensis* Noblick e *Syagrus romanzoffiana* (Cham.) Glassman). Essas espécies apresentam grande potencial para exploração econômica, por serem frutas nativas de alta produtividade com baixo custo de implantação e manutenção,

sem a necessidade de utilização de agrotóxicos (Nascimento et al., 2011). São apresentadas como uma alternativa dentro da agricultura familiar, e como ótima opção para o cultivo orgânico, em virtude das características dos seus frutos, da boa aceitação para consumo e pelo teor de vitamina C (Castrejon et al., 2008).

Assim, o objetivo do presente trabalho foi determinar a composição química, de ácidos graxos, minerais e aminoácidos e quantificar alguns compostos bioativos de quatro espécies de Arecaceae ocorrentes em Floresta Atlântica e Caatinga de Pernambuco. Este estudo destaca o potencial desta disponibilidade de espécies na flora brasileira como uma importante fonte nutricional e de compostos bioativos. Além disso, pode-se apoiar a inclusão de espécies na alimentação da população local, melhorando o seu status nutricional.

2. Material e métodos

2.1 Material vegetal

Os frutos e as sementes de *Bactris acanthocarpa*, *Desmoncus polyacanthos*, *Syagrus cearenses* e *Syagrus romanzoffiana* foram colhidas a partir de plantas matrizes encontradas durante oito expedições a municípios de Pernambuco. A escolha das espécies e locais de coleta foi baseada em observações anteriores dos espécimes em viagens de coleta e em dados do georeferenciamento da carpoteca nos herbários Geraldo Mariz da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Herbário do Instituto de Pesquisa Agrícola do Estado de Pernambuco (IPA) e da Universidade Federal Rural de Pernambuco (HST). As coordenadas geográficas e espécies coletadas estão na Tabela 1. A identificação das espécies foi feita com a ajuda de especialista e consultas aos herbários recém mencionadas. Exsicatas testemunhas das espécies foram confeccionadas e depositadas no Herbário Geraldo Mariz (UFPE) - Universidade Federal de Pernambuco.

Sementes (0,15 a 1kg) foram coletadas manualmente de frutos maduros de 100 indivíduos, sendo dez de cada espécie (Tabela 1). Foram mensurados comprimento (mm) e largura (mm) de 50 sementes utilizando paquímetro digital (Starrett Series 727, Athol, MA, USA) (Tabela 1). Para o cálculo do rendimento foram utilizados os valores das pesagens das bandejas, contendo a polpa das frutas, antes e após o processo de liofilização.

2.2 Análise da composição química

Polpa e semente (aprox. 5 g) foram previamente desidratadas em estufa a 45 °C por 12 horas (Ahmad et al., 1981). O teor de lipídios foi estimado de acordo com a diferença do peso seco da polpa/semente e peso. O teor de umidade foi avaliado por gravimetria após desidratação total da polpa/semente em estufa a 105 °C (AOAC, 2002). Cinzas foram determinadas por gravimetria após incineração da polpa/semente em forno mufla a 550 °C, durante quatro horas (AOAC, 2002). Carboidratos totais na polpa e na semente foram estimados pela diferença entre a somatória dos teores de umidade, cinzas, lipídios, nitrogênio em relação a 100% (Crepaldi et al., 2001). O índice calórico total foi calculado a partir da proteína, e lipídios totais e teor de carboidratos totais (incluindo fibra), utilizando um sistema de Atwater e expresso em cal/100 g (Merrill e Watt, 1973). Cada determinação foi realizada em triplicata.

2.3 Teor de proteínas e aminoácidos

O teor de proteínas e quantificação de aminoácidos foi realizada de acordo com o método proposto por White et al. (1986) e Hagen et al. (1989). A leitura foi realizada em analisador de aminoácidos Pickering com coluna Picotag Column HPLC Waters Technologies do Brasil. Os resultados foram expressos em mg de aminoácido por grama de proteína.

2.4 Minerais

Minerais (Ca, Fe, K, Mg, Na, P e Zn) foram caracterizados e quantificados, em triplicata, por espectrofotometria de absorção atômica (Espectrômetro Perkin Elmer Analyst-200). As amostras (30 g) foram incineradas e depois digeridas com ácido clorídrico concentrado (grau analítico). Parâmetros instrumentais específicos (lâmpada, comprimento de onda, corrente da lâmpada, e a largura de fenda) foram utilizados para cada mineral (AOAC, 1990). Selênio foi analisado por espectrofotometria de absorção atômica (Hitachi®, modelo Z-5000, Tokyo) com geração de hidretos num tubo de quartzo.

2.5 Sólidos solúveis (SS), Potencial de hidrogênio e Acidez titulável

Sólidos solúveis foram determinados de acordo com a metodologia recomendada pela AOAC (1992), após filtragem da polpa em papel de filtro, efetuou-se a leitura (°BRIX) em um refratômetro digital modelo PR-100 Pallette (Atago Co, Japão), com compensação automática de temperatura. O potencial de hidrogênio (pH) foi determinado utilizando 3 g de amostra triturada e diluída em 50 mL de água destilada, o pH foi determinado usando um potenciômetro de leitura direta (Tecnal). Para calcular a acidez titulável (TA) foi feita uma diluição de 1 g de amostra em 50 mL de água destilada, titulando com solução de NaOH (0,1 N) até coloração levemente rosa e atingir um pH de 8,2 e o resultado expresso em % de ácido cítrico (AOAC, 2002).

2.6 Relação Sólidos Solúveis/Acidez Titulável = R

A relação SS/AT foi determinada por meio da equação 1:

$$R = SS/AT$$

Onde: SS = Sólidos solúveis (Brix) e AT = Acidez Titulável (% de ácido cítrico)

2.7 Carotenoides totais

Carotenoides totais foram determinados por espectrofotometria segundo o método de Gao et al.(2000) e estimados através da fórmula (Rodriguez-Amaya & Kimura, 2004):

$$\text{Carotenoides totais } (\mu\text{g/g}) = \frac{A \times \text{volume (mL)} \times 10^4}{A_{1\text{ cm}}^{1\%} \times \text{peso amostra (g)}}$$

Onde: A = absorvância; volume = volume total do extrato; $A_{1\text{ cm}}^{1\%}$ = coeficiente de absorção do β -caroteno em éter de petróleo (2592).

2.8 Compostos fenólicos totais

A análise dos compostos fenólicos dos lipídios seguiu a metodologia de Herchi et al. (2011) com modificações. Os fenóis foram extraídos a partir de 1 g de lipídio diluído em 10 mL de *n*-hexano em funil de separação. Foram adicionados 20 mL de solução de metanol: água (80:10 v/v), a mistura agitada por 3 min e a fase inferior removida. O processo extrativo foi repetido mais duas vezes e as fases inferiores combinadas. O extrato foi concentrado em evaporador rotatório sob pressão reduzida (60 °C) e diluído em 1 mL de metanol.

A quantificação dos fenóis foi realizada a partir de 0,2 mL do extrato em metanol, acrescentando-se 0,5 mL de reagente de Folin-Ciocalteau (Sigma-Aldrich, St. Louis, Missouri, EUA). Após 3 min foi adicionado 1 mL de solução saturada de carbonato de sódio e completados o volume para 10 mL com água destilada. Após 1 h de repouso foi realizada a leitura das absorvâncias (765 nm) por espectrofotometria (Biospectro, SP-22, São Paulo, Brasil). Os resultados foram comparados com uma curva de calibração com ácido gálico (0, 50, 100, 150 e 200 mg/mL) e expressos em mg de equivalente ácido gálico (EAG)/100 g de lipídios.

2.9 Estabilidade oxidativa

A estabilidade oxidativa foi medida através do tempo de indução à oxidação em aparelho Rancimat 892 Professional (Metrohm Ltd., Harisau, Suíça). O lipídios (3 g) foi aquecido a $110 \pm 1,6$ °C com fluxo de ar de 20L/h até que fosse atingido o tempo de indução (Amaral et al., 2003).

2.10 Índice de acidez, refração, iodo, saponificação e porcentagem de ácidos graxos livres

Os índices de acidez, peróxido e refração a 40 °C foram determinados utilizando o método AOAC No. 969,18 (AOAC, 1990). A porcentagem de ácidos graxos livres (FFA%) foi determinada de acordo com Akbar et al. (2009) e expresso em % de ácido oleico. O índice de saponificação (SN) e de iodo (IV) foram calculados usando as equações 2 e 3, respectivamente (Kalayasiri et al., 1996).

$$\text{(Eq. 2) SN} = \Sigma (560 X_{ai}) / \text{MWI}$$

$$\text{(Eq. 3) IV} = \Sigma (254 \times D X_{ai}) / \text{MWI}$$

2.11 Extração de óleo e análise dos ácidos graxos

A extração em aparelho soxhlet foi realizada para a quantificação de teor de óleo, carotenóides, compostos fenólicos, atividade antioxidante e propriedades físico-químicas. O óleo foi extraído a partir de 5 g de sementes trituradas com *n*-hexano (aproximadamente 68 °C) em aparato Soxhlet (8 h) (Ahmad et al., 1981). O solvente foi retirado sob pressão reduzida e o resíduo removido sob fluxo de nitrogênio. Sulfato de sódio anidro foi utilizado para retirar a umidade. Os óleos foram armazenados em frascos de vidro âmbar e conservados a - 4 °C até análise. A porcentagem de óleo das sementes foi calculada por diferença de peso seco.

A partir de 0,025 g de óleo, realizou-se a hidrólise dos triglicerídeos através da adição 1,5 mL da solução de MeOH-KOH (0,5 M), submetendo as amostras a banho-maria (100 °C) por 10 minutos e, posteriormente resfriadas em gelo por 5 minutos. Logo após foram acrescentados 2,5 mL de solução MeOH-BF₃ 14% (Sigma–Aldrich, St. Louis, Missouri) e levadas novamente ao banho-maria por mais 30 minutos e reaquecidas por 5 minutos. Foram adicionados 2,5 mL de uma solução aquosa de NaCl 1%, juntamente com 3 mL de *n*-heptano, e as amostras foram centrifugadas (730 g) por 5 minutos. A umidade foi retirada com a adição de 0,1 g de sulfato de sódio anidro.

Os ésteres metílicos das espécies foram analisados em cromatógrafo Agilent 7890 A (Agilent Technologies, Waldbroon, Alemanha) com detector de ionização de chama (FID) e uma coluna capilar de sílica DB-5 (difênil 5% e dimetilpolisiloxano 95%, 30 m x 0,25 mm) (Agilent Technologies, Waldbroon, Alemanha). As condições de análise foram: temperatura inicial da coluna 150 °C; taxa de aquecimento 4° C/min até 280 °C; 280 °C (15 min). As temperaturas do detector e injetor foram de 250 °C e 290 °C, respectivamente. Hélio foi utilizado como gás de arraste com fluxo de 1 mL/min. O volume de injeção foi 2 µL e a razão do split de 1:39. Os ésteres metílicos foram identificados pela comparação com tempos de retenção de padrões de ésteres metílicos de ácidos graxos (Supelco FAME mix C4-C24, Bellefonte, PA, USA). A quantidade relativa dos ésteres metílicos foi determinada pela área integrada de cada pico e expressa em porcentagem da área total de todos os picos.

3. Resultados e Discussão

3.1 Morfometria de frutos e sementes, e perfil de ácidos graxos

As características físicas como peso, comprimento, largura, espessura, rendimento de polpa refletem na aceitabilidade do produto pelo consumidor e no rendimento industrial. As sementes mostraram diferenças significativas em comprimento, largura e espessura ($p <$

0,05) (Tabela 2). A menor dimensão (comprimento, largura e espessura, respectivamente) foi encontrada na semente de *Desmoncus polyacanthos* (15,6, 14,3 e 12,5 mm) e a maior em *Syagrus cearensis* (65,4, 61,3 e 59,5 mm) (Tabela 2).

Da mesma forma ocorreram diferenças significativas na espessura da polpa dos frutos analisados ($p < 0,05$) (Tabela 2). O fruto menos espesso foi encontrado em *D. polyacanthos* (3,2 mm), por outro lado o mais espesso foi o de *Syagrus cearensis* (12,1 mm). A polpa do fruto menos pesado e com menor rendimento de polpa (% de polpa) foi novamente o *D. polyacanthos* (21,2 e 5,4%), e esses maiores valores ocorreram novamente em *Syagrus cearenses* (141,3 e 19,8%). O percentual de rendimento de polpa obtido nas espécies de *Syagrus* demonstra um grande potencial para a indústria alimentícia, principalmente de polpa e sucos (Tabela 2.). De acordo com Lira Junior et al. (2005), este percentual é também considerado um atributo de qualidade, especialmente para os frutos destinados à elaboração de produtos, cujo valor mínimo exigido pelas indústrias processadoras é de 20 %.

Das quatro espécies, três apresentaram sementes com alto teor de óleo: valores acima de 25% em *B. acanthocarpa* (25,3) e valores superiores a 60% em *S. cearensis* (61,7) e *S. romanzoffiana* (60,4) (Tabela 3). Teores acima de 60% nas espécies de *Syagrus* corroboram estudos anteriores com espécies deste gênero, que indicam elevado conteúdo de óleo (Crepaldi et al., 2001; Bora e Moreira, 2003; Coimbra, 2010; Silva et al., 2015), sendo ainda muito superior ao padrão encontrado para outras espécies de palmeiras como *Butia capitata* (28,74%) e *B. eriosphata* (26,31%) (Sganzerla, 2010), *Archontophoenix alexandrae* H. Wendl. & Drude (2,74%) (Vallili et al., 2004), *Syagrus coronata* (49,2%) (Damásio, 2014). As sementes *B. acanthocarpa*, *S. cearensis* e *S. romanzoffiana* podem ser consideradas economicamente atraentes para a extração de óleo devido ao teor lipídico elevado em comparação com as sementes de frutas, como a castanha de caju (46,28%) (Melo et al., 1998).

O teor da polpa das sementes foi superior a 25% em *B. acanthocarpa* (25,3%) e *S. cearenses* (25,7%), esses valores são maiores do que os encontrados em *Copernicia prunifera* (1,18%) e *Mauritia flexuosa* L.f. (23,55%) (Carvalho, 2011), mas menores do que *Astrocaryum vulgare* Mart (40,49%) (Ferreira et al., 2008).

Foram identificados 9 ácidos graxos dentre as espécies analisadas (Tabela 3) e as espécies tiveram perfil de ácidos graxos majoritariamente saturado com destaque para o ácido láurico nas sementes das espécies *S. cearenses* (53,3%) e *D. polyacanthos* (53,2%), seguido dos ácidos mirístico em *B. acanthocarpa* (27,4) e *D. polyacanthos* (27,7), palmítico em *B. acanthocarpa* (13,9) e em *S. romanzoffiana* (11,4), e oleico em *S. romanzoffiana* (21,5). O ácido láurico também foi o ácido majoritário em sementes de *B. capitata* (33,05%) e *B. eriosphata* (33,89%) (Sganzerla, 2010), *Archontophoenix alexandrae* H. Wendl. & Drude (12,9%) (Vallili et al., 2004), *Acrocomia aculeata* (50,9%), *Astrocaryum murumuru* (51,6%) (Meyer, 2013).

Por outro lado, as polpas destas mesmas espécies acumularam majoritariamente o ácido palmítico, como *D. polyacanthos* (51,2) e *B. acanthocarpa* (49,2), seguido dos ácidos oleico em *B. acanthocarpa* (33,1) e *S. romanzoffiana* (25,7), e linoleico em *S. cearensis* (24,6) e *S. romanzoffiana* (24,6). A predominância desses ácidos também foi observada nos óleos de licuri *Syagrus coronata* e *Acrocomia intumescens* (Crepaldi et al., 2001; Silva et al., 2015). Os frutos do licuri e da macaíba possuem lipídios que são utilizados na produção de sabão, velas, óleos e cosméticos, bem como *in natura* na alimentação de animais, como aves, gados e suínos e na culinária local (Crepaldi et al., 2001). Além da semente, também são extraídos o endocarpo dos frutos, utilizado na fabricação de cinto e bijuterias, como anéis, colares e pulseiras, e as folhas, utilizadas na confecção de esteiras, cintos, chapéus, bolsas, cestas, entre outros materiais (Silva et al., 2015). O óleo da semente dessas *Arecaceae*

também vem sendo testado para utilização como biocombustível (Silva et al., 2014; Souza et al., 2016).

A maioria das espécies analisadas no presente estudo apresentou elevada concentração dos ácidos oleico e linoleico. A qualidade e digestibilidade de óleos vegetais comestíveis são determinadas pela quantidade e composição em ácidos graxos insaturados. A presença de ácido linoleico em teores adequados é fundamental, uma vez que se trata de um ácido graxo essencial. Quanto maior a quantidade de ácido linoleico em relação ao oleico, melhor é a qualidade do óleo vegetal em evitar a formação de LDL (Luzia et al., 2010), característica observada para as polpas de *D. polyacanthos* e *Syagrus cearenses*.

Como pode ser visto na Tabela 3, os lipídios da polpa de *D. polyacanthos* (Ole/Lin 1/1,26) e *S. cearensis* (1/1,14) tiveram boas concentrações do ácido linoleico. Alguns ácidos graxos ocorreram em apenas uma espécie, é o caso do ácido cáprico na semente de *S. romanzoffiana* (8,3%) e do ácido araquídico em polpa de *B. acanthocarpa* (2,2%). O ácido cáprico também foi identificado em *Astrocaryum murumuru* (2%) (Meyer, 2013) e o ácido araquídico em *Bactris gasipaes* (2,31%) (Meyer, 2013).

3.2 Propriedades físico-químicas do óleo

Ocorreram diferenças significativas entre as propriedades físico-químicas do lipídio dos frutos e das sementes ($p < 0,05$) (Tabela 4). O índice de acidez variou de 2,12 KOH g⁻¹ na polpa de *S. romanzoffiana* a 4,62 KOH g⁻¹ na polpa de *S. cearenses*, e nas sementes de 2,81 KOH g⁻¹ em *S. romanzoffiana* a 3,22 KOH g⁻¹ em *B. acanthocarpa*. Segundo AOAC (2003) o valor padrão de acidez do lipídio deve ser em torno de 5 mg KOH g⁻¹, enquanto que a Comissão Codex Alimentarium (2009) determina como parâmetro de qualidade, para lipídios brutos, acidez máxima de 4,0 mg KOH g⁻¹. Todas as espécies apresentaram valores dentro do

permitido para lipídios brutos, indicando sua boa qualidade. Geralmente, o índice de acidez pode revelar formas incorretas de colheita dos frutos, amadurecimento e armazenamento impróprios, além de processos insatisfatórios de extração. Este resultado é importante para o estabelecimento de práticas de conservação pós-colheita do lipídio, com objetivo de preservar sua qualidade.

O índice de refração é relacionado com o grau de insaturação do lipídio e a razão entre duplas ligações *cis/trans* dos ácidos graxos, além de sofrer influência de processos oxidativos. Esse índice variou de 1,4252 em sementes de *S. romanzoffiana* a 1,4823 em polpa de *D. polyacanthos*. Estes valores são consistentes com os verificados em *Astrocaryum vulgare* Mart (1,4651) (Ferreira et al., 2008), *B. capitata* (1,4431) e *B. eriosphata* (1,441) (Sganzerla, 2010).

O índice de iodo variou entre 2,52 g I₂ 100 g⁻¹ em sementes de *D. polyacanthos* e 68,83 g I₂ 100 g⁻¹ na polpa de *S. romanzoffiana*. Este índice é um teste empírico que indica o grau de insaturação de um óleo. Conforme o valor do índice de iodo, os óleos vegetais podem ser classificados em secativos (índice de iodo maior que 130 g I₂/100 g), semi-secativos (índice de iodo de 115 a 130 g I₂/100 g) e não-secativos (índice de iodo menor que 115 g I₂/100 g). Todos os óleos foram classificados como não-secativos. Os óleos conhecidos como secativos são aqueles tipicamente insaturados, capazes de formar um filme elástico pela absorção de oxigênio do ar, enquanto que, os não secativos apresentam uma quantidade maior de ácidos saturados e não são capazes de formar filme em contato com o ar. Assim, de acordo com os índices de iodo obtidos, os óleos das sementes de frutos do cerrado são classificados como não-secativos. Exemplos de óleos secativo, semi-secativo e não-secativo são os óleos de soja, milho e oliva, respectivamente (Van de Mark; Sandefur, 2005).

O índice de saponificação indica o peso molecular médio dos ácidos graxos esterificados com o glicerol na molécula de triacilglicerol, ou seja, um índice de saponificação

elevado indica ácidos graxos de pesos moleculares baixos e vice-versa. Este índice variou entre 189,11 KOH g⁻¹ na polpa de *S. romanzoffiana* a 242,57 KOH g⁻¹ na semente de *S. cearenses*. Todos os índices são maiores que 181 mg KOH g⁻¹, o que indica que as espécies são formadas por ácidos graxos de peso molecular semelhante ao da maioria dos óleos vegetais, como os de soja, canola, girassol, cujos índices de saponificação são superiores a 181 mg KOH g⁻¹ (Brasil, 2005). Estes valores são comparáveis àqueles reportados por alguns autores para óleos vegetais convencionais como *Astrocaryum vulgare* Mart (202,71 mg KOH/g), (Ferreira et al., 2008), *B. capitata* (243,42 mg KOH/g) e *B. eriosphata* (245,83 mg KOH/g) (Sganzerla, 2010).

A porcentagem de ácidos graxos livres apresentada pelos lipídios (entre 1,06 em *S. romanzoffiana* e 2,31% em *S. cearenses* nas polpas e entre 0,67 em *S. cearensis* e 1,61% em *B. acanthocarpa* nas sementes) foi inferior ao limite de 5% adotado para alguns lipídios vegetais brutos, como os de milho, coco, babaçu e palma, conforme a resolução RDC nº 270 (Brasil, 2005), que estabelece o regulamento técnico para óleos vegetais. Esses valores foram inferiores aos encontrados em *Astrocaryum vulgare* Mart (2,75%), (Ferreira et al., 2008).

A medida do índice de peróxidos em lipídios é utilizada como um indicador dos estágios iniciais de oxidação lipídica. A Comissão Codex Alimentarium (2009) estipula, para lipídios refinados e brutos, valores máximos de índice de peróxidos de 10 e 15 meq kg⁻¹, respectivamente. O teor de peróxidos (entre 2,4 em *S. romanzoffiana* e 11,9 mEq.Kg⁻¹ em *S. cearensis* nas polpas e 0,41 em *D. polyacanthos* e 1,3 mEq.Kg⁻¹ em *S. romanzoffiana* nas sementes) encontrado nos lipídios das polpas e sementes estudadas apresentaram valores inferiores ao limite. A análise do índice de peróxidos é comumente utilizada no controle de qualidade de óleos vegetais por indicar o grau de oxidação lipídica (degradação do óleo).

3.3 Análises do potencial de hidrogênio (pH), sólidos solúveis (SS), acidez titulável (AT), relação sólidos solúveis/acidez titulável (SS/AT) e composição química

A composição química, potencial de hidrogênio, sólidos solúveis, acidez titulável e relação sólidos solúveis/acidez titulável (SS/AT) das espécies estão na Tabela 5. Algumas dessas características são indicadores de características sensoriais, importantes tanto na industrialização quanto no consumo dos frutos *in natura*.

A medida do pH fornece a concentração de íons-hidrogênio livres, em uma solução de um determinado soluto. A indústria de alimentos preconiza que o $\text{pH} \leq 4,5$ é muito importante, pois abaixo desse valor não há o desenvolvimento de *Clostridium botulinum* e de forma geral, das bactérias patogênicas. Em alimentos muito ácidos ($\text{pH} < 4,0$), a microbiota capaz de se desenvolver é restrita apenas aos bolores e leveduras, e, por vezes, bactérias lácticas e acéticas (Santos et al., 2010). Os valores de pH variaram de 3,6 em *D. polyacanthos* a 4,4 em *B. acanthocarpa* nas polpas e 2,4 em *S. cearensis* a 3,6 em *D. polyacanthos* nas sementes. Polpa e sementes de todas as espécies estiveram com pH abaixo de 4,5, o que favorece a indústria de alimentos que utiliza o efeito do pH baixo sobre os microrganismos para a preservação dos alimentos (Nascimento et al., 2011).

Os sólidos solúveis representam as substâncias que são solúveis na água, como os açúcares simples (mono e dissacarídeos), alguns ácidos orgânicos e vitaminas hidrossolúveis. Os valores encontrados estão em conformidade com o que exige Brasil (1999) (mínimo 9,0° Brix), exceto em sementes de *B. acanthocarpa* (4,7° Brix). As espécies *D. polyacanthos* (10,2° Brix na polpa e 25,6° Brix na semente), *S. cearenses* (22,8° Brix na polpa e 11,2° Brix na semente) e *S. romanzoffiana* (19,6° Brix na polpa e 15,4° Brix na semente) continham elevada quantidade de sólidos solúveis, cuja composição química apresentou uma boa quantidade de carboidratos, o que explica o sabor açucarado desses frutos e sementes. Esses valores são maiores que os encontrados em *B. capitata* (11° Brix) e *B. eriosphata* (9° Brix)

(Sganzerla, 2010). Os açúcares constituem a maior parte dos sólidos solúveis e apresentam-se principalmente sob a forma de glicose, frutose e sacarose. Frutos com altos teores de sólidos solúveis são geralmente preferidos para consumo *in natura* e para industrialização, por oferecerem a vantagem de propiciar maior rendimento no processamento, em razão da maior quantidade de néctar produzido por quantidade de polpa.

O teor de acidez titulável de todas as espécies foi inferior a 1%, mais baixo do que em *B. capitata* (1,92) e *B. eriosphata* (1,88) (Sganzerla, 2010). A acidez é um importante parâmetro na avaliação do estado de conservação de um produto alimentício. Baixa acidez é preferível para o consumo *in natura*, muito embora possa constituir-se em problema para a indústria devido ao favorecimento das atividades enzimáticas e desenvolvimento de microrganismos. Além disso, frutos ácidos favorecem os processos de industrialização na forma de doces, porém inibem o seu consumo *in natura* (Santos et al., 2010).

Segundo Lima et al. (2002), frutos destinados a fins tecnológicos devem possuir valores de SS/AT superiores a 8. Todas as espécies analisadas tiveram valores superiores a 8 e a espécie que apresentou maior equilíbrio entre açúcares e acidez (SS/TA) foi a *B. acanthocarpa* (38,43). Estes valores indicam uma excelente palatabilidade desses frutos, o que explica o consumo da sua forma fresca *in natura*. O resultado da relação entre os sólidos solúveis e a acidez titulável indica o maior ou menor grau do sabor agridoce dos produtos *in natura* ou processados, em especial das frutas e de seus derivados.

3.4 Composição química

No geral, o teor de umidade tanto em polpas quanto em sementes não ultrapassou 40 g/100 g (Tabela 4). Na literatura, existem algumas espécies de Arecaceae com polpas ricas em umidade, como é o caso de *B. capitata* (84,99 g/100) e *B. eriosphata* (88,15 g/100) (Sganzerla, 2010), *Copernicia prunifera* (45,73 g/100) (Carvalho, 2011) e *Astrocaryum*

vulgare Mart (44,90 g/100) (Ferreira et al., 2008). O teor de cinzas foi maior nas sementes chegando até 22,7 g/100 g em *B. acanthocarpa* valor muito elevado quando comparasse com a *Astrocaryum vulgare* Mart (2,53 g/100) (Ferreira et al., 2008). Este resultado pode indicar um maior teor de resíduo mineral no fruto da *B. acanthocarpa*.

O maior teor de carboidratos foi encontrado nas sementes *D. polyacanthos* (64,2 g/100 g), e as polpas das espécies de Arecaceae acumularam acima de 30 g/100 g de carboidratos. O teor estimado de carboidratos totais da polpa das Arecaceae estudadas é elevado como o das palmeiras amazônicas *Euterpe oleracea* (açai), que tem em torno de 57,4% (Aguiar et al., 1980) e *Bactris gasipaes* (pupunha), variando de 14,5 a 84 g/100 g (Clement e Mora Urpi, 1987).

Os principais atributos da semente e da polpa de *D. polyacanthos* é o elevado teor de carboidratos, sólidos solúveis, e relação SS/AT, que revela o equilíbrio entre os açúcares e acidez nos frutos e pode estar associada com um bom sabor, característica importante para comercialização dos frutos *in natura*, demonstrando seu potencial para estudos agroindustriais com seu fruto e como alternativas para complementar a renda das populações locais.

Exceto em *D. polyacanthos*, as espécies acumularam teores elevados de lipídios nas sementes (acima de 30%). Por outro lado, *B. acanthocarpa* acumulou lipídios majoritariamente em suas polpas. O teor de lipídeos das sementes é elevado e similar ao padrão encontrado para outras espécies de palmeiras (Balick 1979; Borgtoft-Pedersen 1994; Mcsweeney, 1995; Crepaldi et al., 2001).

O nível de proteína das polpas não ultrapassou 20 g/100 g sendo a espécie *S. romanzoffiana* a que obteve o maior valor (18,9) (Tabela 5). Esses valores foram muito superiores ao reportado em frutos de espécies de palmeiras amazônicas *Euterpe edulis* (3,6 g/100), *Mauritia flexuosa* (1,5 g/100) e *Bactris gasipaes* (3,5 g/100) (Aguiar et al. 1980) ou de frutos de palmeiras dos gêneros *Jessenia* (5,4 g/100) e *Oenocarpus* (3,5 g/100)

(Beckerman, 1977). De um modo geral, a literatura relata a composição nutricional da polpa de frutos das palmeiras, ficando prejudicada a comparação entre a composição das sementes a de outras espécies (Crepaldi et al., 2001).

A espécie com maior índice calórico total foi *S. cearensis*, um valor calórico elevado em comparação com outras frutas tradicionalmente usadas na região da Caatinga, como *Spondias tuberosa* (37 cal por 100 g) e *Anacardium occidentale* (43 cal por 100 g) (Taco, 2006). No entanto, este índice calórico foi bem maior ao encontrado por Nascimento et al. (2011) em *S. cearensis* (393,67 cal por 100 g) e por Crepaldi et al. (2001) em *S. coronata* (527 cal por 100 g). Ao considerarmos que uma criança de dez anos de idade precisa ingerir cerca de 2000 cal por dia e um adulto 3100 cal por dia (FAO, 2001), pode-se inferir que a ingestão de cerca de 100 g de fruto de *S. cearensis* satisfaz cerca de 32,93% necessidades calóricas de uma criança e 21,24% de um adulto. Tal fato nos leva a considerar que esta espécie tem um grande potencial para suplementar a dieta da população, bem como aproveitadas para estudos que visam desenvolver novos produtos alimentares.

3.5 Compostos bioativos e estabilidade oxidativa

O teor de carotenoides totais, fenóis totais e estabilidade oxidativa do lipídios das espécies estão apresentados na Tabela 6. O teor de carotenoides totais (beta-caroteno) foi elevado nas seguintes polpas das espécies: *Syagrus romanzoffiana* (234,5 µg/g), *S. cearensis* (121,5 µg/g) e *B. acanthocarpa*. Estas espécies demonstraram teores mais elevados do que o licuri (26,1 µg/g), *Bactris gasipaes* (3,8 µg/g), *Astrocaryum vulgare* (3,5 µg/g), cenoura (12 µg/g) (Crepaldi et al., 2001) e da acerola - *Malpighia puniceifolia* L., (3,47 µg/g) (Aquino et al., 2011). O β-caroteno é o principal carotenoide encontrado na polpa do buriti (1.181 µg/g) (Almeida e Agostini-Costa, 1998), da pupunha (315 µg/g) (*Bactris gasipaes*) (Johannessen 1967) e do cumari (351 µg/g) (*Astrocaryum vulgare*) (Aguiar et al., 1980).

Os carotenoides são um importante grupo de pigmentos naturais que, apesar de ser encontrados em níveis muito baixos, estão entre os mais importantes micronutrientes na dieta humana, servindo como precursores da vitamina A, reduzindo os radicais livres e prevenindo certos tipos de tumores. Se o fator de β -caroteno for convertido em vitamina A, no qual 12 μg de beta-caroteno é igual a 1 $\mu\text{g/g}$ de retinol (Rodriguez-Amayac, 2008), pode-se inferir que 100 g frutos de *Syagrus romanzoffiana* levam à ingestão de aproximadamente 23,450 $\mu\text{g/g}$ de β -caroteno, que é igual a cerca de 1954 $\mu\text{g/g}$ de vitamina A, excedendo a quantidade dessa vitamina nas necessidades de ingestão diária de crianças e adultos.

Os compostos fenólicos totais variaram nas polpas entre 4,5 mg EAG/100 g *Bactris acanthocarpa* e 12,4 mg EAG/100 g em *Desmoncus polyacanthos*. Já nas sementes variou entre 1,2 mg EAG/100 g em *B. acanthocarpa* e 2,3 mg EAG/100 g em *Syagrus cearensis*. As polpas de *D. polyacanthos* e *Syagrus romanzoffiana* apresentaram compostos fenólicos totais acima de 10 mg EAG/100 g, sendo superior ao de muitas frutas como o abacaxi (3,62 mg EAG/100 g), o maracujá (3,67 mg EAG/100 g), o melão (1,26 mg EAG/100 g), a manga (5,57 mg EAG/100 g) e a goiaba (5,6 mg EAG/100 g) (Prado, 2009), entretanto, muito baixas se levarmos em consideração outras Arecaceae como *B. capitata* (260,41 mg EAG/100 g) e *B. eriosphata* (278,38 mg EAG/100 g) (Sganzerla, 2010).

No teste de estabilidade oxidativa o maior tempo de indução foi observado nas sementes de *Syagrus romanzoffiana* (54,2 h) e o menor *D. polyacanthos* (1,6 h), enquanto nas polpas o maior ocorreu em *Syagrus cearensis* (10,2 h) e a menor em *D. polyacanthos* (2,4 h) (Tabela 6). O procedimento de estabilidade oxidativa tem como finalidade testar o tempo necessário para a oxidação total dos lipídios. Para isso, os óleos são submetidos à alta temperatura e a um fluxo de ar constante, no qual componentes voláteis liberados durante a oxidação são coletados em células contendo água, que promovem um aumento da

condutividade da solução, até atingir o ponto de inflexão da condutividade e registrado então seu tempo de indução (Amaral et al., 2003).

3.4 Perfil de minerais e aminoácidos

Os dados referentes ao perfil de minerais e aminoácidos estão apresentados nas Tabelas 7 e 8, respectivamente. Foram analisadas as concentrações de oito minerais (Ca, Fe, K, Na, Mg, P, Se, e Zn). O cálcio, o potássio, o magnésio e o fósforo foram os minerais mais abundantes. Em relação aos minerais, constatou-se a presença de cinco dos macrominerais (K, Ca, Mg, S e P) dos oito considerados essenciais para o metabolismo dos organismos vivos (DE ANGELIS, 1997). Quanto aos micronutrientes essenciais, destacam-se as presenças de Zn e Se, que, segundo Fennema (1993), desempenham papéis importantes tanto na fisiologia do vegetal quanto do animal.

Merece destaque por acumular quantidades elevadas de cálcio na sua polpa a *Syagrus cearenses* (236,75 mg/100g), sendo importante a realização de estudos sobre o aproveitamento desse fruto. Esses valores são superiores ao cálcio encontrado nas polpas do açaí (4,8 mg/100g) - *Euterpe edulis* Martius (Ribeiro et al., 2011) e *Archontophoenix alexandrae* (4,5 mg/100g) (Vallili et al., 2004),

Todas as sementes foram boas fontes de potássio (*B. acanthocarpa* - 261,67 mg/100g, *D. polyacanthos* - 556,16 mg/100g, *S. cearensis* - 817,21 mg/100g e *Syagrus romanzoffiana* - 910,65 mg/100g), e a polpa de *B. acanthocarpa* (431,1 mg/100g). O potássio é o principal mineral de outras frutas como o açaí (94,8) - *Euterpe edulis* Martius (Ribeiro et al., 2011) e *Archontophoenix alexandrae* (1058,33) (Vallili et al., 2004).

Algumas sementes foram boas fontes de magnésio (*Syagrus romanzoffiana* - 452,11 e *Desmoncus polyacanthos* - 237,09 mg/100g), juntamente com as polpas de *Syagrus cearenses* (280,22 mg/100g). São valores elevados quando comparamos aos resultados de Vallili et al. (2004) em *Archontophoenix alexandrae* (21,93 mg/100g).

Os dados sobre a composição de aminoácidos de polpas de frutos e sementes são apresentados na Tabela 8. Os principais aminoácidos essenciais no geral foram leucina (polpa de *S. cearensis* - 42,35), lisina (polpa de *Desmoncus polyacanthos* - 32,53), treonina (semente de *B. acanthocarpa* - 12,10), fenilalanina + tironina (polpa de *S. cearensis* - 44,58) e triptofano (semente *Syagrus romanzoffiana* - de 26,54). Os não essenciais não foram expressivos em concentração para nenhuma espécie. Perfil semelhante foi observado para frutos de outras palmeiras como *Acrocomia intumescens* (Bora e Rocha, 2004), *Astrocaryum vulgare* Mart (Bora et al., 2001), frutos de *Acrocomia sclerocarpa* (Amaya-Farfán et al., 1986), *Euterpe oleracea* Mart., *Mauritia flexuosa* L. f., *Oenocarpus bataua* Mart. e *Bactris gasipaes* Kunth (Andrade e Andrade, 2014).

4. Conclusão

Os frutos e sementes de espécies de Arecaceae comestíveis da Floresta Atlântica e Caatinga de Pernambuco apresentaram um elevado valor energético e nutricional, revelando um grande potencial para utilização na indústria de alimentos. As sementes foram de médias a grandes, com teores de óleo acima de 25%, exceto para *Desmoncus polyacanthos*. Cada um desses frutos e sementes contribui com um nutriente específico fornecendo um benefício de saúde, mas geralmente são ricas em lipídios em polpa (ácidos palmítico, oleico e linoleico) e semente (ácidos láurico, palmítico e oleico) além de minerais como K, P, Mg, Ca, Fe e Zn. As propriedades físico-químicas dos lipídios de polpas e sementes foram comparáveis às de lipídios convencionais de boa qualidade, o que é evidenciado pelos baixos teores de ácidos graxos livres, acidez e índice de peróxidos, inferindo baixa degradação hidrolítica e oxidativa.

A maioria das espécies possuiu boas concentrações de compostos bioativos e elevada estabilidade oxidativa. Diante do exposto, recomendamos que análises sobre toxicidade e fatores anti-nutricionais sejam realizados com essas espécies para que possam ser indicadas na dieta saudável e como fontes complementares de carboidratos, proteínas, ácidos

graxos essenciais, compostos antioxidantes e em dietas à base de vegetais. Acredita-se que o impacto mais imediato deste estudo pode ser na melhoria do uso de espécies de Arecaceae pelas populações por possuírem elevado potencial nutricional, podendo ser utilizadas em programas de melhoramento da qualidade dos alimentos entre as populações rurais. Os dados mostram que os frutos e sementes analisados são fontes de lipídios com possível aplicação não só para consumo alimentar, mas também como uma importante fonte de bioativos a ser empregadas nas indústrias.

5. Referências

- Adawy, T.A. & Taha K.M. (2001). Characteristics and composition of different seed oils and flours. *Food Chemistry* 74 (1), 47-54.
- Aguiar, J.P.L., Marinho, H.A., Rebêlo, Y.S. & Shrimpton, R. (1980). Aspectos nutritivos de alguns frutos da Amazônia. *Acta Amazonica*.10, 755-758.
- Almeida, S.P. & Agostini-Costa, T. S. (1998). Frutas Nativas do cerrado: caracterização físico-química e fonte potencial de nutrientes. In: *Cerrado: ambiente e flora*. Brasília: Embrapa Cerrados, Segunda edição revisada e ampliada (no prelo).
- Amaral, J.S., Casal, S., Pereira, J.A., Seabra, R.M. & Oliveira, M.B.P.P. (2003). Determination of Sterol and Fatty Acid Compositions, Oxidative Stability, and Nutritional Value of Six Walnut (*Juglans regia* L.) Cultivars Grown in Portugal. *J. Agric. Food Chemistry*. 51, 7698-7702.
- Andrade Jr., M.C. & Andrade, J.S. (2014). Amazonian Fruits: An Overview of Nutrients, Calories and Use in Metabolic Disorders. *Food and Nutrition Sciences*, 5, 1692-1703.
- Aquino, A.C.M.S., Mões, R.S. & Castro, A.A. (2011). Estabilidade de ácido ascórbico, carotenoides e antocianinas de frutos de acerola congelados por métodos criogênicos. *Braz. J. Food Technol.* 14 (2), 154-163.
- Araújo, E.L., Castro, C.C. & Albuquerque, U.P. (2007). Dynamics of Brazilian Caatinga - A Review Concerning the Plants, Environment and People. *Functional Ecosystems and Communities*, 1, 15-28.

- Association of Official Analytical Chemists (AOAC). (1990). *Official methods of analysis* (15th ed.). Arlington: AOAC.
- Balick, M.J. (1979). Amazonian oil palms of promise: a survey. *Economic Botany*. 33, 1-28.
- Beckerman, S. (1977). The use of palms by the barí indians of the Maracaibo basin. *Principes*. 21, 143-154.
- Bora, P. S. & Moreira, R.V.R. (2003). Catolé palm (*Syagrus oleracea* Mart) fruits: fatty and amino acids composition. *Grasas y Aceites*. 54 (2), 145- 150.
- Bora, P.S. & Rocha, R.V.M. (2004). Macaiba palm: fatty and amino acids composition of fruits macaíba: composición de aminoácidos y ácidos grasos de frutos macaíba: composición de aminoácidos e ácidos graxos de fritos. *Ciencia y Tecnología Alimentaria*. 4 (3), 158-162.
- Borges, S.V., Maia, M.C.A., Gomes, R.C.M. & Cavalcanti, N.B. (2007). Chemical composition of umbu (*Spondias Tuberosa* Arr. Cam) seeds. *Química Nova*. 30 (1), 49-52.
- Borgtoft-Pedersen, H. (1994). Mocoira palm-fibers: use and management of *Astrocaryum standleyanum* (Arecaceae) in Ecuador. *Economic Botany*. 48, 310-325.
- Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC n. 270, de 22 de setembro de (2005). *Aprova o regulamento técnico para óleos vegetais, gorduras vegetais e creme vegetal*. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil. Brasília, DF.
- Carvalho, C. O. Comparação entre métodos de extração do óleo de *Mauritia flexuosa* L.f. (ARECACEAE - buriti) para o uso sustentável na reserva de desenvolvimento tupé: rendimento e atividade antimicrobiana. 2011. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia e Recursos Naturais) – Universidade do Estado do Amazonas, Manaus, 2011.
- Clement, C.R. & Mora-Urpi, J.E. (1987). Pejibaye palm (*Bactris gasipaes*, Arecaceae): multi use potential for the lowland humid tropics. *Economic Botany*. 41, 302-311.
- Codex Alimentarius Commission. (2009). *Codex-Stan 210: codex standard for named vegetable oils*. Roma: FAO/WHO Food Standards.
- Coimbra, M.C. (2010) *Caracterização dos frutos e dos óleos extraídos da polpa e amêndoa de guariroba (Syagrus oleracea), Jerivá (Syagrus romanzoffiana) e macaúba (Acromia aculeata)*. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Instituto de

Biociências, Letras e Ciências Exatas, p. 92. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/11449/88418>>.

- Costa-singh, T., bitencourt, T.B. & Jorge, N. (2012). Caracterização e compostos bioativos do óleo da castanha-de-cutia (*Couepia edulis*). *Rev Inst Adolfo Lutz*. 71 (1), 61-8.
- Coutinho D.J.G., Barbosa M.O., Souza, R.J.C., Silva A.S., Silva S.I. & Oliveira A.F.M. (2016). Biodiesel potential of the seed oils from some Brazilian native Euphorbiaceae species. *Renew Energy*. 91, 275–281.
- Crepaldi, I.C., Almeida-Muradian, L.G.B., Rios, M.D.G., Penteado, M.V.C. & Salatino, A. (2001). Composição nutricional do fruto de licuri (*Syagrus coronatta* (Martius) Beccari). *Revista Brasileira de Botânica*. 24 (2), 155-159.
- Damáσιο, J.M.A. (2013). Caracterização nutricional e avaliação da composição lipídica do licuri (*Syagrus coronata*) e seus coprodutos. / Jeanny Mércia do Amaral Damásio. - Itapetinga: UESB, 46f.
- Freitas J.B. & Naves, M.M.V. (2010). Composição Química de Nozes e Sementes Comestíveis e sua Relação com a Nutrição e Saúde. *Revista de Nutrição*. 23 (2), 269-279.
- Hagen, S.R., Frost, B. & AUGUSTIN, J. (1989). Pre-column Phenylisothiocyanate derivatization and Liquid-Chromatography of Aminoacids in Food. *J. Assoc. Off. Ana. Chem.* 72 (6), 912-916.
- Lira Júnior, J.S., Musser, R.S., Melo, E.A., Maciel, M.I.S., Lederman, I. E. & Santos, V.F. (2005). Caracterização física e físicoquímica de frutos de cajá-umbu (*Spondias* spp.). *Ciência e Tecnologia de Alimentos*. 25(4), 757-761.
- Teixeira, L.L. (2010). *Análises bromatológicas e fitoquímicas de frutos de Licania tomentosa (Benth) fritsch*. Dissertação (mestrado) - Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Centro de Ciências Exatas e da Terra. Programa de Pós-Graduação em Química, p.92.
- Mcsweeney, K. (1995). The cohune palm (*Orbignya cohune*, Arecaceae) in Belize: a survey of uses. *Economic Botany*. 49, 162-171.
- Melo, M.L.P., Maia, G.A., Silva, A.P.V., Oliveira, G.S.F. & Figueiredo, R. W. (1998). Caracterização Físico-química da amêndoa de castanha de caju (*Anacardium occidentale* L.) crua e tostada. *Ciência e Tec. Alimentos*. 18, 184.

- Nascimento, V.T., Moura, N.P., Vasconcelos, M.A.S., Maciel, M.I.S. & Albuquerque, U.P. (2011). Chemical characterization of native wild plants of dry seasonal forests of the semi-arid region of northeastern Brazil. *Food Research International*. 44, 2112–2119.
- Nollet, L.M.L., Toldrá, F., Benjakul, S., Paliyath, G. & Hui, Y.H. (2012). Eds., *Food Biochemistry and Food Processing*, 2nd Edition, John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, 531-553.
- Paliyath, G., Tiwari, K., Sitbon, C. & Whitaker, B.D. (2012) *Biochemistry of Fruits*. In: *Simpson, B.K.*
- Philippi, S.T. *Tabela de Composição de Alimentos: suporte para decisão nutricional*. (2001). Brasília: ANVISA, FINATEC/NUT-UnB, p.133.
- Prado, A. (2009). *Composição fenólica e atividade antioxidante de frutas tropicais*. Dissertação de Mestrado. ESALQ/USP, p.106.
- Rapini, A., Queiroz, L.P. & Giulietti, A. M. (2006). *PPBIO: The Program of Research on Biodiversity in the Brazilian Semi-arid*. Pp. 27-32. In: Queiroz, L. P., A. Rapini & A. M. Giulietti (Eds.). *Towards greater knowledge of the Brazilian semi-arid biodiversity*. Brasília, Ministério do Meio Ambiente.
- Ribeiro, L.O., Mendes, M.F., & Pereira, C.S.S.P. (2011). Avaliação da Composição Centesimal, Mineral e Teor de Antocianinas da Polpa de Juçará (*Euterpe Edulis Martius*). *Revista Eletrônica TECCEN*. 4(2), 5-16.
- Rodriguez-Amaya, D.B., Kimura, M., & Amaya-Farfan, J. (2008). *Fontes Brasileiras de carotenóides/tabela Brasileira de composição de carotenóides em alimentos*. Brasília, DF: Ministério do Meio Ambiente.
- Silva, M.C.D., Silva, L.M., Brandão, K.S., Souza, A.G., Cardoso, L. P., Santos, A. O. & Santos, A.O. (2014). Low temperature properties of winterized methyl babassu biodiesel. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 115, 635640.
- Silva, R.B., Silva-Júnior, E.V., Rodrigues, L.C., Andrade, L.H.C., Silva, S.I., Harand, W. & Oliveira, A.F.M. (2015). A comparative study of nutritional composition and potential use of some underutilized tropical fruits of Arecaceae. *Anais da Academia Brasileira de Ciências (Online)*. 1, 1-1.
- Simpson, B.B. & Ogorzaly, M.C. (2001). *Economic botany: plants in our world*. 3rd ed. New York: McGraw-Hill.

- Souza, G.K., Sheufele, F.B., Pasa, T.L.B., Arroyo, P.A. & Pereira, N.C. (2016). Synthesis of ethyl esters from crude macauba oil (*Acrocomia aculeata*) for biodiesel production. *Fuel*. 165, 360–366.
- Tan, C.P., Man, Y.B.C., Selamat, J. & Yusoff, M.S.A. (2002). Comparative studies of oxidative stability of edible oils by differential scanning calorimetry and oxidative stability index methods. *Food Chemistry*. 76, 385-389.
- Tang C.S., Okazaki, E.N. & Ishizaki, S. M. (1978). Composition of papaya seeds. *J. Food Sci.* 43, 255.
- Van de Mark, M. R.; Sandefur, K. Vegetable oils in paint and coatings. In: ERHAN, S. Z. (Ed.). Industrial uses of vegetable oils. Champaign: AOCS Press, 2005. p. 143-162.
- White, J.A., Hart, R.J. & Fry, J.C. (1986). An evaluation of the waters Pico-Tag System for the aminoacids analysis of food materials. *J. Automatic Chem.* 8 (4), 170-177.

Tabela 1. Características das espécies de Arecaceae alimentícias não-convencionais de Florestas Tropicais de Pernambuco.

Espécie	Nome Popular	Local de Coleta	Ecossistema	Coordenadas Geográficas	Hábito
<i>Bactris acanthocarpa</i> Mart.	Marajá	Palmares – Pernambuco	Floresta Atlântica	8°40'13.52"S 35°34'36.19"O	Árvore
<i>Desmoncus polyacanthos</i> Mart.	Jacitara	Dois Irmãos, Recife – Pernambuco	Floresta Atlântica	8° 1'0.07"S 34°56'44.27"O	Liana
<i>Syagrus cearensis</i> Noblick	Coco-católé	Buíque – Pernambuco	Caatinga	8°37'21.43"S 37° 9'36.46"O	Árvore
<i>Syagrus romanzoffiana</i> (Cham.) Glassman	Jerivá	São Lourenço – Pernambuco	Floresta Atlântica	8° 0'14.68"S 35° 1'6.30"O	Árvore

Tabela 2. Características biométricas das polpas e das sementes de espécies de Arecaceae alimentícias não-convencionais de Florestas Tropicais de Pernambuco.

Espécie	Dimensões das sementes (mm)^a			Peso da Semente (g)^B	Dimensões da polpa		
	Comprimento	Largura	Espessura		Espessura da polpa (mm)	Peso da Polpa (g)^B	Rendimento (%)
<i>Bactris acanthocarpa</i>	21,3 ¹ ± 0,9	19,5 ⁱ ± 0,7	18,3 ⁱ ± 1,3	123,2 ± 0,5	7,5 ^{ef} ± 1,2	87,4 ± 0,7	11,3
<i>Desmoncus polyacanthos</i>	15,6 ^j ± 1,1	14,3 ^j ± 0,5	12,5 ^j ± 2,1	84,5 ± 1,1	3,2 ^{hi} ± 0,6	21,2 ± 0,6	5,4
<i>Syagrus cearensis</i>	65,4 ^c ± 1,5	61,3 ^c ± 0,3	59,5 ^c ± 1,1	208,3 ± 2,1	12,1 ^c ± 1,1	141,3 ± 0,5	19,8
<i>Syagrus romanzoffiana</i>	43,2 ^d ± 0,6	40,2 ^d ± 0,4	39,6 ^{de} ± 0,9	189,4 ± 1,9	8,9 ^d ± 0,7	57,3 ± 0,6	14,3

^aOs resultados representam a média ± desvio padrão das análises realizadas em 50 frutos e sementes. ^b resultado médio de 50 unidades. Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Tabela 3. Ácidos graxos de frutos e sementes de espécies de Arecaceae alimentícias de Florestas Tropicais de Pernambuco.

Espécie	Parte usada	Teor de óleo %	C12:0	C14:0	C16:0	C16:1	C18:0	C18:1	C18:2	C18:3	C20:0	Relação O/L *	∑ Sat	∑ Mono	∑ Poli	∑ Insat	Outros
<i>B. ach</i>	Polpa	13,4 ± 0,7 ^{hi}	-	0,3	49,2	2,4	1,5	33,1	6,8	4,5	2,2	1/0,19	53,2	35,4	11,3	46,7	-
<i>B. ach</i>	Semente	25,3 ± 0,8 ^f	40,3	27,4	13,9	-	14,2	4,2	-	-	-	1/0	95,8	4,2	-	4,2	-
<i>D. pol</i>	Polpa	3,6 ± 2,1 ^k	-	-	51,2	1,4	5,6	18,3	23,2	-	-	1/1,26	56,8	19,7	23,2	42,9	0,3
<i>D. pol</i>	Semente	5,8 ± 1,5 ^j	53,2	27,7	7,6	-	8,4	3,1	-	-	-	1/0	96,9	3,1	-	3,1	-
<i>S. cea</i>	Polpa	25,7 ± 0,7 ^{ef}	1,1	0,8	47,3	1,5	2,1	21,5	24,6	0,7	-	1/1,14	51,3	23	25,3	48,3	0,4
<i>S. cea</i>	Semente	61,7 ± 1,9 ^a	53,3	21,3	9,9	-	4	7,8	1,2	0,5	-	1/0,15	88,5	7,8	1,7	9,5	2
<i>S. rom</i>	Polpa	15,3 ± 0,4 ^g	0,3	1,4	34,7	-	1,2	25,7	24,5	3,6	-	1/0,95	37,6	25,7	27,9	53,6	8,9
<i>S. rom</i>	Semente	60,4 ± 0,8 ^a	39,5	14,7	11,4	-	0,4	21,5	4,2	-	-	1/0,19	75,3	21,5	4,2	25,7	-

B. ach = *B. acanthocarpa*; *D. pol* = *D. polyacanthos*; *S. cea* = *S. cearensis*; *S. rom* = *S. romanzoffiana*; Os dados são médias (± DP) de três réplicas (n=3). - = não detectado; C12:0 = Ácido láurico; C14:0 = Ácido mirístico; C16:0 = Ácido palmítico; C16:1 = Ácido palmitoléico; C18:0 = Ácido esteárico; C18:1 = Ácido oleico; C18:2 = Ácido linoleico; C18:3 = Ácido linolênico; C20:0 = Ácido araquídico; Outros = Ácidos graxos não identificados. *Relação entre o total de ácidos oléico e linoleico; ∑ Sat = total de ácidos graxos saturados; ∑ Mono = total de ácidos graxos monoinsaturados; ∑ Poli = Total de ácidos graxos poliinsaturados; ∑ Insat = total de ácidos graxos insaturados.

Tabela 4. Teor de óleo e propriedades físico-químicas do lipídio de polpas e sementes de espécies de Arecaceae alimentícias de Florestas Tropicais de Pernambuco.

Espécie	Parte analisada	Propriedades físico-químicas					
		Índice de Acidez (mg KOH g ⁻¹)	Índice de Refração (40 °C)	Índice de Iodo (g I.100 g ⁻¹)	Índice de Saponificação (mg KOH.g ⁻¹)	Ácidos graxos livres (%)	Índice de peróxido (mEq.Kg ⁻¹)
<i>B. acanthocarpa</i>	Polpa	3,51 ± 0,1 ^c	1,4743 ± 0.0001 ^e	51,02 ± 0,5 ^{kl}	208,12 ± 0,7 ^e	1,75 ± 0,6 ^{cd}	4,52 ± 1,3 ^d
	Semente	3,22 ± 0,6 ^d	1,4533 ± 0.0001 ^{fg}	3,53 ± 0,3 ^p	236,92 ± 0,3 ^c	1,61 ± 0,3 ^d	0,46 ± 0,5 ^{jk}
<i>D. polyacanthos</i>	Polpa	2,64 ± 0,3 ^f	1,4823 ± 0.0001 ^a	52,11 ± 0,2 ^{jk}	208,61 ± 0,2 ^e	1,32 ± 0,4 ^h	2,6 ± 1,4 ^{ef}
	Semente	2,93 ± 0,3 ^e	1,4462 ± 0.0001 ⁱ	2,52 ± 0,3 ^{op}	255,12 ± 0,4 ^a	1,46 ± 0,8 ^{fg}	0,41 ± 0,6 ^{jk}
<i>S. cearensis</i>	Polpa	4,62 ± 0,3 ^a	1,4335 ± 0.0001 ^{cd}	58,78 ± 0,5 ^{ij}	256,46 ± 0,5 ^a	2,31 ± 0,6 ^a	11,9 ± 2,9 ^a
	Semente	1,34 ± 0,3 ⁱ	1,4522 ± 0.0001 ^{fg}	9,91 ± 0,8 ⁿ	242,57 ± 0,8 ^b	0,67 ± 1,3 ^l	0,92 ± 0,7 ^j
<i>S. romanzoffiana</i>	Polpa	2,12 ± 0,2 ^g	1,4632 ± 0.000 ^{bc}	68,83 ± 0,4 ⁱ	189,11 ± 0,9 ⁱ	1,06 ± 0,8 ^j	2,4 ± 0,5 ^a
	Semente	2,81 ± 0,9 ^{ef}	1,4252 ± 0.0001 ^h	23,15 ± 0,7 ^m	225,82 ± 0,3 ^d	1,05 ± 0,4 ^j	1,3 ± 0,3 ^{hi}

Os dados são médias (± DP) de três réplicas (n=3). Letras diferentes na mesma coluna indicam diferenças significativas segundo teste de Tukey ($p < 0.05$).

Tabela 5. Potencial de hidrogênio (pH), sólidos solúveis (SS), acidez titulável (AT), relação sólidos solúveis/acidez titulável (SS/AT), composição química (g/100 g) e índice calórico total (ICT - cal/100 g) de espécies de Arecaceae alimentícias não-convencionais.

Espécie	Parte analisada	Composição química									
		pH	SS	AT	SS/AT	Umidade	Cinzas	Carboidratos	Lipídios	Proteínas	ICT
<i>B. acanthocarpa</i>	Polpa	4,4 ± 0,5 ^a	12,3 ± 0,2 ^{de}	0,32 ± 0,03 ^g	38,43 ± 0,7 ^b	18,6 ± 0,1 ^f	2,9 ± 0,7 ^f	31,4 ± 0,3 ^{bc}	42,6 ± 0,2 ^{cd}	4,5 ± 0,8 ^e	317,6 ± 0,6 ^h
	Semente	2,5 ± 0,2 ^{fg}	4,7 ± 0,5	0,43 ± 0,05 ^f	10,13 ± 0,1 ^g	7,3 ± 0,6 ⁱ	22,7 ± 0,4 ^a	14,2 ± 0,6 ^{de}	50,5 ± 0,1 ^b	5,3 ± 0,2 ^e	402,1 ± 0,5 ^d
<i>D. polyacanthos</i>	Polpa	3,6 ± 0,2 ^{de}	10,2 ± 0,7 ^e	0,52 ± 0,03 ^e	19,21 ± 0,9 ^d	18,2 ± 0,3 ^f	5,3 ± 0,8 ^d	39,1 ± 0,4 ^b	32,1 ± 0,3 ^{hi}	5,3 ± 0,1 ^b	316,2 ± 0,1 ^h
	Semente	3,6 ± 0,7 ^{de}	25,6 ± 0,2 ^a	0,77 ± 0,05 ^c	34,73 ± 0,1 ^c	12,4 ± 0,2 ^{gh}	12,3 ± 0,5 ^{cd}	64,2 ± 0,1 ^a	5,8 ± 0,2 ^g	5,3 ± 0,6 ^h	330,7 ± 0,2 ^g
<i>S. cearensis</i>	Polpa	4,2 ± 0,2 ^a	22,8 ± 0,2 ^b	0,73 ± 0,02 ^c	17,58 ± 0,1 ^d	22,5 ± 0,2 ^e	0,6 ± 0,6 ^h	39,3 ± 0,2 ^b	23,4 ± 0,8 ^{de}	14,2 ± 0,2 ^e	124,8 ± 0,6 ^k
	Semente	2,4 ± 0,6 ^{fg}	11,2 ± 0,8 ^{de}	0,41 ± 0,04 ^f	27,37 ± 0,2 ^c	11,9 ± 0,6 ^{gh}	5,2 ± 0,4 ^d	24,2 ± 0,8 ^d	45,3 ± 0,7 ^a	13,4 ± 0,4 ^e	658,6 ± 0,1 ^a
<i>S. romanzoffiana</i>	Polpa	4,1 ± 0,3 ^{ab}	19,6 ± 0,7 ^b	0,62 ± 0,05 ^d	15,38 ± 0,8 ^e	36,4 ± 0,2 ^d	0,3 ± 0,1 ^h	36,7 ± 0,6 ^b	14,7 ± 0,4 ^f	11,9 ± 0,6 ^f	166,2 ± 0,3
	Semente	2,8 ± 0,1 ^f	15,4 ± 0,5 ^d	0,44 ± 0,03 ^f	12,37 ± 0,4 ^f	4,3 ± 0,5 ^j	1,4 ± 0,3 ^g	32,3 ± 0,5 ^{bc}	42,1 ± 0,3 ^b	18,9 ± 0,5 ^d	398,8 ± 0,2 ^e

Os dados são médias (± DP) de três réplicas (n=3). Letras diferentes na mesma coluna para a mesma parte analisada indicam diferenças significativas segundo teste de Tukey ($p < 0.05$).

Tabela 6. Teor de carotenoides totais, fenóis totais e estabilidade oxidativa do lipídio das espécies de Arecaceae alimentícias não convencionais de Florestas Tropicais de Pernambuco.

Espécies		Carotenoides ($\mu\text{g/g}^*$)	Fenóis totais (mg EAG/100 g)	Estabilidade oxidativa (Tempo de indução - h)
<i>Bactris acanthocarpa</i>	Polpa	103,2 \pm 0,5 ^d	4,5 \pm 1,1 ^g	2,5 \pm 1,7 ^g
	Semente	1,4 \pm 0,3 ^{mn}	1,2 \pm 0,5 ^h	5,3 \pm 0,3 ^{fg}
<i>Desmoncus polyacanthos</i>	Polpa	31,4 \pm 1,1 ⁱ	12,4 \pm 1,5 ^c	2,4 \pm 0,8 ^g
	Semente	0,8 \pm 0,8 ⁿ	1,4 \pm 1,2 ^h	1,6 \pm 0,5 ^h
<i>Syagrus cearensis</i>	Polpa	121,5 \pm 0,5 ^c	7,1 \pm 0,6 ^{ef}	10,2 \pm 0,8 ^{ef}
	Semente	0,9 \pm 0,3 ⁿ	2,3 \pm 0,8 ^h	38,5 \pm 1,4 ^b
<i>Syagrus romanzoffiana</i>	Polpa	234,5 \pm 0,6 ^a	12,3 \pm 1,9 ^c	4,3 \pm 0,5 ^g
	Semente	0,7 \pm 0,2 ⁿ	1,4 \pm 1,2 ^h	54,2 \pm 0,3 ^a

* Os valores representam os carotenoides totais, com base em β -caroteno, a partir de 5 g de frutos e sementes secos. Os dados são médias (\pm DP) de três réplicas ($n=3$). Letras diferentes na mesma coluna indicam diferenças significativas segundo ANOVA um fator e teste de Tukey ($p < 0,05$). EAG=Equivalente ácido gálico (mg EAG/100 g).

COUTINHO, D.J.G. – Potencial combustível e alimentício...

Tabela 7. Composição de minerais* (mg/100 g) de frutos e sementes de espécies de Arecaceae alimentícias de Florestas Tropicais de Pernambuco.

		Ca	Fe	K	Na	Mg	P	Se**	Zn
<i>B. ach</i>	Polpa	11,32	1,53	431,1	22,31	53,1	5,32	-	2,82
<i>B. ach</i>	Semente	31,52	5,31	261,67	4,48	190,51	21,43	1,02	4,98
<i>D. pol</i>	Polpa	12,32	9,33	12,43	21,75	13,52	12,3	-	12,31
<i>D. pol</i>	Semente	19,41	1,89	556,16	5,19	237,09	456,29	1,51	4,33
<i>S. cea</i>	Polpa	236,75	34,53	28,33	265,2	280,22	12,34	-	2,67
<i>S. cea</i>	Semente	28,24	3,57	817,21	3,94	131,81	536,72	0,31	4,51
<i>S. rom</i>	Polpa	4,3	46,6	94,8	19,3	12,3	5,2	-	2,39
<i>S. rom</i>	Semente	14,62	2,28	910,65	1,47	452,11	2214,46	1,40	7,19

* Os dados são a média \pm desvio padrão de duplicatas; ** ($\mu\text{g}/100\text{ g}$)

Tabela 8. Perfil de aminoácidos (g/100 de proteína) de frutos e sementes de espécies alimentícias de Florestas Tropicais de Pernambuco.

		Aminoácidos essenciais ^a								Aminoácidos não-essenciais ^b							
		Ile	Leu	Lis	Met+Cis	Fe+Tir	Treo	Trp	Val	Asp	Glu	His	Ala	Arg	Gli	Pro	Ser
<i>B. ach</i>	Polpa	2,14	15,43	10,34	0,64	26,58	2,44	1,14	0,44	0,45	0,34	7,83	0,09	0,82	0,10	2,15	0,31
<i>B. ach</i>	Semente	0,55	13,62	7,59	1,73	1,55	12,10	1,66	5,65	1,49	0,72	0,18	0,64	0,23	0,26	0,53	0,25
<i>D. pol</i>	Polpa	0,85	4,57	32,53	1,35	1,62	2,33	6,73	1,49	0,25	0,28	0,67	0,43	0,76	3,62	0,28	0,64
<i>D. pol</i>	Semente	0,74	14,51	7,56	5,69	0,85	4,41	0,09	0,31	1,23	4,41	0,61	0,27	0,86	0,87	0,35	0,41
<i>S. cea</i>	Polpa	0,94	42,35	16,68	1,14	44,58	5,74	0,22	1,46	0,17	1,2	0,55	4,47	1,14	0,27	0,10	0,28
<i>S. cea</i>	Semente	5,32	1,6	2,56	0,34	0,27	10,62	1,14	9,44	0,73	0,03	0,25	0,24	0,16	1,75	0,62	0,87
<i>S. rom</i>	Polpa	13,08	0,25	34,6	1,09	2,11	4,94	4,81	2,45	6,27	2,23	1,34	15,01	5,65	1,6	0,35	4,76
<i>S. rom</i>	Semente	0,94	0,36	1,85	12,34	1,08	3,03	26,54	5,44	2,17	0,06	7,29	6,06	4,90	3,36	3,77	2,74

^bOs dados são médias de 2 repetições.

8 ARTIGO 6



Qualis: B1

Fator de Impacto: 3.182

Manuscrito a ser submetido ao periódico *Food Research International*

Potencial nutricional de frutos e sementes de espécies de Chrysobalanaceae e Myrtaceae ocorrentes em florestas tropicais brasileiras

Diogenes J. Gusmão Coutinho ^a, Mariana O. Barbosa ^a, Suzene I. da Silva ^b, Antonio Fernando M. de Oliveira ^{a,*}

^a Departamento de Botânica, Universidade Federal de Pernambuco, Av. Prof. Moraes Rego s/n, Cidade Universitária, 50.670-901, Recife, PE, Brasil.

^b Departamento de Biologia, Universidade Federal Rural de Pernambuco. Av. Dom Manoel de Medeiros s/n, Dois Irmãos, 52171-900 Recife, PE, Brasil

*Autor para correspondência: E-mail: afmoliveira@gmail.com, Fone: +55 81 21267813; Fax: +55 81 21267803.

Resumo - O presente estudo visa caracterizar frutos e sementes de espécies de Chrysobalanaceae (*Couepia rufa* e *Licania tomentosa*) e Myrtaceae (*Eugenia dysenterica*, *Eugenia florida*, *Eugenia pyriformis* e *Myrcia splendens*) quanto a composição química, propriedades físico-químicas e perfil de ácidos graxos, minerais e aminoácidos, bem como quantificar os seus compostos bioativos (carotenoides e fenólicos totais) e atividade antioxidante. Os maiores frutos e sementes, mais pesados e espessos foram de *Couepia rufa* e *L. tomentosa* bem como tiveram elevados teores de lipídios nas polpas e sementes. Foram identificados oito ácidos graxos e nas duas famílias o perfil de ácidos graxos pouco foi predominantemente insaturado. As propriedades físico-químicas estiveram dentro do limite estabelecido para óleos brutos revelando boas características tanto para industrialização quanto no consumo dos frutos *in natura* desses frutos. O teor de carotenoides totais (beta-caroteno) foi elevado nas polpas das espécies *C. rufa* e *M. splendens*. As polpas de *C. rufa*, *E.*

dysenterica e *L. tomentosa* apresentaram compostos fenólicos totais acima de 10 mg EAG/100 g. Merecem destaque por acumularem quantidades elevadas de cálcio nas suas polpas *L. tomentosa* e *M. splendens*. *L. tomentosa* teve a polpa rica em potássio. O sódio foi predominante nas sementes de *L. tomentosa* e na polpa de *M. splendens*. As polpas que acumularam bastante magnésio foram: *C. rufa* e *M. splendens*. Os principais aminoácidos essenciais no geral foram leucina, lisina, treonina e triptofano. Os dados mostram que os frutos e sementes analisados são fontes de óleos com possível aplicação não só para consumo alimentar, mas também como uma importante fonte de bioativos a ser empregadas nas indústrias.

Palavras-chave: lipídeos, ácidos graxos, fenóis totais.

1. Introdução

Frutos e sementes são importantes recursos naturais com usos diversificados, que vão desde a alimentação, por terem um elevado valor nutricional, até a aplicação industrial e farmacêutica, devido aos diferentes ativos que podem fornecer (Hiane et al., 2005). Um dos principais insumos presentes nos frutos e sementes são os lipídios, sendo importantes recursos devido ao seu elevado valor nutricional, farmacêutico e industrial. Cada espécie oleaginosa apresenta uma característica quanto à composição em ácidos graxos do seu lipídio e suas propriedades são empregadas para usos específicos e aproveitamento econômico variado (Man, 2007; Daley et al., 2010).

A maior parte da produção mundial de óleos vegetais é utilizada na alimentação humana, servindo para a produção de margarinas, conservantes, emulsificantes e óleos para fritura (Daley et al., 2010). Contudo, podem ser transformados em produtos não comestíveis tais como sabões, detergentes, cosméticos, fármacos, adesivos, resinas, lubrificantes, combustíveis, tintas e vernizes (Mayworm, 1994).

Os óleos fixos vegetais tanto de frutos quanto de sementes possuem variados compostos bioativos de elevado valor econômico e industrial, utilizados na formulação de alimentos, cosméticos e fármacos. Os compostos bioativos são constituintes extranutricionais, naturalmente presentes em pequenas quantidades nos alimentos, que exibem potente atividade biológica com destaque para os carotenoides (Barton et al., 1999), os polifenóis (Burdock, 2005), tocóis (vitamina E) e os fitoesteróis (Kaur & Kapoor, 2001). Dentre os efeitos potencialmente benéficos dos carotenoides, polifenóis, tocóis e fitoesteróis à saúde se destacam a atividade anti-inflamatória, antiviral, antitumoral, antimicrobiana e antioxidante (Barton et al., 1999; Liu, 2003).

Nesse sentido, a prospecção de bioativos e antioxidantes naturais por diferentes setores industriais aumenta cada vez mais, motivada, também, pela necessidade de substituição dos antioxidantes sintéticos pelos naturais. Contudo, apesar da reconhecida importância dessas substâncias, o número de investigações em espécies que não são tradicionalmente utilizadas ainda é bastante limitado. Devido a isto, existe a necessidade de ampliar a lista de espécies alimentícias nativas potencialmente úteis, para dar base a conservação dessas espécies vegetais e para o abastecimento de alimentos, especialmente para populações mais pobres e que vivem no entorno das florestas tropicais (Mayworm, 1994; Liu, 2003).

Alguns estudos de bioprospecção com espécies da flora nativa brasileira foram realizados com representantes das famílias Apocynaceae (Mayworm et al., 1998), Arecaceae (de La Salles et al., 2010), Euphorbiaceae (Mayworm et al., 1998; Pinho et al., 2009; Silva et al., 2014), Malvaceae (Silva et al., 2010) e Sapindaceae (Mayworm et al., 1998), revelando espécies com forte potencial como fontes alternativas para a produção de biocombustível, alimentos e cosméticos (Ciconini et al., 2013). Entretanto, nenhum desses trabalhos avaliou o potencial nutricional de frutos e sementes de espécies utilizadas como alimento na Floresta Atlântica e Caatinga de Pernambuco.

Diante da demanda pela indústria de insumos vegetais, no presente trabalho objetivou-se investigar a biometria, o teor de óleo, composição de ácidos graxos, as propriedades físico-químicas e analisar a composição química de sementes utilizadas como alimento, a fim de averiguar a possibilidade do uso industrial para suprimento de matéria-prima, numa tentativa de favorecer o progresso e crescimento de vários setores industriais que dependem desses recursos.

2. Material e métodos

2.1 *Material vegetal*

Os frutos e as sementes de *Couepia rufa*, *Licania tomentosa* (Chrysobalanaceae) e *Eugenia dysenterica*, *Eugenia florida*, *Eugenia pyriformis* e *Myrcia splendens* (Myrtaceae) foram colhidas a partir de plantas matrizes encontradas durante oito expedições a municípios de Pernambuco. A escolha das espécies e locais de coleta foi baseada em observações anteriores dos espécimes em viagens de coleta e em dados do georeferenciamento da carpoteca nos herbários Geraldo Mariz da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Herbário do Instituto de Pesquisa Agrícola do Estado de Pernambuco (IPA) e da Universidade Federal Rural de Pernambuco (HST). As coordenadas geográficas e espécies coletadas estão na Tabela 1. A identificação das espécies foi feita com a ajuda de especialista e consultas aos herbários acima listados. Exsicatas testemunhas das espécies foram confeccionadas e depositadas no Herbário Geraldo Mariz (UFPE) - Universidade Federal de Pernambuco.

Sementes (0,15 a 1kg) foram coletadas manualmente de frutos maduros de 100 indivíduos, sendo dez de cada espécie (Tabela 1). Foram mensurados comprimento (mm) e largura (mm) de 50 sementes utilizando paquímetro digital (Starrett Series 727, Athol, MA, USA) (Tabela 1). Para o cálculo do rendimento foram utilizados os valores das pesagens das bandejas, contendo a polpa das frutas, antes e após o processo de liofilização.

2.2 Análise da composição química

Polpa e semente (aprox. 5 g) foram previamente desidratadas em estufa a 45 °C por 12 horas (Ahmad et al., 1981). O teor de lipídios foi estimado de acordo com a diferença do peso seco da polpa/sememente e peso do lipídio extraído. O teor de umidade foi avaliado por gravimetria após desidratação total da polpa/sememente em estufa a 105 °C (AOAC, 2002). Cinzas foram determinadas por gravimetria após incineração da polpa/sememente em forno mufla a 550 °C, durante quatro horas (AOAC, 2002). Carboidratos totais na polpa e na semente foram estimados pela diferença entre a somatória dos teores de umidade, cinzas, lipídios, nitrogênio em relação a 100% (Crepaldi et al., 2001). O índice calórico total foi calculado a partir da proteína, e lipídios totais e teor de carboidratos totais (incluindo fibra), utilizando um sistema de Atwater e expresso em cal/100 g (Merrill e Watt, 1973). Cada determinação foi realizada em triplicata.

2.3 Teor de proteínas e aminoácidos

O teor de proteínas e quantificação de aminoácidos foi realizada de acordo com o método proposto por White et al. (1986) e Hagen et al. (1989). A leitura foi realizada em analisador de aminoácidos Pickering com coluna Picotag Column HPLC Waters Technologies do Brasil. Os resultados foram expressos em mg de aminoácido por grama de proteína.

2.4 Minerais

Minerais (Ca, Fe, K, Mg, Na, P e Zn) foram caracterizados e quantificados, em triplicata, por espectrofotometria de absorção atômica (Espectrômetro Perkin Elmer Analyst-200). As amostras (30 g) foram incineradas e depois digeridas com ácido clorídrico concentrado (grau analítico). Parâmetros instrumentais específicos (lâmpada, comprimento de onda, corrente da lâmpada, e a largura de fenda) foram utilizados para cada mineral (AOAC,

1990). Selênio foi analisado por espectrofotometria de absorção atômica (Hitachi®, modelo Z-5000, Tokyo) com geração de hidretos num tubo de quartzo.

2.5 Sólidos solúveis (SS), Potencial de hidrogênio e Acidez titulável

Sólidos solúveis foram determinados de acordo com a metodologia recomendada pela AOAC (1992), após filtragem da polpa em papel de filtro, efetuou-se a leitura (°BRIX) em um refratômetro digital modelo PR-100 Pallete (Atago Co, Japão), com compensação automática de temperatura. O Potencial de hidrogênio (pH) foi determinado utilizando 3 g de amostra triturada e diluída em 50 mL de água destilada, o pH foi determinado usando um potenciômetro de leitura direta (Tecnal). Para calcular a acidez titulável (TA) foi feita uma diluição de 1 g de amostra em 50 mL de água destilada, titulando com solução de NaOH (0,1 N) até coloração levemente rosa e atingir um pH de 8,2 e o resultado expresso em % de ácido cítrico (AOAC, 2002).

2.6 Relação Sólidos Solúveis/Acidez Titulável = R

A relação SS/AT foi determinada por meio da equação 1:

$$R = SS/AT$$

Onde: SS = Sólidos solúveis (Brix) e AT = Acidez Titulável (% de ácido cítrico)

2.7 Carotenoides totais

Carotenoides totais foram determinados por espectrofotometria segundo o método de Gao et al.(2000) e estimados através da fórmula (Rodriguez-Amaya & Kimura, 2004):

$$\text{Carotenoides totais } (\mu\text{g/g}) = \frac{A \times \text{volume (mL)} \times 10^4}{A_{1\text{ cm}}^{1\%} \times \text{peso amostra (g)}}$$

Onde: A = absorvância; volume = volume total do extrato; $A_{1\text{ cm}}^{1\%}$ = coeficiente de absorção do β -caroteno em éter de petróleo (2592).

2.8 Compostos fenólicos totais

A análise dos compostos fenólicos dos óleos seguiu a metodologia de Herchi et al. (2011) com modificações. Os fenóis foram extraídos a partir de 1 g de óleo diluído em 10 mL de *n*-hexano em funil de separação. Foram adicionados 20 mL de solução de metanol: água (80:10 v/v), a mistura agitada por 3 min e a fase inferior removida. O processo extrativo foi repetido mais duas vezes e as fases inferiores combinadas. O extrato foi concentrado em evaporador rotatório sob pressão reduzida (60 °C) e diluído em 1 mL de metanol.

A quantificação dos fenóis foi realizada a partir de 0,2 mL do extrato em metanol, acrescentando-se 0,5 mL de reagente de Folin-Ciocalteu (Sigma-Aldrich, St. Louis, Missouri, EUA). Após 3 min foi adicionado 1 mL de solução saturada de carbonato de sódio e completados o volume para 10 mL de água destilada. Após 1 h de repouso foi realizada a leitura das absorvâncias (765 nm) por espectrofotometria (Biospectro, SP-22, São Paulo, Brasil). Os resultados foram comparados com uma curva de calibração com ácido gálico (0, 50, 100, 150 e 200 mg/mL) e expressos em mg de equivalente ácido gálico (EAG)/100 g de óleo.

2.9 Estabilidade oxidativa

A estabilidade oxidativa foi medida através do tempo de indução à oxidação em aparelho Rancimat 892 Professional (Metrohm Ltd., Harisau, Suíça). O óleo (3 g) foi aquecido a $110 \pm 1,6$ °C com fluxo de ar de 20L/h até que fosse atingido o tempo de indução (Amaral et al., 2003).

2.10 Índice de acidez, refração, iodo, saponificação e porcentagem de ácidos graxos livres

Os índices de acidez, peróxido e refração a 40 °C foram determinados utilizando o método AOAC No. 969,18 (AOAC, 1990). A porcentagem de ácidos graxos livres (FFA%)

foi determinada de acordo com Akbar et al. (2009) e expresso em % de ácido oleico. O índice de saponificação (SN) e de iodo (IV) foram calculados usando as equações 2 e 3, respectivamente (Kalayasiri et al., 1996).

$$\text{(Eq. 2) SN} = \Sigma (560 X_{ai}) / \text{MWI}$$

$$\text{(Eq. 3) IV} = \Sigma (254 \times D X_{ai}) / \text{MWI}$$

2.11 Extração de óleo e análise dos ácidos graxos

A extração em aparelho soxhlet foi realizada para a quantificação de teor de óleo, carotenóides, compostos fenólicos, atividade antioxidante e propriedades físico-químicas. O óleo foi extraído a partir de 5 g de sementes trituradas com *n*-hexano (aproximadamente 68 °C) em aparato Soxhlet (8 h) (Ahmad et al., 1981). O solvente foi retirado sob pressão reduzida e o resíduo removido sob fluxo de nitrogênio. Sulfato de sódio anidro foi utilizado para retirar a umidade. Os óleos foram armazenados em frascos de vidro âmbar e conservados a - 4 °C até análise. A porcentagem de óleo das sementes foi calculada por diferença de peso seco.

A partir de 0,025 g de óleo, realizou-se a hidrólise dos triglicerídeos através da adição 1,5 mL da solução de MeOH-KOH (0,5 M), submetendo as amostras à banho-maria (100 °C) por 10 minutos e, posteriormente resfriadas em gelo por 5 minutos. Logo após foram acrescentados 2,5 mL de solução MeOH-BF₃ 14% (Sigma–Aldrich, St. Louis, Missouri) e levadas novamente ao banho-maria por mais 30 minutos e reaquecidas por 5 minutos. Foram adicionados 2,5 mL de uma solução aquosa de NaCl 1%, juntamente com 3 mL de *n*-heptano, e as amostras foram centrifugadas (730 g) por 5 minutos. A umidade foi retirada com a adição de 0,1 g de sulfato de sódio anidro.

Os ésteres metílicos das espécies foram analisados em cromatógrafo Agilent 7890 A (Agilent Technologies, Waldbroon, Alemanha) com detector de ionização de chama (FID) e uma coluna capilar de sílica DB-5 (difetil 5% e dimetilpolisiloxano 95%, 30 m x 0,25 mm)

(Agilent Technologies, Waldbroon, Alemanha). As condições de análise foram: temperatura inicial da coluna 150 °C; taxa de aquecimento 4° C/min até 280 °C; 280 °C (15 min). As temperaturas do detector e injetor foram de 250 °C e 290 °C, respectivamente. Hélio foi utilizado como gás de arraste com fluxo de 1 mL/min. O volume de injeção foi 2 µL e a razão do split de 1:39. Os ésteres metílicos foram identificados pela comparação com tempos de retenção de padrões de ésteres metílicos de ácidos graxos (Supelco FAME mix C4-C24, Bellefonte, PA, USA). A quantidade relativa dos ésteres metílicos foi determinada pela área integrada de cada pico e expressa em porcentagem da área total de todos os picos.

3. Resultados e Discussão

3.1 Morfometria de frutos e sementes, e perfil de ácidos graxos

As características físicas como peso, comprimento, largura, espessura, rendimento de polpa refletem na aceitabilidade do produto pelo consumidor e no rendimento industrial. As sementes mostraram diferenças significativas em comprimento, largura e espessura ($p < 0,05$) (Tabela 2). As menores dimensões (comprimento, largura e espessura, respectivamente) foram encontradas nas sementes de *Eugenia florida* (22,5, 20,1 e 19,8 mm) e *Eugenia dysenterica* (24,7, 22,4 e 21,8 mm) – Myrtaceae e as maiores em *Licania tomentosa* (112,5, 105,6 e 104,3 mm) e *Couepia rufa* (146,3, 128,5 e 126,3 mm) - Chrysobalanaceae. As sementes mais leves foram as das Myrtaceae *Eugenia dysenterica* (23,4g) e *Myrcia splendens* (26,4g) e as mais pesadas foram as da família Chrysobalanaceae, *L. tomentosa* (343,6g) e *Couepia rufa* (235,3g) (Tabela 2).

Da mesma forma ocorreram diferenças significativas na espessura da polpa dos frutos analisados ($p < 0,05$) (Tabela 2). Os frutos menos espessos foram encontrados em *M. splendens* (2,3) e *Eugenia florida* (3,8), por outro lado os mais espessos pertenceram a família Chrysobalanaceae *C. rufa* (46,7 mm) e *L. tomentosa* (34,6 mm). Frutos espessos (no mínimo 20 mm) são considerados de qualidade, especialmente os destinados à elaboração de produtos

e insumos industriais. As polpas dos frutos menos pesados e com menor rendimento de polpa (% de polpa) ocorreram, respectivamente, nas Myrtaceae *E. dysenterica* (4,2g e 11,3%) e *E. florida* (4,7g e 6,31). Por outro lado, os maiores ocorreram em *L. tomentosa* (312,5g e 34,5%) e *C. rufa* (274,2g e 28,9%) (Tabela 2). De acordo com Lira Junior et al. (2005),

A porcentagem de rendimento da polpa demonstra um grande potencial do fruto para a indústria alimentícia, é também considerado um atributo de qualidade, especialmente para frutos destinados à elaboração de produtos, cujo valor mínimo de rendimento de polpa exigido pelas indústrias processadoras é de 10 % (Lira Júnior et al., 2005). O tamanho e a forma são atributos importantes, pois a variação entre as unidades individuais de um produto pode afetar a escolha desse produto pelo consumidor; as práticas de manuseio; a seleção de mercado e o destino final. O diâmetro longitudinal (ou comprimento) e o transversal representam, em conjunto, o tamanho, e a sua relação da ideia de forma do produto. Sua medição é importante para produtos destinados ao consumo *in natura* e, apenas em alguns casos, é de utilidade nos produtos para processamento, onde são preferidos valores próximos a 1 por facilitar as operações de limpeza e processamento dos frutos (Chitarra; Chitarra, 2005).

Apenas as Chrysobalanaceae apresentaram polpas com alto teor de óleo: *C. rufa* (44,7%) e *L. tomentosa* (42,4%) (Tabela 3). As sementes de *C. rufa* podem ser consideradas economicamente atraentes para a extração de óleo devido ao teor lipídico elevado (34,2%) e suas sementes grandes (Simpson; Ogorzaly, 2001).

Foram identificados oito ácidos graxos dentre as espécies analisadas (Tabela 3). Em Chrysobalanaceae o perfil de ácidos graxos pouco mais que 50% insaturado para as polpas (Tabela 3) e para a semente de *L. tomentosa*, com exceção para polpa desta espécie que obteve 97,2% de insaturação (*C. rufa* - 50,2 polpa e 51,8% semente; *L. tomentosa* - 54,7 polpa e 97,2% semente). *C. rufa* acumulou os ácidos palmítico (35,3%) e oleico (35,6%) na polpa e

os ácidos palmítico (26,5%), esteárico (20,3%) e oleico (37,1%) nas sementes. *L. tomentosa* acumulou os ácidos palmítico (45,3%) e linoleico (38,3%) na polpa e na semente os ácidos oleico (21,3%) e licânico (71,4%). Na literatura, espécies de *Licania* são conhecidas pelo alto teor ácido licânico (acima de 70%) (Castilho e Kaplan, 2008; Teixeira, 2010).

Nas espécies de Myrtaceae o perfil foi predominantemente insaturado (entre 48,1 e 93,3% na polpa e 49,9 e 81,8% semente) (Tabela 3), exceto na semente de *E. pyriformis* (50,1%) e na polpa de *M. splendens* (51,9%). Os ácidos palmítico (até 29,6% em polpa e 42,1% em semente), oleico (até 45,3% em polpa e 45,7% em semente) e linoleico (até 35,2% em polpa e 33,2% em semente) predominaram para todas espécies exceto em *E. florida* que obteve 42,1% do ácido linolênico na polpa. Um perfil insaturado ocorreu também em jabuticaba *Myrciaria cauliflora* (67,5%) e na pitanga *E. uniflora* (58,03%) (Luzia et al., 2010).

A maioria das espécies analisadas no presente estudo apresentou elevada concentração dos ácidos oleico e linoleico. A qualidade e digestibilidade de óleos vegetais comestíveis são determinadas pela quantidade e composição em ácidos graxos insaturados. A presença de ácido linoleico em teores adequados é fundamental, uma vez que se trata de um ácido graxo essencial. Quanto maior a quantidade de ácido linoleico em relação ao oleico, melhor é a qualidade do óleo vegetal em evitar a formação de LDL (Luzia et al., 2010), característica observada para a semente de *E. dysenterica*, e para as polpas de *E. florida* e *E. pyriformis*.

Como pode ser visto na Tabela 3, os lipídios da polpa de *E. florida* (1/1,13), *E. pyriformis* (1/4,75) e *L. tomentosa* (1/14,18) e de semente de *E. dysenterica* (1/1,35) tiveram boas concentrações do ácido linoleico, com destaque para a *L. tomentosa* com 38,3%. Esses valores são bem maiores do que os encontrados para sementes de pitanga (1/0,35) (Luzia et al., 2010) amendoim (1/0,5) (Borges et al., 2007) e jambolão (1/0,32) (Luzia e Jorge, 2009).

Alguns ácidos graxos ocorreram em apenas 1 espécie, é o caso do ácido eicosenóico em *E. florida* (1,4) e do ácido behênico em *E. pyriformis* (2,3).

3.2 Propriedades físico-químicas do óleo

Ocorreram diferenças significativas nas propriedades físico-químicas do lipídio dos frutos e das sementes ($p < 0,05$) (Tabela 4). O índice de acidez variou de 1,23 KOH g⁻¹ na polpa de *E. florida* a 4,23 KOH g⁻¹ na polpa de *C. rufa*. Segundo AOAC (2003) o valor padrão de acidez do óleo deve ser em torno de 5 mg KOH g⁻¹ enquanto que a Comissão Codex Alimentarium (2009) determina como parâmetro de qualidade, para óleos brutos, acidez máxima de 4,0 mg KOH g⁻¹. A maioria das espécies apresentou valores dentro do permitido para óleos brutos, indicando sua boa qualidade. Geralmente, o índice de acidez pode revelar formas incorretas de colheita dos frutos, amadurecimento e armazenamento impróprios, além de processos insatisfatórios de extração. Este resultado é importante para o estabelecimento de práticas de conservação pós-colheita do óleo, com objetivo de preservar sua qualidade.

O índice de refração variou de 1,4226 em sementes de *E. pyriformis* a 1,4743 em polpa de *E. florida*. O índice de refração está relacionado, principalmente, ao grau de saturação e a razão entre duplas ligações *cis/trans* dos ácidos graxos, além de sofrer influência de processos oxidativos.

O índice de iodo variou entre 49,91 g I₂ 100 g⁻¹ em polpas de *C. rufa* e 161,86 g I₂ 100 g⁻¹ na polpa de *E. florida*. Este índice é um teste empírico que indica o grau de insaturação de um óleo. Conforme o valor do índice de iodo, os óleos vegetais podem ser classificados em secativos (índice de iodo maior que 130 g I₂/100 g), semi-secativos (índice de iodo de 115 a 130 g I₂/100 g) e não-secativos (índice de iodo menor que 115 g I₂/100 g). Todos os óleos foram classificados como não-secativos, exceto o lipídio da polpa de *E.*

florida. Os óleos conhecidos como secativos são aqueles tipicamente insaturados, capazes de formar um filme elástico pela absorção de oxigênio do ar, enquanto que, os não secativos apresentam uma quantidade maior de ácidos saturados e não são capazes de formar filme em contato com o ar. Assim, de acordo com os índices de iodo obtidos, os lipídios das sementes de frutos do cerrado são classificados como não-secativos (Van de Mark; Sandefur, 2005).

O índice de saponificação variou entre 135,31 em KOH g⁻¹ na polpa de *M. splendens* a 208,16 KOH g⁻¹ na polpa de *L. tomentosa*. Apenas *M. splendens* e *E. florida* tiveram índices de iodo menores que 181 mg KOH g⁻¹, este parâmetro indica o peso molecular médio dos ácidos graxos esterificados com o glicerol na molécula de triacilglicerol, ou seja, um índice de saponificação elevado indica ácidos graxos de pesos moleculares baixos e vice-versa (190-209 mg KOH/g).

A porcentagem de ácidos graxos livres apresentada pelos lipídios (entre 0,61 em *E. florida* e 2,11% em *C. rufa* nas polpas e entre 0,90 *L. tomentosa* e 2,14% em *E. dysenterica* nas sementes) foi inferior ao limite de 5% adotado para alguns lipídios vegetais brutos, conforme a resolução RDC nº 270 (Brasil, 2005), que estabelece o regulamento técnico para óleos vegetais.

O teor de peróxidos (entre 0,92 em *E. dysenterica* e 6,24 mEq.Kg⁻¹ em *L. tomentosa* nas polpas e 0,36 em *E. florida* e 2,17 mEq.Kg⁻¹ em *E. pyriformis* nas sementes) encontrado nos lipídios das polpas e sementes estudadas apresentaram valores inferiores ao limite de 15 meq kg⁻¹ (Comissão Codex Alimentarium, 2009). A análise do índice de peróxidos é comumente utilizada no controle de qualidade de óleos vegetais por indicar o grau de oxidação lipídica (degradação do óleo).

3.2 Análises do potencial de hidrogênio (pH), sólidos solúveis (SS), acidez titulável (AT), relação sólidos solúveis/acidez titulável (SS/AT) e composição química

A composição química, potencial de hidrogênio, sólidos solúveis, acidez titulável e relação sólidos solúveis/acidez titulável (SS/AT) das espécies estudadas estão na Tabela 5. Essas propriedades são indicadores de características sensoriais, importantes tanto na industrialização quanto no consumo dos frutos *in natura*.

Os valores de pH não ultrapassaram 4,3 o que favorece a indústria de alimentos que utiliza o efeito do pH baixo sobre os microrganismos para a preservação dos alimentos (Nascimento et al., 2011), como o *Clostridium botulinum* e de forma geral, das bactérias patogênicas.

Os sólidos solúveis representam as substâncias que são solúveis na água, como os açúcares simples (mono e dissacarídeos), alguns ácidos orgânicos e vitaminas hidrossolúveis. Os valores encontrados estão em conformidade com o que exige Brasil (1999) (mínimo 9,0° Brix), exceto em *M. splendens* (polpa 6,8 e semente 6,3° Brix) e nas sementes de *C. rufa* (6,2° Brix), *E. pyriformis* (6,7° Brix) e *L. tomentosa* (6,5° Brix). Os açúcares constituem a maior parte dos sólidos solúveis e apresentam-se principalmente sob a forma de glicose, frutose e sacarose. Frutos com altos teores de sólidos solúveis são geralmente preferidos para consumo *in natura* e para industrialização, por oferecerem a vantagem de propiciar maior rendimento no processamento, em razão da maior quantidade de néctar produzido por quantidade de polpa.

O teor de acidez titulável de todas as espécies foi inferior a 1%. A acidez é resultante dos ácidos orgânicos, os quais influenciam na cor, sabor, odor e na qualidade das frutas. Através da determinação da acidez total em relação ao conteúdo de açúcar, pode-se obter o estágio de maturação das frutas (Santos et al., 2010).

Segundo Lima et al. (2002), frutos destinados a fins tecnológicos devem possuir valores de SS/AT superiores a 8. Todas as espécies analisadas tiveram valores superiores a 8, exceto a semente de *E. florida* (4,68) e *L. tomentosa* (7,87) e a polpa de *M. splendens* (7,41). As espécies que apresentaram maior equilíbrio entre açúcares e acidez (SS/TA) foram *E. pyriformis* (42,32) e *L. tomentosa* (38,61). De acordo com Chitarra e Chitarra (2005), essa relação é uma das formas mais utilizadas para avaliação do sabor, sendo mais representativo que a medição isolada de açúcares ou da acidez.

3.3 Composição química

No geral, as espécies apresentaram maior umidade na polpa do que na semente (Tabela 4), principalmente na família Myrtaceae, com umidade acima de 50 g/100 g nas polpas. Os frutos de Myrtaceae são em sua maioria carnosos e suculentos, com umidades elevadas como o Jambo (*Syzygium malaccensis*, (L.) Merryl & Perry 84,57 g/100 g) (Augusta et al., 2010), o jambolão (*Syzygium cumini* Lamarck 87,75 g/100 g) (Lago et al., 2006), a cagaita (*E. dysenterica* DC) (90,08 g/100 g) (Ribeiro, 2011), o cambuci (*Campomanesia phaea* (O.Berg) Landrum LC_ 88,8 g/100 g), a jabuticaba (*Myrciaria cauliflora* Berg 87,85 g/100 g), a uvaia (*Eugenia uvalha* Cambess 85,53 g/100 g), a pitanga (*Eugenia uniflora* L. 90,47 g/100 g) e a goiaba vermelha (*Psidium guajava* L.85,81 g/100 g) (Vallilo et al., 2005).

O teor de cinzas foi maior nas sementes chegando até 19,4 g/100 g em *C. rufa*. As polpas de Myrtaceae acumularam acima de 25% de carboidratos, com o maior percentual em *E. dysenterica* 36,2 g/100 g, valor muito superior ao reportado para *E. brasiliensis* Lam (4,20 g/100 g) (Aguilar et al., 2015) e *E. dysenterica* DC (7,62 g/100 g) (Ribeiro, 2011), e muito inferior ao carboidrato de outras Myrtaceae como o jambo vermelho *Syzygium malaccensis*, (L.) Merryl & Perry (59,25 g/100 g) e a jabuticaba *M. cauliflora* (Mart.) O. Berg, que obteve 90 g/100 g (Lima et al., 2009).

Merece destaque as Chrysobalanaceae *L. tomentosa* e *C. rufa* acumularam lipídios majoritariamente em suas polpas e *C. rufa* que acumulou teores elevados de lipídios nas sementes (acima de 30%) sendo inferiores ao padrão encontrado para outras espécies de Chrysobalanaceae como em *Couepia edulis* Prance (73%) e *Licania rígida* (54%) (Costa-Singh et al., 2012).

O nível de proteína das polpas não ultrapassou 15 g/100 g e as sementes de duas Myrtaceae obtiveram teores acima de 50 g/100 g (*E. dysenterica* e *E. florida*) (Tabela 5). Esses valores foram muito superiores ao reportado por Luzia e Jorge (2010) para a pitanga (*E. uniflora* L.) (8,25 g/100 g).

As espécies com maior índice calórico total foram *C. rufa* e *L. tomentosa* (acima de 450). Esta espécie apresentou um valor calórico elevado em comparação com outras frutas tradicionalmente usadas na região da Caatinga, como *Spondias tuberosa* (37 cal por 100 g) e *Anacardium occidentale* (43 cal por 100 g) (Taco, 2006).

3.3 Compostos bioativos e estabilidade oxidativa

O teor de carotenoides totais, fenóis totais e estabilidade oxidativa do lipídio das espécies estão apresentados na Tabela 6. O teor de carotenoides totais (beta-caroteno) foi elevado nas seguintes polpas das espécies: *C. rufa* (197,5 µg/g) e *M. splendens* (78,3 µg/g). Estas espécies demonstraram teores mais elevados do que a cenoura (12 µg/g) (Crepaldi et al., 2001) e a acerola - *Malpighia puniceifolia* L., (3,47 µg/g) (Aquino et al., 2011).

Os compostos fenólicos totais variaram nas polpas entre 4,2 mg EAG/100 g em *M. splendens* e 23,1 mg EAG/100 g em *L. tomentosa*. Já nas sementes variou entre 1,6 mg EAG/100 g em *Myrcia splendens* e 7,3 mg EAG/100 g em *L. tomentosa*. As polpas de *C. rufa*, *E. dysenterica* e *L. tomentosa* apresentaram compostos fenólicos totais acima de 10 mg EAG/100 g, sendo superior ao de muitas frutas como o abacaxi (3,62 mg EAG/100 g), o

maracujá (3,6 mg EAG/100 g 7), o melão (1,26 mg EAG/100 g), a manga (5,57 mg EAG/100 g) e a goiaba (5,6 mg EAG/100 g) (Prado, 2009).

No teste de estabilidade oxidativa o maior tempo de indução foi observado nas sementes de *Eugenia dysenterica* (10,7 h) e o menor *Eugenia florida* (3,7 h), enquanto nas polpas o maior ocorreu em *C. rufa* (23,7 h) e a menor em *Myrcia splendens* (3,7 h). Todas as espécies apresentaram tempos de indução acima de 3 h (Tabela 6) e sete delas acima de 8 h, o que é superior aos óleos comestíveis, tais como canola, milho, amendoim, soja e girassol (Tan et al., 2002; Prado, 2009).

3.4 Perfil de minerais e aminoácidos

Os dados referentes ao perfil de minerais e aminoácidos estão apresentados nas Tabelas 7 e 8, respectivamente. Foram analisadas as concentrações de oito minerais (Ca, Fe, K, Na, Mg, P, Se, e Zn). O cálcio, o potássio e o magnésio foram os minerais mais abundantes.

Merecem destaque por acumularem quantidades elevadas de cálcio nas suas polpas: *L. tomentosa* (177,42 mg/100g) e *M. splendens* (198,23 mg/100g), sendo importante a realização de estudos sobre o aproveitamento desses frutos. Esses valores são superiores ao cálcio encontrado nas polpas da cagaita - *E. dysenterica* DC (0,65 mg/100g) (Ribeiro, 2011), cambuci - *Campomanesia phaea* (61,3 mg/100g) (Vallilo et al., 2005).

L. tomentosa teve a polpa rica em potássio (293,21 mg/100g). O potássio é o principal mineral de outras frutas como a cagaita - *E. dysenterica* (75,83 mg/100g) (Ribeiro, 2011), o açaí - *Euterpe edulis* Martius (94,8 mg/100g) (Ribeiro et al., 2011), o cambuci - *Campomanesia phae* (623 mg/100g) (Vallilo et al., 2005) e a pitanga – *Eugenia uniflora* (1030 mg/100g) (Philippi, 2001). O sódio foi predominante nas sementes de *L. tomentosa* (345,23 mg/100g) e na polpa de *M. splendens* (294,54 mg/100g).

As polpas que acumularam bastante magnésio foram: *C. rufa* (231,5 mg/100g) e *M. splendens* (345,18 mg/100g). São valores elevados quando comparamos aos resultados de Dembitsky et al. (2011) analisando frutos da acerola (*Malpighia puniceifolia* Linn) com magnésio (22 mg/100g) e Leterme et al. (2006) ao analisarem frutos de araçá-boi (*E. stipitata* Mc Vaugh) com 9 mg/100g de magnésio.

Os dados sobre a composição de aminoácidos de polpas de frutos e sementes são apresentados na Tabela 8. Os principais aminoácidos essenciais no geral foram leucina, lisina, treonina e triptofano. Os não essenciais não foram expressivos em concentração para nenhuma espécie. Não foram encontrados na literatura a caracterização do Perfil de aminoácidos de espécies pertencentes as famílias Chrysobalanaceae ou Myrtaceae para comparação.

6. Conclusão

As análises biométricas revelaram que os maiores frutos e sementes foram de *Couepia rufa* e *L. tomentosa*, sendo também os mais pesados e espessos com maiores rendimentos de polpa o que é preferível pela indústria de alimentos. Como o esperado, as espécies de Chrysobalanaceae tiveram elevados teores de lipídio nas polpas e sementes. Foram identificados oito ácidos graxos dentre as espécies analisadas. Em Chrysobalanaceae o perfil de ácidos graxos pouco mais que 50% insaturado para as polpas e para a semente de *L. tomentosa*, com exceção para polpa desta espécie que obteve 97,2% de instauração com predomínio dos ácidos palmítico e oleico na polpa e os ácidos palmítico, esteárico e oleico nas sementes.

Nas espécies de Myrtaceae o perfil foi predominantemente insaturado, exceto na semente de *E. pyriformis* e na polpa de *M. splendens*. Os ácidos palmítico, oleico e linoleico predominaram para todas espécies exceto em *E. florida* que obteve 42,1% do ácido linolênico na polpa. O índice de acidez, porcentagem de ácidos graxos livres e índice de peróxidos

estiveram abaixo do limite estabelecido para lipídios brutos e o potencial de hidrogênio, sólidos solúveis, acidez titulável e relação sólidos solúveis/acidez titulável (SS/AT) das espécies estudadas revelaram boas características tanto na industrialização quanto no consumo dos frutos *in natura* desses frutos.

A composição química revelou que as Chrysobalanaceae são boas fontes de lipídios com elevado índice calórico, por outro lado, as Myrtaceae foram pouco nutritivas. O teor de carotenoides totais (beta-caroteno) foi elevado nas polpas das espécies *C. rufa* e *M. splendens*. As polpas de *C. rufa*, *E. dysenterica* e *L. tomentosa* apresentaram compostos fenólicos totais acima de 10 mg EAG/100 g, sendo superior ao de muitas frutas tradicionalmente usadas no Brasil. Todas as espécies apresentaram tempos de indução acima de 3 h e sete delas acima de 8 h.

Merecem destaque por acumularem quantidades elevadas de cálcio nas suas polpas *L. tomentosa* e *M. splendens*. *L. tomentosa* teve a polpa rica em potássio. O sódio foi predominante nas sementes de *L. tomentosa* e na polpa de *M. splendens*. As polpas que acumularam bastante magnésio foram: *C. rufa* e *M. splendens*. Os principais aminoácidos essenciais no geral foram leucina, lisina, treonina e triptofano. Os dados mostram que os frutos e sementes analisados são fontes de lipídios com possível aplicação não só para consumo alimentar, mas também como uma importante fonte de bioativos a ser empregadas nas indústrias.

7. Referências

- Adawy, T.A. & Taha K.M. (2001). Characteristics and composition of different seed oils and flours. *Food Chem.* 74(1), 47-54.
- Aguiar, J.P.L., Marinho, H.A., Rebêlo, Y.S. & Shrimpton, R. (1980). Aspectos nutritivos de alguns frutos da Amazônia. *Acta Amazonica* .10, 755-758.

- Aguiar, T.M., Sabaa-srur, A.U.O. & Barbosa, N. (2015) Determinação física e química da polpa de grumixama (*Eugenia brasiliensis*, Lam). *Journal of Fruits and Vegetables*. 1(1), 67-70.
- Almeida, S.P. & Agostini-Costa, T. S. (1998). Frutas Nativas do cerrado: caracterização físico-química e fonte potencial de nutrientes. In: *Cerrado: ambiente e flora*. Brasília: Embrapa Cerrados, Segunda edição revisada e ampliada (no prelo).
- Andrade Jr., M.C. & Andrade, J.S. (2014). Amazonian Fruits: An Overview of Nutrients, Calories and Use in Metabolic Disorders. *Food and Nutrition Sciences*, 5, 1692-1703.
- Aquino, A.C.M.S., Mões, R.S. & Castro, A.A. (2011). Estabilidade de ácido ascórbico, carotenoides e antocianinas de frutos de acerola congelados por métodos criogênicos. *Braz. J. Food Technol.* 14 (2), 154-163.
- Araújo, E.L., Castro, C.C. & Albuquerque, U.P. (2007). Dynamics of Brazilian Caatinga - A Review Concerning the Plants, Environment and People. *Functional Ecosystems and Communities*, 1, 15-28.
- Association of Official Analytical Chemists (AOAC). (1990). *Official methods of analysis* (15th ed.). Arlington: AOAC.
- Augusta, I.M., Resende, J.M., Borges, S.V., Maia, M.C.A. & Couto, M.A..P.G. (2010). Caracterização física e química da casca e polpa de jambo vermelho (*Syzygium malaccensis*, (L.) Merryl & Perry). *Ciênc. Tecnol. Aliment.* 30 (4), 928-932.
- Balick, M.J. (1979). Amazonian oil palms of promise: a survey. *Economic Botany*. 33, 1-28.
- Beckerman, S. (1977). The use of palms by the barí indians of the Maracaibo basin. *Principes*. 21, 143-154.
- Borges, S.V., Maia, M.C.A., Gomes, R.C.M. & Cavalcanti, N.B. (2007). Chemical composition of umbu (*Spondias Tuberosa* Arr. Cam) seeds. *Química Nova*. 30 (1), 49-52.
- Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC n. 270, de 22 de setembro de (2005). *Aprova o regulamento técnico para óleos vegetais, gorduras vegetais e creme vegetal*. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil. Brasília, DF.
- Castilho, R.O. & Kaplan, M.A.C. (2008). Constituintes químicos de *Licania tomentosa* Benth. (Chrysobalanaceae). *Química Nova*. 31, 66-69.

- Codex Alimentarius Commission. (2009). *Codex-Stan 210: codex standard for named vegetable oils*. Roma: FAO/WHO Food Standards.
- Costa-Singh, T., Bitencourt, T.B. & Jorge, N. (2012) Caracterização e compostos bioativos do óleo da castanha-de-cutia (*Couepia edulis*). *Rev Inst Adolfo Lutz*. 71 (1), 61-8.
- Coutinho D.J.G., Barbosa M.O., Souza, R.J.C., Silva A.S., Silva S.I. & Oliveira A.F.M. (2016). Biodiesel potential of the seed oils from some Brazilian native Euphorbiaceae species. *Renew Energy*. 91, 275–281.
- Fernandes, D.C., Freitas, J.B., Czeder, L.P. & Naves, M.M.V. (2010). Nutritional Composition and Protein Value of the Baru (*Dipteryx alata* Vog.) Almond from the Brazilian Savanna. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 90 (10), 1650-1655.
- Freitas J.B. & Naves, M.M.V. (2010). Composição Química de Nozes e Sementes Comestíveis e sua Relação com a Nutrição e Saúde. *Revista de Nutrição*. 23 (2), 269-279.
- Hagen, S.R., Frost, B. & AUGUSTIN, J. (1989). Pre-column Phenylisothiocyanate derivatization and Liquid-Chromatography of Aminoacids in Food. *J. Assoc. Off. Ana. Chem.* 72 (6), 912-916.
- Lima, A.J.B. (2009). Caracterização e atividade antioxidante da jabuticaba, *Myrciaria cauliflora* (Mart.) O. Berg. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Lavras.
- Lira Júnior, J.S., Musser, R.S., Melo, E.A., Maciel, M.I.S., Lederman, I. E. & Santos, V.F. (2005). Caracterização física e físicoquímica de frutos de cajá-umbu (*Spondias* spp.). *Ciência e Tecnologia de Alimentos*. 25.(4), 757-761.
- Teixeira, L.L. *Análises bromatológicas e fitoquímicas de frutos de Licania tomentosa* (Benth) fritch. (2010).. Dissertação (mestrado) - Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Centro de Ciências Exatas e da Terra. Programa de Pós-Graduação em Química, p.92.
- Luzia, D.M.M. & Jorge N. (2009). Composição centesimal, potencial antioxidante e perfil dos ácidos graxos se sementes de jambolão (*Syzygium cumini* L.). *Revista Ciência Agrônômica* 40, 219-223.
- Luzia, D.M.M., Bertanha, B.J. & Jorge, N. (2010) Sementes de pitanga (*Eugenia uniflora* L.): potencial antioxidante e perfil de ácidos graxos. *Rev Inst Adolfo Lutz*. 69 (2),175-80.

- Melo, M.L.P., Maia, G.A., Silva, A.P.V., Oliveira, G.S.F. & Figueiredo, R. W. (1998). Caracterização Físico-química da amêndoa de castanha de caju (*Anacardium occidentale* L.) crua e tostada. *Ciência e Tec. Alimentos*. 18, 184.
- Nascimento, V.T., Moura, N.P., Vasconcelos, M.A.S., Maciel, M.I.S. & Albuquerque, U.P. (2011). Chemical characterization of native wild plants of dry seasonal forests of the semi-arid region of northeastern Brazil. *Food Research International*. 44, 2112–2119.
- Nollet, L.M.L., Toldrá, F., Benjakul, S., Paliyath, G. & Hui, Y.H. (2012). Eds., *Food Biochemistry and Food Processing*, 2nd Edition, John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, 531-553.
- Paliyath, G., Tiwari, K., Sitbon, C. & Whitaker, B.D. (2012) *Biochemistry of Fruits*. In: Simpson, B.K.
- Philippi, S.T. *Tabela de Composição de Alimentos: suporte para decisão nutricional*. (2001). Brasília: ANVISA, FINATEC/NUT-UnB, p.133.
- Prado, A. (2009). *Composição fenólica e atividade antioxidante de frutas tropicais*. Dissertação de Mestrado. ESALQ/USP, p.106.
- Rapini, A., Queiroz, L.P. & Giuliatti, A. M. (2006). *PPBIO: The Program of Research on Biodiversity in the Brazilian Semi-arid*. Pp. 27-32. In: Queiroz, L. P., A. Rapini & A. M. Giuliatti (Eds.). *Towards greater knowledge of the Brazilian semi-arid biodiversity*. Brasília, Ministério do Meio Ambiente.
- Ribeiro, E.M.G. (2011). Atividade antioxidante e polifenóis totais do fruto de cagaita (*Eugenia dysenterica* DC) com e sem casca. Rio de Janeiro, UFRJ, *Faculdade de Farmácia*, p.77.
- Rodriguez-Amaya, D.B., Kimura, M., & Amaya-Farfan, J. (2008). *Fontes Brasileiras de carotenóides/tabela Brasileira de composição de carotenóides em alimentos*. Brasília, DF: Ministério do Meio Ambiente.
- Simpson, B.B. & Ogorzaly, M.C. (2001). *Economic botany: plants in our world*. 3rd ed. New York: McGraw-Hill.
- Tan, C.P., Man, Y.B.C., Selamat, J. & Yusoff, M.S.A. (2002). Comparative studies of oxidative stability of edible oils by differential scanning calorimetry and oxidative stability index methods. *Food Chemistry*. 76, 385-389.

- Tang C.S., Okazaki, E.N. & Ishizaki, S. M. (1978). Composition of papaya seeds. *J. Food Sci.* 43, 255.
- Van DE Mark, M. R.; Sandefur, K. Vegetable oils in paint and coatings. In: ERHAN, S. Z. (Ed.). Industrial uses of vegetable oils. Champaign: AOCS Press, 2005. p. 143-162.
- White, J.A., Hart, R.J. & Fry, J.C. (1986). An evaluation of the waters Pico-Tag System for the aminoacids analysis of food materials. *J. Automatic Chem.* 8 (4), 170-177.

Tabela 1. Características das espécies alimentícias não convencionais de Florestas Tropicais de Pernambuco.

Família/Espécie	Nome Popular	Local de Coleta	Ecossistema	Coordenadas Geográficas	Hábito
CHRYSOBALANACEAE					
<i>Couepia rufa</i> Ducke	Oiti-Coró	Dois Irmãos, Recife – Pernambuco	Floresta Atlântica	8° 0'38.18"S 34°56'43.98"O	Árvore
<i>Licania tomentosa</i> Kuntze	Oitizeiro e oiti-da-praia	São Lourenço – Pernambuco	Floresta Atlântica	8° 2'18.45"S 35° 9'31.03"O	Árvore
MYRTACEAE					
<i>Eugenia dysenterica</i> DC	Cagaita	Dois Irmãos, Recife – Pernambuco	Caatinga	35° 9'31.03"O 34°57'2.15"O	Árvore
<i>Eugenia florida</i> DC.	Batinga	Dois Irmãos, Recife – Pernambuco	Floresta Atlântica	8° 0'52.41"S 34°57'1.87"O	Árvore
<i>Eugenia pyriformis</i> Cambess.	Uvaia	São Caetano - Pernambuco	Floresta Atlântica	8°16'57.38"S 36° 7'49.56"O	Árvore
<i>Myrcia splendens</i> DC.	Guamirim	Itamaracá – Pernambuco	Floresta Atlântica	7°45'30.29"S 34°49'40.93"O	Árvore

Tabela 2. Características biométricas das polpas e das sementes de espécies alimentícias não convencionais de Florestas Tropicais de Pernambuco.

Família/Espécie	Dimensões das sementes (mm) ^a			Peso da Semente (g) ^B	Dimensões da polpa		
	Comprimento	Largura	Espessura		Espessura da polpa (mm)	Peso da Polpa (g) ^B	Rendimento (%)
CHRYSOBALANACEAE							
<i>Couepia rufa</i>	146,3 ^a ± 2,2	128,5 ^a ± 1,9	126,3 ^a ± 0,7	235,3 ± 0,6	46,7 ^a ± 1,6	274,2 ± 1,2	28,9
<i>Licania tomentosa</i>	112,5 ^b ± 0,8	105,6 ^b ± 0,7	104,3 ^b ± 1,6	343,6 ± 1,6	34,6 ^b ± 0,4	312,5 ± 0,9	34,5
MYRTACEAE							
<i>Eugenia dysenterica</i>	24,7 ^g ± 0,9	22,4 ^{gh} ± 0,6	21,8 ^{fg} ± 1,3	23,4 ± 0,7	7,3 ^f ± 0,9	4,2 ± 1,5	11,3
<i>Eugenia florida</i>	22,5 ^{hi} ± 0,5	20,1 ^{hi} ± 1,5	19,8 ^{hi} ± 1,1	35,1 ± 1,6	3,8 ^h ± 1,8	4,7 ± 0,4	6,31
<i>Eugenia pyriformis</i>	34,2 ^e ± 1,2	32,7 ^e ± 0,5	31,6 ^e ± 0,8	44,7 ± 1,9	5,7 ^g ± 0,6	7,1 ± 0,7	5,32
<i>Myrcia splendens</i>	26,4 ^{fg} ± 2,3	23,4 ^{fg} ± 0,8	21,2 ^{gh} ± 0,6	26,4 ± 2,3	2,3 ⁱ ± 1,5	9,3 ± 0,3	8,96

^aOs resultados representam a média ± desvio padrão das análises realizadas em 50 frutos e sementes. ^b Peso médio de 50 unidades. Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Tabela 3. Ácidos graxos de frutos e sementes de espécies alimentícias de Florestas Tropicais de Pernambuco.

Espécie	Parte usada	Teor de óleo %	C14:0	C16:0	C16:1	C18:0	C18:1	C18:2	C18:3*	C20:0	Relação O/L *	Σ Sat	Σ Mono	Σ Poli	Σ Insat	Outros
<i>C. ruf</i>	Polpa	44,7 ± 1,3 ^b	-	35,3	3,4	14,2	35,6	11,2	-	-	1/0,31	49,5	39	11,2	50,2	0,3
<i>C. ruf</i>	Semente	34,2 ± 1,1 ^d	1,4	26,5	1,6	20,3	37,1	10,8	2,3	-	1/0,29	48,2	38,7	13,1	51,8	-
<i>E. dys</i>	Polpa	2,4 ± 0,6 ^l	-	22,1	2,5	3,1	45,3	22,1	-	1,8	1/0,48	27	47,8	22,1	69,9	3,6
<i>E. dys</i>	Semente	1,6 ± 1,3 ^{mn}	3,5	17,5	1,6	8,5	24,5	33,2	10,2	-	1/1,35	29,5	26,1	43,4	69,5	1
<i>E. flo</i>	Polpa	0,6 ± 0,9	-	4,3	5,3	1,3	21,4	24,5	42,1	-	1/1,13	5,6	26,7	66,6	93,3	-
<i>E. flo</i>	Semente	0,8 ± 0,6 ^{op}	-	16,3	-	1,6	45,6	23,4	11,4	-	1/0,52	17,9	46,7	35,1	81,8	0,3
<i>E. pyr</i>	Polpa	0,4 ± 1,5 ^q	-	1,3	34,2	3,4	7,4	35,2	14,2	2,7	1/4,75	7,1	41,6	49,4	91	1,6
<i>E. pyr</i>	Semente	0,6 ± 1,1 ^{pq}	-	42,1	1,5	4,5	32,1	16,3	-	1,2	1/0,50	50,1	33,6	16,3	49,9	-
<i>L. tom</i>	Polpa	42,4 ± 1,2 ^c	-	45,3	4,6	-	2,7	38,3	9,1	-	1/14,1	45,3	7,3	47,4	54,7	-
<i>L. tom</i>	Semente	13,1 ± 0,9 ⁱ	-	2,8	-	-	21,3	4,5	71,4*	-	1/0,21	2,8	21,3	75,9	97,2	-
<i>M. spl</i>	Polpa	1,1 ± 1,8 ^{no}	-	29,6	-	22,3	35,1	13	-	-	1/0,37	51,9	35,1	13	48,1	-
<i>M. spl</i>	Semente	0,9 ± 0,4 ^o	2,1	36,1	1,6	4,2	43,5	12,5	-	-	1/0,28	42,4	45,1	12,5	57,6	-

B. ach = *B. acanthocarpa*; *C. ruf* = *C. rufa*; *D. pol* = *D. polyacanthos*; *E. dys* = *E. dysenterica*; *E. flo* = *E. florida*; *E. pyr* = *E. pyriformis*; *L. tom* = *L. tomentosa*; *M. spl* = *M. splendens*; *S. cea* = *S. cearensis*; *S. rom* = *S. romanzoffiana*; Os dados são médias (± DP) de três réplicas (n=3). - = não detectado; C12:0 = Ácido láurico; C14:0 = Ácido mirístico; C16:0 = Ácido palmítico; C16:1 = Ácido palmitoléico; C18:0 = Ácido esteárico; C18:1 = Ácido oleico; C18:2 = Ácido linoleico; C18:3 = Ácido linolênico; C18:3* = ácido licânico; C20:0 = Ácido araquídico; Outros = Ácidos graxos não identificados. *Relação entre o total de ácidos oléico e linoleico; Σ Sat = total de ácidos graxos saturados; Σ Mono = total de ácidos graxos monoinsaturados; Σ Poli = Total de ácidos graxos poliinsaturados; Σ Insat = total de ácidos graxos insaturados.

Tabela 4. Teor de óleo e propriedades físico-químicas do óleo de polpas e sementes de espécies alimentícias de Florestas Tropicais de Pernambuco.

Espécie	Parte analisada	Propriedades físico-químicas					
		Índice de Acidez (mg KOH g ⁻¹)	Índice de Refração (40 °C)	Índice de Iodo (g I.100 g ⁻¹)	Índice de Saponificação (mg KOH.g ⁻¹)	Ácidos graxos livres (%)	Índice de peróxido (mEq.Kg ⁻¹)
<i>C. rufa</i>	Polpa	4,23 ± 0,2 ^{ab}	1,4674 ± 0.0001 ^f	49,91 ± 0,2 ^l	204,94 ± 0,2 ^{ef}	2,11 ± 0,4 ^b	2,64 ± 0,6 ^{ef}
	Semente	3,17 ± 0,7 ^d	1,4324 ± 0.0001 ^{cd}	52,12 ± 0,5 ^{jk}	204,11 ± 0,9 ^f	1,58 ± 0,1 ^e	1,21 ± 0,3 ⁱ
<i>E. dysenterica</i>	Polpa	3,74 ± 0,5 ^b	1,4735 ± 0.0001 ^{ab}	71,92 ± 0,5 ^{gh}	196,91 ± 0,9 ^h	1,87 ± 0,7 ^c	0,92 ± 1,1 ^j
	Semente	4,28 ± 0,1 ^{ab}	1,4467 ± 0.0001 ^{cd}	72,27 ± 0,8 ^h	202,14 ± 0,6 ^g	2,14 ± 0,8 ^{ab}	1,64 ± 2,8 ^{gh}
<i>E. florida</i>	Polpa	1,23 ± 0,02 ⁱ	1,4743 ± 0.0001 ^e	161,86 ± 0,2 ^a	175,62 ± 0,5 ^j	0,61 ± 0,2 ^l	1,77 ± 1,6 ^{gh}
	Semente	2,67 ± 0,5 ^f	1,4339 ± 0.0001 ^{gh}	101,11 ± 0,3 ^c	200,98 ± 0,7 ^g	1,33 ± 0,4 ^h	0,36 ± 0,21 ^k
<i>E. pyriformis</i>	Polpa	2,33 ± 0,05 ^g	1,4342 ± 0.0001 ^{gh}	98,19 ± 0,6 ^d	203,84 ± 0,4 ^f	1,16 ± 0,1 ⁱ	5,25 ± 0,44 ^c
	Semente	3,42 ± 0,02 ^c	1,4226 ± 0.0001 ^h	54,49 ± 0,3 ^j	205,27 ± 0,2 ^{ef}	1,71 ± 0,2 ^{cd}	2,17 ± 0,84 ^f
<i>L. tomentosa</i>	Polpa	1,74 ± 0,1 ^{hi}	1,4632 ± 0.0001 ^{bc}	89,71 ± 0,4 ^e	208,16 ± 0,5 ^e	0,87 ± 0,7	6,24 ± 1,9 ^b
	Semente	1,81 ± 0,5 ^h	1,4422 ± 0.0001 ^{cd}	81,19 ± 0,8 ^f	197,96 ± 0,3 ^h	0,90 ± 0,4 ^k	1,53 ± 1,4 ^h
<i>M. splendens</i>	Polpa	2,82 ± 0,2 ^{ef}	1,4346 ± 0.0001 ^{cd}	104,91 ± 0,5 ^c	135,31 ± 0,6 ^k	1,41 ± 0,2 ^g	2,73 ± 1,3 ^{ef}
	Semente	4,53 ± 0,8 ^a	1,4633 ± 0.0001 ^{bc}	54,95 ± 0,3 ^j	206,14 ± 0,4 ^{ef}	2,06 ± 0,3 ^{bc}	1,45 ± 0,5 ^{hi}

Os dados são médias (± DP) de três réplicas (n=3). Letras diferentes na mesma coluna indicam diferenças significativas segundo teste de Tukey ($p < 0.05$).

Tabela 5. Potencial de hidrogênio (pH), sólidos solúveis (SS), acidez titulável (AT), relação sólidos solúveis/acidez titulável (SS/AT), composição química (g/100 g) e índice calórico total (ICT - cal/100 g) de espécies alimentícias não convencionais.

Espécie	Parte analisada	Composição química									
		pH	SS	AT	SS/AT	Umidade	Cinzas	Carboidratos	Lipídios	Proteínas	ICT
<i>C. rufa</i>	Polpa	3,5 ± 0,8 ^{de}	11,5 ± 0,3 ^c	0,41 ± 0,07 ^{fg}	28,64 ± 0,3 ^{cd}	14,5 ± 0,4 ^{gh}	19,4 ± 0,5 ^b	25,3 ± 0,2 ^{cd}	28,5 ± 0,3 ^d	12,3 ± 0,2	326,3 ± 0,2 ^g
	Semente	3,4 ± 0,4 ^{de}	6,2 ± 0,1 ^f	0,64 ± 0,09 ^d	9,12 ± 0,4 ^g	9,2 ± 0,2 ^{hi}	13,7 ± 0,2 ^{cd}	14,3 ± 0,4 ^{de}	45,3 ± 0,6 ^a	17,5 ± 0,5 ^{de}	454,4 ± 0,6 ^c
<i>E. dysenterica</i>	Polpa	3,5 ± 0,3 ^{de}	16,5 ± 0,3 ^c	0,34 ± 0,02 ^g	19,71 ± 0,4 ^d	54,6 ± 0,3 ^b	4,5 ± 0,4 ^e	36,2 ± 0,3 ^{de}	1,5 ± 0,2 ⁱ	3,2 ± 0,4 ^c	51,8 ± 0,4 ^m
	Semente	3,2 ± 0,6 ^{ef}	14,8 ± 0,5 ^d	0,43 ± 0,03 ^f	11,26 ± 0,6 ^f	13,5 ± 0,2 ^{gh}	11,3 ± 0,2 ^{cd}	21,5 ± 0,4 ^d	2,4 ± 0,3 ^{hi}	51,3 ± 0,6 ^b	312,1 ± 0,5 ^h
<i>E. florida</i>	Polpa	3,1 ± 0,1 ^{ef}	17,6 ± 0,2 ^c	0,37 ± 0,05 ^g	20,44 ± 0,5 ^d	59,6 ± 0,5 ^a	0,3 ± 0,1 ^h	24,5 ± 0,6 ^{cd}	1,3 ± 0,2 ⁱ	14,3 ± 0,2 ^e	46,1 ± 0,1 ^m
	Semente	1,7 ± 0,2 ^g	13,3 ± 0,1 ^{de}	0,71 ± 0,04 ^{cd}	4,68 ± 0,3 ⁱ	8,9 ± 0,4 ⁱ	6,4 ± 0,9 ^d	26,7 ± 0,2 ^{cd}	2,4 ± 0,6 ^{hi}	55,6 ± 0,9 ^a	350,5 ± 0,1 ^f
<i>E. pyriformis</i>	Polpa	4,2 ± 0,1 ^c	14,1 ± 0,5 ^d	0,33 ± 0,03 ^g	42,32 ± 0,2 ^a	53,2 ± 0,1 ^b	0,4 ± 0,9 ^h	30,9 ± 0,3 ^{bc}	1,8 ± 0,5 ⁱ	14,6 ± 0,1 ^e	38,3 ± 0,3 ⁿ
	Semente	3,7 ± 0,3 ^{de}	6,7 ± 0,4 ^f	0,48 ± 0,02 ^f	13,35 ± 0,8 ^f	48,7 ± 0,6 ^c	6,2 ± 0,1 ^d	10,3 ± 0,8 ^e	0,5 ± 0,3 ^j	34,3 ± 0,7 ^b	182,6 ± 0,4 ⁱ
<i>L. tomentosa</i>	Polpa	4,1 ± 0,6 ^{bc}	21,4 ± 0,1 ^b	0,56 ± 0,04 ^e	38,61 ± 0,6 ^b	23,4 ± 0,3 ^e	14,5 ± 0,2 ^{cd}	15,3 ± 0,2 ^{de}	38,4 ± 0,6 ^c	8,4 ± 0,1 ^{gh}	400,8 ± 0,2 ^d
	Semente	3,2 ± 0,4 ^{ef}	6,5 ± 0,2 ^f	0,83 ± 0,06 ^b	7,87 ± 0,8 ^h	17,6 ± 0,3 ^f	16,3 ± 0,1 ^c	14,3 ± 0,8 ^{de}	41,2 ± 0,2 ^b	10,6 ± 0,8 ^f	610,3 ± 0,8 ^b
<i>M. splendens</i>	Polpa	4,3 ± 0,6 ^c	6,8 ± 0,4 ^f	0,91 ± 0,07 ^a	7,41 ± 0,2 ^h	49,3 ± 0,2 ^c	13,4 ± 0,4 ^e	29 ± 0,1 ^c	0,7 ± 0,2 ^j	7,6 ± 0,5 ^{de}	72,9 ± 0,2 ^l
	Semente	3,1 ± 0,7 ^{ef}	6,3 ± 0,4 ^f	0,33 ± 0,01 ^g	19,01 ± 0,3 ^d	56,9 ± 0,3 ^{ab}	12,3 ± 0,9 ^{cd}	25,6 ± 0,8 ^f	2,3 ± 0,6 ^{hi}	2,9 ± 0,1 ^c	134,1 ± 0,4 ^{jk}

Os dados são médias (± DP) de três réplicas (n=3). Letras diferentes na mesma coluna para a mesma parte analisada indicam diferenças significativas segundo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Tabela 6. Teor de carotenoides totais, fenóis totais e estabilidade oxidativa do óleo das espécies alimentícias não convencionais de Florestas Tropicais de Pernambuco.

Espécies		Carotenoides ($\mu\text{g/g}^*$)	Fenóis totais (mg EAG/100 g)	Estabilidade oxidativa (Tempo de indução - h)
<i>Couepia rufa</i>	Polpa	197,5 \pm 0,6 ^b	15,1 \pm 1,3 ^b	23,7 \pm 0,7 ^c
	Semente	43,7 \pm 0,2 ^h	6,4 \pm 2,5 ^{ef}	9,2 \pm 0,4 ^{ef}
<i>Eugenia dysenterica</i>	Polpa	46,2 \pm 0,5 ^{gh}	10,8 \pm 0,9 ^d	17,3 \pm 0,8 ^d
	Semente	2,6 \pm 0,2 ^l	2,1 \pm 1,9 ^h	10,7 \pm 1,8 ^{ef}
<i>Eugenia florida</i>	Polpa	32,4 \pm 1,7 ⁱ	9,3 \pm 1,8 ^d	9,5 \pm 0,4 ^{ef}
	Semente	3,2 \pm 0,7 ^{kl}	2,6 \pm 0,4 ^h	3,7 \pm 0,3 ^g
<i>Eugenia pyriformis</i>	Polpa	21,5 \pm 1,3 ^j	4,3 \pm 0,8 ^g	8,3 \pm 0,8 ^{ef}
	Semente	1,7 \pm 0,5 ^{mn}	2,3 \pm 0,5 ^h	4,6 \pm 0,5 ^g
<i>Licania tomentosa</i>	Polpa	58,4 \pm 0,2 ^f	23,1 \pm 0,7 ^a	16,3 \pm 0,9 ^d
	Semente	2,4 \pm 0,4 ^l	7,3 \pm 1,8 ^{ef}	6,3 \pm 1,3 ^f
<i>Myrcia splendens</i>	Polpa	78,3 \pm 0,2 ^e	4,2 \pm 0,9 ^g	3,7 \pm 0,3 ^g
	Semente	1,5 \pm 0,6 ^{mn}	1,6 \pm 1,3 ^h	4,2 \pm 0,8 ^g

* Os valores representam os carotenoides totais, com base em β -caroteno, a partir de 5 g de frutos e sementes secos. Os dados são médias (\pm DP) de três réplicas ($n=3$). Letras diferentes na mesma coluna indicam diferenças significativas segundo ANOVA um fator e teste de Tukey ($p < 0,05$). EAG=Equivalente ácido gálico (mg EAG/100 g).

Tabela 7. Composição de minerais* (mg/100 g) de frutos e sementes de espécies alimentícias de Florestas Tropicais de Pernambuco.

		Ca	Fe	K	Na	Mg	P	Se**	Zn
<i>C. ruf</i>	Polpa	12,31	15,38	2,66	32,13	231,5	77,24	-	5,42
<i>C. ruf</i>	Semente	9,32	3,47	43,12	11,74	92,33	46,42	-	1,28
<i>E. dys</i>	Polpa	1,3	3,60	32,52	3,22	42,1	1,63	-	3,46
<i>E. dys</i>	Semente	2,31	9,34	3,42	12,36	53,33	2,54	-	5,66
<i>E. flo</i>	Polpa	1,43	2,54	22,61	9,28	86,43	24,51	-	6,43
<i>E. flo</i>	Semente	0,43	1,29	0,23	32,67	12,86	32,56	-	9,31
<i>E. pyr</i>	Polpa	87,5	14,28	28,32	18,6	9,3	2,31	-	2,48
<i>E. pyr</i>	Semente	1,75	7,31	3,59	2,51	76,42	8,75	-	1,55
<i>L. tom</i>	Polpa	177,42	21,41	293,21	138,5	12,32	94,31	-	12,64
<i>L. tom</i>	Semente	12,53	3,42	29,34	345,23	11,24	87,45	0,32	1,23
<i>M. spl</i>	Polpa	198,23	121,55	16,74	294,54	345,18	91,23	-	2,34
<i>M. spl</i>	Semente	4,51	1,76	44,23	4,12	52,3	43,57	-	2,43

* Os dados são a média \pm desvio padrão de duplicatas; ** ($\mu\text{g}/100\text{ g}$)

Tabela 8. Perfil de aminoácidos (g/100 de proteína) de frutos e sementes de espécies alimentícias de Florestas Tropicais de Pernambuco.

		Aminoácidos essenciais ^a								Aminoácidos não-essenciais ^b							
		Ile	Leu	Lis	Met+Cis	Fe+Tir	Treo	Trp	Val	Asp	Glu	His	Ala	Arg	Gli	Pro	Ser
<i>C. ruf</i>	Polpa	0,34	22,21	2,58	0,33	0,74	9,37	4,41	0,03	0,66	0,03	0,37	1,28	5,65	0,58	0,12	0,61
<i>C. ruf</i>	Semente	0,27	10,44	1,04	4,02	5,38	11,80	0,34	0,18	1,82	0,61	5,89	0,62	2,78	0,71	1,68	0,14
<i>E. dys</i>	Polpa	1,35	16,76	10,68	0,14	0,47	10,03	0,50	1,13	0,77	0,53	1,53	0,09	0,92	0,67	0,22	1,35
<i>E. dys</i>	Semente	2,56	32,29	0,66	0,41	6,80	8,56	0,37	31,74	1,37	1,80	6,62	0,02	0,72	1,80	0,53	0,64
<i>E. flo</i>	Polpa	2,95	15,17	4,57	2,4	21,31	7,93	0,68	2,58	5,29	0,64	1,35	0,76	0,17	1,39	1,19	0,66
<i>E. flo</i>	Semente	0,28	9,53	20,09	1,65	1,03	18,09	22,28	6,67	0,98	4,62	1,03	0,12	4,41	2,40	0,21	1,03
<i>E. pyr</i>	Polpa	0,35	11,41	3,62	0,78	1,35	22,40	0,52	0,74	0,17	0,98	0,69	3,92	7,52	0,32	0,17	0,77
<i>E. pyr</i>	Semente	2,36	10,23	9,03	1,29	21,18	8,45	4,41	0,22	1,28	0,60	0,72	0,76	1,62	0,03	4,41	0,82
<i>L. tom</i>	Polpa	8,85	1,67	30,53	0,22	1,03	12,35	1,30	8,47	0,04	0,33	1,65	0,10	0,24	0,68	0,81	1,28
<i>L. tom</i>	Semente	2,02	21,52	7,53	1,53	0,34	6,91	1,14	1,3	4,41	0,18	0,38	4,41	0,08	1,28	0,64	1,04
<i>M. spl</i>	Polpa	0,27	0,86	40,47	0,34	1,23	5,47	2,52	4,41	0,72	0,44	0,86	0,03	0,69	0,87	1,53	1,14
<i>M. spl</i>	Semente	0,39	4,35	2,31	1,59	8,48	6,28	1,02	0,10	0,54	1,49	1,00	0,44	0,37	0,39	0,22	0,84

^bOs dados são médias de 2 repetições.

9 CONSIDERAÇÕES FINAIS

- ✓ Para a maioria das espécies essas foram as primeiras investigações fitoquímicas e de bioprospecção;
- ✓ Os artigos demonstraram o potencial de mais de 33 espécies ocorrentes em Florestas tropicais brasileiras, o que pode favorecer o uso sustentável e a bioconservação;
- ✓ Acredita-se que o impacto mais imediato destes estudos (quinto e sexto artigo) pode ser na melhoria do uso de espécies de Arecaceae e Chrysobalanaceae pelas populações, por possuírem elevado potencial nutricional elevado. As espécies alimentícias analisadas podem ser utilizadas em programas de melhoramento da qualidade dos alimentos entre as populações rurais.
- ✓ O presente estudo amplia o conhecimento sobre plantas não convencionais ocorrentes no Brasil, indicando-as como novas fontes de compostos de interesse industrial.
- ✓ Entretanto, apesar dos resultados promissores obtidos nesse trabalho, estudos adicionais sobre o potencial tóxico, fatores antinutricionais e os que enfoquem os aspectos agronômicos, ecológicos e de produtividade das espécies são necessários para seu efetivo aproveitamento.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, M.M.B. et al. Bioactive compounds and antioxidant activity of fresh exotic fruits from northeastern Brazil. **Food Research International**, v. 44, p. 2155–2159, 2011.
- ÁVIDOS, M. F. D.; FERREIRA, L. T. **Frutos dos Cerrados – Preservação gera muitos frutos**. Disponível em: www.bioteecnologia.com.br/bio15/frutos.pdf>. Acesso em: 23 junho de 2016.
- BALASUNDRAM, N.; SUNDRAM, K.; SAMMAN, S. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. **Food Chemistry**, v. 99, p. 191–203, 2006.
- BRASIL, MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE. A Convenção sobre Diversidade Biológica - CDB, Cópia do Decreto Legislativo nº 2, de 5 de junho de 1992. MMA. Brasília, 2002, p.30
- CASTREJON, A. D. R. et al. Phenolic profile and antioxidant activity of highbush blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) during fruit maturation and ripening. **Food Chemistry**, v. 109, p. 564–572, 2008.
- CHEN, Y.; JUNGER, W.G. Measurement of oxidative burst in neutrophils. **Methods in Molecular Biology**, v. 844, p. 115–124, 2012.
- COPETTI, C.; OLIVEIRA, V. R.; KIRINUS, P. Avaliação da redução de potássio em hortaliças submetidas a diferentes métodos de cocção para possível utilização na dietoterapia renal. **Revista de Nutrição**, v. 23, p. 831-838, 2010.
- COUTINHO, D. J. G. **Lipídios de sementes, potencial econômico e quimiosistemático**. Dissertação de Mestrado, Universidade de Federal de Pernambuco. 95p, 2013.
- CUNHA, P.L.R.; FEITOSA, R.C.M.P. Polissacarídeos da biodiversidade brasileira: uma oportunidade de transformar conhecimento em valor econômico. **Química Nova**, v. 32, p. 649-660, 2009.
- ESKIN, N. A. M.; PRZYBYLSKI, R. **Antioxidants and shelf life of foods**. In: Food shelf life stability: Chemical, Biochemical, and microbiological changes. ESKIN, N. A. M.; ROBINSON, D. S. (Eds.) CRC Press: Boca Raton, US, 2001.
- FERNANDEZ-GARCIA, E. et al. Carotenoids bioavailability from foods: From plant pigments to efficient biological activities. **Food Research International**, v. 46, p. 438–450, 2012.

- FIGUEIRA, T. R. et al. Mitochondria as a source of reactive oxygen and nitrogen species: From molecular mechanisms to human health. **Antioxidants & Redox Signaling**, v. 18, p. 2029–2074, 2013.
- FLORA DO BRASIL 2020 EM CONSTRUÇÃO. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/>>. Acesso em: 23 junho 2016
- GONÇALVES, P. H. S.; ALBUQUERQUE, U. P.; MUNIZ, P. M. The most commonly available woody plant species are the most useful for human populations: A meta-analysis. **Ecological Applications**, v. 26, p. 2238-2253, 2016.
- HOED, V. V. Phenolic compounds in seed oils. **Lipid Technology**, v. 22, p. 247-249, 2010.
- KINUPP, V. F. **Plantas alimentícias não convencionais da região metropolitana de Porto Alegre**. Tese de Doutorado em Fitotecnia – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS. 2007, 562 p.
- KNOTHE, G. Analyzing biodiesel: Standards and other methods. **Jornal of the American Oil Chemistry's Society**, v. 83, p. 823-833, 2006.
- LAMARCA, E. V.; BAPTISTA, W.; RODRIGUES, D. S. OLIVEIRA JUNIOR, C. J. F. Contribuições do conhecimento local sobre o uso de *Eugenia* spp. em sistemas de policultivos e agroflorestas. **Revista Brasileira de Agroecologia**, n. 8, p. 119-130, 2013.
- LEHNINGER, A. L. **Princípios de bioquímica**. São Paulo: Sarvier, 1995.
- LIMA, J. R. O; SILVA, R. B.; SILVA, C. M. Biodiesel de babaçu (*Orbignya* sp.) obtido por via etanólica. **Química Nova**, v.30, p. 600-603, 2007.
- LÔBO, I. P.; FERREIRA, S. L. C.; CRUZ, R. S. Biodiesel: parâmetros de qualidade e métodos analíticos. **Química Nova**, v. 32, p.1596-1608, 2009.
- MAGALHÃES, V. G. Propriedade intelectual, biodiversidade e mudança climática. **Revista da Faculdade de Direito da Universidade de São Paulo**, v. 103, p. 517 – 536, 2008.
- MAGALHÃES, V.G. **Propriedade Intelectual, Biotecnologia e Biodiversidade**. Tese de Doutorado da Faculdade de Direito, Universidade de São Paulo, 2005, 262 p.
- MAIANI, G. et al. Carotenoids: actual knowledge on food sources, intakes, stability and bioavailability and their protective role in humans. **Mol. Nutr. Food Res.**, 53, 194-218, 2009.
- MAIHARA, V. A. et al. Avaliação nutricional de dietas de trabalhadores em relação a proteínas, lipídeos, carboidratos, fibras alimentares e vitaminas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, p. 672- 677, 2006.

MAYWORM, M. A. S. **Carboidratos e proteínas de sementes e lipídios de Vochysiaceae.**

Tese de Doutorado em Botânica, Instituto de Biociências – Universidade de São Paulo, 1999, 171 p.

MAYWORM, M. A. S.; SALATINO, A.; BUCKERIDGE, M. S. Chemical composition of seeds of *Peltophorum dubium* Vog., a legume tree from the Brazilian Caatinga vegetation with potential for sustainable use of biodiversity in semi-arid regions. **Hoehnea**, v. 31, p. 175-179, 2004.

NASCIMENTO, T. A. et al. Chemical characterization of native wild plants of dry seasonal forests of the semi-arid region of northeastern Brazil. **Food Research International**, v. 44, p. 2112-2119, 2011.

NASCIMENTO, T. A. et al. Famine Foods of Brazil's Seasonal Dry Forests: Ethnobotanical and Nutritional Aspects. **Economic Botany**, v. 66, p. 22-34, 2012.

NASCIMENTO, V. T. et al. Knowledge and use of wild food plants in areas of dry seasonal forests in Brazil. **Ecology of Food and Nutrition**, v. 52, p. 317-343, 2013.

NOGUEIRA, R. C.; CERQUEIRA, H. F.; SOARES, M. B. P. Patenting bioactive molecules from biodiversity: the Brazilian experience. **Expert Opinion on Therapeutic Patents**, v. 20, p. 1-13, 2010.

PINHO, A. C. et al. Biodiesel: an overview. **Bioresource Technology**, v. 100, p. 6114-6117, 2009.

RAMOS, L. P. et al. Produção de biodiesel alternativo ao óleo diesel através da transesterificação de óleo de soja usado em frituras. **Química Nova**, v. 23, p. 531 - 537, 2000.

RAMOS, M. I. L. et al. Qualidade nutricional da polpa de bocaiúva *Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28 p. 90-94, 2008.

RAMOS, M. J. et al. Influence of fatty acid composition of raw materials on biodiesel properties. **Bioresource Technology**, v. 100, p. 261-268, 2009.

ROHA, A. E. S.; SILVA, M. F. F. Aspectos fitossociológicos, florísticos e etnobotânicos das palmeiras (Arecaceae) de floresta secundária no município de Bragança, PA, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 19, p. 657-667, 2005.

RUFINO, M. S. M. et al. Bioactive compounds and antioxidants capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. **Food Chemistry**, v. 121, p. 996-1002, 2005.

RUFINO, M. U. L. **Conhecimento e uso da biodiversidade de palmeiras (Arecaceae) no estado de Pernambuco, nordeste do Brasil.** Dissertação de Mestrado – Universidade Federal de Pernambuco, 2007, 48p.

- SANTOS, J. C. O. et al. Thermoanalytical, kinetic and rheological parameters of commercial edible vegetable oils. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 75, p. 419-428, 2004.
- SASAKI, M. **Lipídios, carboidratos e proteínas de semente de leguminosas do cerrado**. Dissertação de Mestrado, Instituto de Biociências - Universidade de São Paulo, 2008, 75p.
- SGARBIERI, V. C. Estudo do conteúdo e de algumas características das proteínas e sementes de plantas da família Leguminosae. **Ciência e Cultura**, v. 32, p. 78- 84, 1980.
- SIMPSON, B. B.; OGORZALY, M. C. **Economic botany: plants in our world**. 3^a ed. New York: McGraw-Hill, 2001.
- VIZZOTTO, M. et al. Composição fitoquímica e atividade antioxidante de sucos produzidos com diferentes espécies de frutas nativas. **XVIII CIC-XI ENPOS**. Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS, 2009.
- ZANI, L. B. et al. A utilização e potencial das sementes florestais. **Natureza On-line**, v. 11, p.118-124, 2013.

ANEXOS

Normas dos periódicos

RENEWABLE ENERGY

<https://www.elsevier.com/journals/renewable-energy/0960-1481/guide-for-authors>

JAOCS

www.springer.com/cda/content/.../11746_inst_140711.pdf

FOOD RESEARCH INTERNATIONAL

<https://www.elsevier.com/journals/food-research-international/0963-9969/guide-for-authors>