



LUCIANA SOARES DA CRUZ

**ÓLEO DAS SEMENTES DE ATEMOIA
'GEFNER': CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA,
FÍSICO-QUÍMICA E PRODUÇÃO DE BIODIESEL**

**LAVRAS - MG
2015**

LUCIANA SOARES DA CRUZ

**ÓLEO DAS SEMENTES DE ATEMOIA ‘GEFNER’: CARACTERIZAÇÃO
QUÍMICA, FÍSICO-QUÍMICA E PRODUÇÃO DE BIODIESEL**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agroquímica, para a obtenção do título de Doutora.

Orientadora

Dra. Luciana de Matos Alves Pinto

Coorientadora

Dra. Angelita Duarte Corrêa

LAVRAS - MG

2015

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

Cruz, Luciana Soares da

Óleo das Sementes de Atemoia 'Gefner': Caracterização
Química, Físico-Química e Produção de Biodiesel / Luciana Soares
da Cruz. – Lavras : UFLA, 2015.

80 p. : il.

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Lavras, 2015.

Orientador (a): Luciana de Matos Alves Pinto.

Bibliografia.

1. Annona. 2. Transesterificação. 3. Biocombustível. I.
Universidade Federal de Lavras. II. Título.

LUCIANA SOARES DA CRUZ

**ÓLEO DAS SEMENTES DE ATEMOIA ‘GEFNER’: CARACTERIZAÇÃO
QUÍMICA, FÍSICO-QUÍMICA E PRODUÇÃO DE BIODIESEL**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agroquímica, para a obtenção do título de Doutora.

APROVADA em 22 de abril de 2015.

Dr. Celeste Maria Patto de Abreu

Dr. Juliana Mesquita Freire

Dr. Lidiany Mendonça Zacaroni Lima

Dr. Rafaela Araújo Zambaldi Lima

Dra. Luciana de Matos Alves Pinto
Orientadora

Dra. Angelita Duarte Corrêa
Coorientadora

**LAVRAS – MG
2015**

Dedico

*A Deus,
por me dar a força para não desanimar, durante os momentos mais difíceis.
Buscai em primeiro lugar o Reino de Deus e a sua justiça e todas as coisas vos
serão dadas em acréscimo (Mt 6,33).*

*Aos meus pais, Lúcio e Maria Emília,
pelo exemplo de dignidade e honestidade, por tanto amor e carinho incessantes.*

*As minhas irmãs Fabiana, Adriana, Poliana
por nossa união, nossa amizade e companheirismo.*

*E ao companheiro Evandro e minha princesa Klara,
pelo apoio incondicional, dedicação, paciência, compreensão e conforto nos
momentos de angústia e incerteza;
por não deixar de acreditar nunca que esse momento seria possível
e principalmente, pelo imenso e puro amor.*

AGRADECIMENTOS

A Deus, por suas benções.

A minha família, pelo apoio e amor incondicionais.

Ao Evandro e à Klara, pelo amor e dedicação constante, pelas palavras de sabedoria e coragem.

À Professora Luciana de Matos Alves Pinto, pela orientação, carinho, esclarecimentos, amizade, paciência, apoio, ensinamentos.

À Professora Angelita Duarte Corrêa, pela constante presteza, disposição, orientação, ensinamentos, dedicação, apoio, carinho e amizade.

Ao professor Pedro (DEQ), professora Celeste, Juliana, Lidiany, Rafaela e pelas diversas contribuições, orientações e ensinamentos.

À Maria Aparecida (Xulita), pela imensa paciência, carinho, sorriso, amizade, presteza constante e colaboração em todos os momentos.

A todos os colegas do laboratório e da pós-graduação, em especial a Fabíola, Milena, Mayara, Mirian, Ana Paula, Luciana, Vinícios, Cristina, Juliana, Priscila, Lucas, Bárbara, Valquíria, Cláudia, Aline, pela ajuda nas análises, pela boa vontade, carinho, amizade, companheirismo e ensinamentos.

À Warlei e Vanil, pelas caronas de Janaúba a Lavras.

Aos funcionários do Departamento de Química, em especial à Shirley, pela gentileza e disposição constante.

Ao Departamento de Química e à UFLA pela oportunidade, e à FAPEMIG, pelo apoio financeiro.

E a todos que, de alguma forma participaram e contribuíram para a conclusão deste trabalho, meus sinceros agradecimentos.

RESUMO GERAL

A atemoia é um fruto híbrido derivado do cruzamento entre a *Annona squamosa* L. com a *Annona cherimola* Mill. A atemoia 'Gefner' apresenta em suas sementes um teor de lipídios total relativamente alto, tornando importante a caracterização de seu óleo, visando sua aplicação na indústria química. Objetivou-se nesta pesquisa fazer uma comparação em relação ao rendimento, características químicas e físico-químicas, de duas metodologias de extração do óleo das sementes de atemoia 'Gefner', por prensagem (física) e por solvente (química) utilizando como solvente o hexano. Também foi estudada a produção do biodiesel a partir deste óleo, analisando-se os ésteres metílicos formados ao longo da reação de transesterificação com metanol. A caracterização química e a produção do biodiesel foram monitoradas por cromatografia gasosa acoplada a espectrômetro de massas (CG-EM). Foi utilizada a Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN-¹H) para avaliar a reação de transesterificação do biodiesel. A extração física mostrou ser economicamente mais viável do que a química, apresentando uma menor quantidade de resíduos e não acarretando oxidação do óleo extraído. As diferentes técnicas de extração não interferiram significativamente nas características químicas e físico-químicas do óleo, exceto para o índice de peróxido. Os ácidos graxos majoritários presentes no óleo são os ácidos oleico, palmítico, esteárico e linoleico. Destaca-se seu potencial para biodiesel, devido ao estudo dos ésteres metílicos formados ao longo da reação de transesterificação com metanol. É possível ressaltar que os três ésteres metílicos majoritários formados até 25 minutos de reação de transesterificação, independentes dos métodos utilizados para a extração do óleo, são semelhantes aos de outros biodieseis existentes atualmente, mostrando que a utilização do óleo de sementes de atemoia 'Gefner' como matéria-prima representa uma fonte promissora e de boa qualidade, podendo ser aplicada com segurança na produção de biodiesel.

Palavras-chave: Annona. Transesterificação. Biocombustível.

GENERAL ABSTRACT

Atemoya is a hybrid fruit derived from a cross between *Annona squamosa* L. and *Annona cherimola* Mill. The atemoya 'Gefner' present in its seeds a total lipid content relatively high, become important characterization of its oil, aiming a useful application for the chemical industry. The objective in this study was to compare, in relation to yield, chemical and physico-chemical characteristics of two extraction methods of the 'Gefner' atemoya seeds oil by pressing (physical) and solvent (chemical) using hexane as solvent. Also the biodiesel production from this oil was studied, analyzing methyl esters formed along the transesterification reaction with methanol. The chemical characterization and biodiesel production were monitored by gas chromatography coupled to a mass spectrometer (GC-MS). Hydrogen Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy ($^1\text{H-NMR}$) was used to evaluate the transesterification reaction of biodiesel. The physical extraction proved to be more economically viable than the chemical, with a lower amount of waste, and did not cause the oxidation of the extracted oil. The different extraction techniques did not interfere significantly in the chemical and physico-chemical characteristics analyzed in the oil, except for the peroxide value. The major fatty acids present in the oil are the oleic, palmitic, stearic and linoleic. It is highlight biodiesel potential, due the methyl esters' study formed along the transesterification reaction with methanol. It is possible to point out the three major methyl esters formed up to 25 minutes of transesterification reaction, independent of the methods used for oil extraction, currently are similar to others existing biodiesels, showing that the use of 'Gefner' atemoya seeds oil as a raw material is a promising source and has a good quality and can be used safely in the biodiesel production.

Keywords: Annona. Transesterification. Biofuel.

LISTA DE FIGURAS

PRIMEIRA PARTE		
Figura 1	Fruto atemoia.....	16
Figura 2	Reação de halogenação.....	18
Figura 3	Reações envolvidas na determinação do índice de peróxido (LUTZ, 2008).....	20
Figura 4	Reação de saponificação.....	21
Figura 5	Reações envolvendo a produção de ácidos graxos livres e a reação destes com a base.....	24
Figura 6	Estrutura química do ácido palmítico (a), ácido oleico (b), ácido linoleico (c) e ácido linolênico (d).....	27
Figura 7	Reação de transesterificação.....	29
Figura 8	Representação esquemática da montagem utilizada nas reações de transesterificação.....	31
SEGUNDA PARTE		
ARTIGO 2		
Figura 1	Perfil de ésteres metílicos obtidos no decorrer da reação de transesterificação do óleo das sementes de atemoia 'Gefner', espectro de RMN- ¹ H, métodos de extração prensa, tempo 6 de reação.....	73
Figura 2	Perfil de ésteres metílicos obtidos no decorrer da reação de transesterificação do óleo das sementes de atemoia 'Gefner', espectro de RMN- ¹ H, métodos de extração por solvente, tempo 6 de reação.....	74

LISTA DE TABELAS

	PRIMEIRA PARTE	
Tabela 1	Principais ácidos graxos de ocorrência natural.....	25
	SEGUNDA PARTE	
	ARTIGO 1	
Table 1	Chemical composition of the seed oil from ‘Gefner’ atemoya, from two types of extraction.....	58
Table 2	Physicochemical characteristics of the seed oil from ‘Gefner’ atemoya, from two types of extraction.....	59
Table 3	Fatty acid profile of the seed oil from ‘Gefner’ atemoya, from two types of extraction, expressed as % of peak area on the chromatogram.....	60
	ARTIGO 2	
Tabela 1	Ésteres metílicos obtidos da transesterificação do óleo das sementes de atemoia ‘Gefner’ (% de área do pico), de dois métodos de extração do óleo: prensa (P) e solvente (S).....	78
Tabela 2	Deslocamentos químicos (ppm) obtidos por RMN- ¹ H (200 MHz) do biodiesel, em CDCL ₃ a 25 °C, extração prensa.....	80
Tabela 3	Deslocamentos químicos (ppm) obtidos por RMN- ¹ H (200 MHz) do biodiesel, em CDCL ₃ a 25 °C, extração por solvente..	80

ABREVIACOES

ANP	Agência Nacional de Petróleo
AOAC	Association of Official Analytical Chemistry
AOCS	American Oil Chemistry' Society
CG-EM	Cromatografia Gasosa - Espectrômetro de Massas
IA	ndice acidez
IE	ndice de ster
II	ndice de iodo
IP	ndice de peróxido
IS	ndice de saponificação
MME	Ministério de Minas e Energia
PNPB	Programa Nacional de Produção do Biodiesel
RMN- ¹ H	Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrognio

SUMÁRIO

	PRIMEIRA PARTE	13
1	INTRODUÇÃO GERAL	13
2	REFERENCIAL TEÓRICO	15
2.1	Origem e descrição do híbrido (matéria-prima)	15
2.2	Características físico-químicas de óleos	16
2.2.1	Índice de iodo	17
2.2.2	Índice de acidez	18
2.2.3	Índice de peróxido	19
2.2.4	Índice de saponificação	20
2.2.5	Índice de éster	21
2.2.6	Índice de refração	22
2.3	Lipídios	22
2.3.1	Ácidos graxos	24
2.4	Métodos de extração de óleo fixo	28
2.4.1	Extração por prensagem	28
2.4.2	Extração por solvente	28
2.5	Biodiesel	28
2.5.1	Reação de transesterificação	30
2.5.2	Biodiesel no Brasil	32
3	CONCLUSÃO	35
	REFERÊNCIAS	36
	SEGUNDA PARTE – ARTIGOS	41
	ARTIGO 1 - Caracterização química e físico-química do óleo das sementes de atemoia ‘Gefner’	41
1	INTRODUCTION	44
2	MATERIAL AND METHODS	45
3	RESULT AND DISCUSSION	49
4	CONCLUSION	54
	REFERENCES	55
	LIST OF TABLES	58
	ARTIGO 2 - Caracterização do biodiesel obtido do óleo das sementes de atemoia	62
1	INTRODUÇÃO	65
2	MATERIAL E MÉTODOS	67
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	70
4	CONCLUSÃO	75
	REFERÊNCIAS	76
	LISTA DE TABELAS	78

PRIMEIRA PARTE

1 INTRODUÇÃO GERAL

A atemoia é um fruto híbrido derivado do cruzamento entre um fruto tropical, a fruta-do-conde (*Annona squamosa* L.) com a cherimoia (*Annona cherimola* Mill.). A atemoia variedade ‘Gefner’ apresenta em média 56 sementes por fruto, equivalente a 8,4% do seu peso total e o teor de lipídios totais é de 27,3 g 100 g⁻¹ (CRUZ et al., 2013). No Brasil, sua produtividade já apresenta uma área superior a 1.500 hectares espalhados pelos estados de São Paulo e Paraná e pela região Nordeste (BRAGA SOBRINHO, 2014).

O óleo vegetal *in natura* se difere significativamente do biodiesel. Para se tornar compatível com os motores a diesel, o óleo vegetal precisa passar por um processo químico chamado transesterificação - que separa a glicerina do óleo tornando-o mais fino - realizado nas instalações produtoras de biodiesel autorizadas pela Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis – ANP (2013).

Segundo Parente et al. (2003), biodiesel é um combustível renovável, biodegradável e ambientalmente correto, sucedâneo ao óleo diesel mineral, constituído de uma mistura de ésteres metílicos ou etílicos de ácidos graxos, obtidos da reação de transesterificação de qualquer triacilglicerol com um álcool de cadeia curta, metanol ou etanol, respectivamente.

A transesterificação de óleos vegetais tem importância estratégica, uma vez que o biodiesel está se tornando um substituto renovável do óleo diesel mineral. Quando comparado ao óleo mineral, o biodiesel tem como vantagens a redução na emissão de poluentes, biodegradabilidade, maior ponto de fulgor e maior lubrificidade (GARCIA, 2006).

As fontes para produção do biodiesel são os óleos de soja, mamona, colza, entre outros. A obtenção de algumas matérias-primas é feita pelo aproveitamento de resíduos de vegetais que costumam ser descartados pela indústria e consumidores. Muitas sementes, como por exemplo, as da atemoia, poderiam ser fontes de óleos podendo ser aplicadas com segurança na indústria química.

Diante da busca por novas oleaginosas para a produção de biodiesel, a semente de atemoia sinaliza um potencial a ser explorado, pois seu teor de óleo é equivalente a de sementes de oleaginosas, como a soja, por exemplo. O cultivo da atemoia estimula a agricultura familiar, o que traz fonte de renda e emprego para a região onde é produzida.

Diante do exposto, faz-se necessária a realização de pesquisas para caracterizar o óleo da semente de atemoia, comparando a utilização de técnicas de extrações diferentes, a fim de obter uma extração eficiente e econômica, como também fazer uma aplicação do óleo de maneira segura para o meio ambiente. Portanto, o objetivo neste trabalho foi extrair o óleo da semente de atemoia 'Gefner', comparando duas metodologias de extração: a física (prensa) e química (solvente) realizando a caracterização química e físico-química deste óleo, bem como a produção de biodiesel, avaliando a formação dos ésteres metílicos no decorrer da reação de transesterificação.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Origem e descrição do híbrido (matéria-prima)

A atemoia é um híbrido interespecífico entre a cherimoia (*Annona cherimola* Mill.) e a pinha (*Annona squamosa* L.), cujo crescimento vem sendo observado em diversos países de clima tropical e subtropical, como Austrália, Brasil, Israel e os estados da Flórida e do Havai nos Estados Unidos da América (CRANE; BALERDI; MAGUIRE, 2005).

As anonáceas representam um nome genérico para designar as plantas da família Annonaceae, constituída por cerca de 120 gêneros e aproximadamente 2.300 espécies. No Brasil, estão registrados 29 gêneros, dentro dos quais existem cerca de 260 espécies, sendo algumas de importância econômica. Entre as espécies de maior importância comercial, sobressaem a graviola (*Annona muricata* L.), pinha, ata ou fruta-do-conde (*Annona squamosa* L.), cherimoia (*Annona cherimóia* Mill.) e a atemoia, híbrido de *A. cherimoia* e *A. squamosa* (BRAGA SOBRINHO, 2014).

As estimativas das áreas atuais de produção de atemoia mostram que, no Brasil, existem em torno de 1.500 hectares cultivados com esta anonácea, sendo que a maior parte, cerca de 44%, está no estado de São Paulo, seguido do Paraná, Minas Gerais e Bahia, cada um com cerca de 18% da produção (BRAGA SOBRINHO, 2014).

A atemoia 'Gefner' (Figura 1) apresenta em média 56 sementes por fruto, equivalente a 8,4% do seu peso total e o teor de lipídios totais é de 27,3 g 100 g⁻¹ (CRUZ et al., 2013). Este teor é comparável ao de outras sementes que são fontes de óleos para diversas aplicações, como biocombustível, na indústria de cosméticos ou na indústria alimentícia. De acordo Constantino et al. (2014) as sementes de amendoim, girassol e soja, são utilizadas como biodiesel, seus teores de óleo nas sementes são, em g 100 g⁻¹, de 41,3, 60,2 e 24,5 respectivamente.



Figura 1 Fruto atemoia
Fonte: FRUTAS... (2015)

A atemoia apresenta alta produtividade em cultivo irrigado, com possibilidade de duas safras ao ano, além da boa qualidade pós-colheita dos frutos e bons preços no mercado, e é excelente opção para a diversificação da produção agrícola (PEREIRA; KAVATI, 2011).

Os frutos da família Annonaceae possuem um pseudocarpo formado pela fusão dos carpelos e receptáculos dentro de uma massa carnosa. A forma do fruto é variável, indo de esferoide a ovoide e a superfície do fruto é coberta com auréolas em forma de U, que podem ser suaves ou pontudas. Os frutos da atemoira, quando maduros, pesam, em média, 0,10 a 2,00 kg e, apesar de seu aspecto rústico, são muito delicados e extremamente perecíveis. A polpa é branca, comestível e facilmente separada das sementes (SANTOS et al., 2001).

2.2 Características físico-químicas de óleos

As determinações feitas na análise de óleos e gorduras são geralmente as dos chamados índices, que são expressões de propriedades físicas ou químicas dos

mesmos e não as porcentagens dos seus constituintes. Assim, é determinado o índice de iodo, índice de acidez, índice de peróxido, índice de saponificação, índice de éster e índice de refração. São esses índices que, juntamente à composição dos ácidos graxos, servem para identificação e avaliação dos óleos e gorduras, sendo o resultado da análise baseado neste conjunto de dados (LUTZ, 2008).

2.2.1 Índice de iodo

O índice de iodo é uma medida do grau de insaturação dos ácidos graxos presentes nos lipídeos e é expresso em termos do número de centigramas de iodo absorvido por grama da amostra (% de iodo absorvido). Sob determinadas condições, o iodo pode ser quantitativamente introduzido nas duplas ligações dos ácidos graxos insaturados e triacilglicerol. Por essa razão, quanto maior o grau de insaturação de um ácido graxo, maior será a sua capacidade de absorção de iodo e, conseqüentemente, maior será o índice de iodo (MENDONÇA et al., 2008). De acordo com a American Oil Chemistry' Society - AOCS (1998) o valor de índice de iodo ideal para aplicação em biodiesel é estar entre 81-91 g 100 g⁻¹.

O número de insaturações é de grande importância na estabilidade oxidativa dos biodieseis. A titulação é feita com tiosulfato de sódio e o resultado expresso como gramas de iodo que reagem com as insaturações em 100 g de amostra (LÔBO; FERREIRA; CRUZ, 2009).

Para cada óleo existe um intervalo característico do valor do índice de iodo; este valor também está relacionado com o método empregado na sua determinação. Geralmente, esse índice é determinado pelo método de Wijs, que usa a solução de tricloreto de iodo, mas pode ser determinado também pelo processo de Hanus, que usa monobrometo de iodo, e pelo método de Hübl, que emprega uma solução de iodo e cloreto de mercúrio. Importante é lembrar que

os resultados devem ser comparados e relacionados ao mesmo método. O método de Wijs é utilizado em laboratórios oficiais de vários países, enquanto que o de Hanus é utilizado em laboratórios de indústrias, e nas análises para fins comerciais (LUTZ, 2008).

Segundo Maia (2006), quanto maior o índice de iodo, maior o número de duplas ligações (insaturações) presentes no óleo. Sendo assim, há uma maior probabilidade da amostra ser considerada um óleo do que uma gordura, pois os óleos possuem um maior grau de insaturação do que as gorduras, o que justifica as gorduras serem sólidas e os óleos líquidos a 25 °C. Na Figura 2, observa-se a reação de halogenação, em que o iodo liga-se às duplas ligações. Essa reação pode ser visualizada adicionando amido como indicador da presença de iodo livre em solução, pois o iodo ligado ao ácido graxo é incapaz de reagir com o amido.

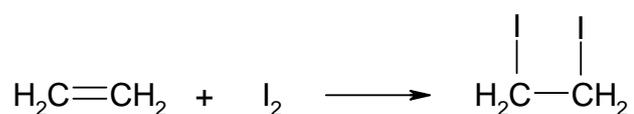


Figura 2 Reação de halogenação

O índice de iodo (II) do óleo da semente de mamona (BRS-149), por exemplo, registrado no trabalho de Costa (2006) foi de 92,27 g 100 g⁻¹ BS, teor que atende às especificações para aplicação como biodiesel.

2.2.2 Índice de acidez

O índice de acidez é definido como a massa de hidróxido de potássio, em mg (miligramas), necessário para neutralizar os ácidos graxos livres de um grama de amostra podendo ser representado em % (porcentagem) de ácido

oleico (LUTZ, 2008). De acordo com a ANP (2013) o ideal para aplicação em biodiesel é que seja inferior a $0,5 \text{ mg KOH g}^{-1}$.

O índice de acidez do biodiesel mede o número de grupos funcionais ácidos presente na amostra. O aumento desses grupos funcionais no óleo indica que está ocorrendo um processo de oxidação, podendo então ser utilizado como parâmetro para avaliar a estabilidade do biocombustível (YANG et al., 2013).

O índice de acidez é uma importante avaliação do estado de conservação do óleo. Um processo de decomposição, seja por hidrólise, oxidação ou fermentação, altera quase sempre a concentração dos íons hidrogênio. A decomposição dos glicerídios é acelerada por aquecimento e pela luz, sendo a rancificação quase sempre acompanhada pela formação de ácidos graxos livres. Por isso, a acidez está relacionada com a natureza e a qualidade da matéria-prima, com a qualidade e o grau de pureza da gordura, com o processamento e, principalmente, com as condições de conservação da gordura, pois se o valor for alto, menor será a qualidade do óleo extraído (MENDONÇA et al., 2008).

Lima et al. (2007) encontraram $0,505 \text{ mg KOH g}^{-1}$ de índice de acidez do óleo de babaçu utilizado para a transesterificação. Este é um valor adequado para transformação do óleo em biodiesel, visto que um excesso de ácidos graxos livres, quando se usa hidróxidos como catalisador, levaria a reações de saponificação competindo com a reação de transesterificação.

2.2.3 Índice de peróxido

O índice de peróxido indica o grau de oxidação do óleo. A quantidade de peróxido não constitui um índice infalível das características de conservação, porém indica até que ponto a oxidação progrediu (LUTZ, 2008). De acordo com

a Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA (2005) o ideal é que seja inferior a 10.

Devido a sua ação oxidante, os peróxidos orgânicos, formados no início da rancificação, atuam sobre o iodeto de potássio liberando iodo que será titulado com tiosulfato de sódio, em presença de amido como indicador (Figura 3). Esse método determina todas as substâncias, em termos de miliequivalentes de peróxido por 1.000 g de amostra, que oxidam o iodeto de potássio. Essas substâncias são geralmente consideradas como peróxidos ou outros produtos similares resultantes da oxidação de gorduras (MENDONÇA et al., 2008).

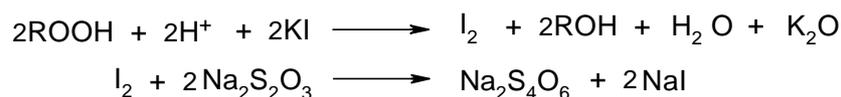


Figura 3 Reações envolvidas na determinação do índice de peróxido

Fonte: Lutz (2008)

2.2.4 Índice de saponificação

O índice de saponificação é definido como a massa de hidróxido de potássio (mg) necessária para neutralizar os ácidos graxos, resultantes da hidrólise de um grama da amostra e é inversamente proporcional a massa molecular média dos ácidos graxos dos glicerídios presentes. É importante para demonstrar a presença de óleos ou gorduras que contêm um determinado teor de ácidos graxos de baixo peso molecular (LUTZ, 2008). De acordo com a AOCS (1998) o ideal para aplicação em biodiesel é que o valor do índice de saponificação esteja entre 176-187 mg KOH g⁻¹.

Lima (2007) encontrou 233,767 (mg KOH g⁻¹) de índice de saponificação do óleo de babaçu utilizado para a transesterificação. Essa discrepância pode ser explicada pelo fato do óleo de babaçu ser composto por

ácidos graxos de menor massa molecular média. O valor deve ser o adequado para transformação do óleo em biodiesel, visto que se houver um excesso de ácidos graxos livres, quando se usa hidróxidos como catalisador, levaria a reações de saponificação (Figura 4) competindo com a reação de transesterificação.

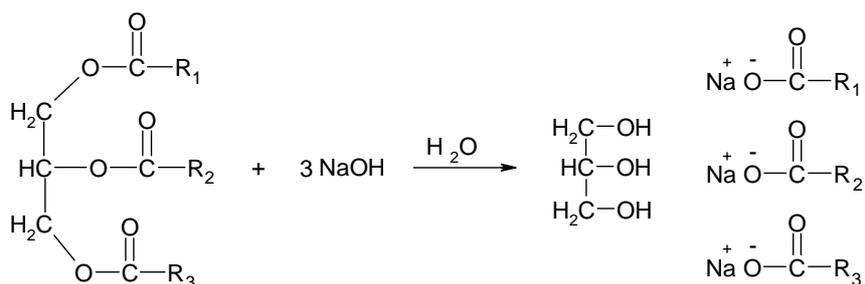


Figura 4 Reação de Saponificação

2.2.5 Índice de éster

O índice de éster representa a diferença entre o índice de saponificação e o índice de acidez, e mostra a quantidade de triacilgliceróis presentes no óleo, representando a qualidade do óleo, isto é, quanto mais elevado for este índice maior será o teor de triacilgliceróis presentes (COCKS; VAN REDE, 1966). De acordo com a ANP (2013) o ideal para aplicação em biodiesel é ser superior a 96,5 em porcentagem de éster.

O teor de ésteres metílicos no biodiesel é um parâmetro cuja porcentagem mínima exigida de éster é de 96,5%, a norma brasileira recomenda este teor no óleo (LÔBO; FERREIRA; CRUZ, 2009).

2.2.6 Índice de refração

O índice de refração é uma propriedade característica de cada tipo de óleo e está relacionado com o grau de saturação das ligações, porém é afetado por outros fatores como o teor de ácidos graxos livres, oxidação e tratamento térmico (LUTZ, 2008). De acordo com a AOCS (1998) o ideal para aplicação em biodiesel é que o valor esteja entre 1,46-1,47 nD de índice de refração.

O índice de refração é a relação entre a velocidade da luz no vácuo pela velocidade do meio de propagação. Cada óleo possui um valor característico, sendo que a alteração desse valor indica uma contaminação ou degradação do óleo (YANG et al., 2013).

Segundo Lutz (2008) a determinação do índice de refração tem grande utilidade no controle dos processos de hidrogenação, em óleos e gorduras. Os óleos e gorduras possuem refringências diferentes e, de acordo com sua natureza desviam, com maior ou menor intensidade, os raios luminosos que os atravessam. Assim, o índice de refração de um óleo aumenta com o comprimento da cadeia hidrocarbonada e com o grau de insaturação dos ácidos graxos constituintes dos triacilgliceróis.

O índice de refração é proporcional ao número de grupos polares e grau de insaturação das ligações, portanto um aumento desse índice é um indicativo de oxidação tendo em vista que no processo de oxidação há formação de compostos como o ácido carboxílico, aldeídos e cetonas, que levam à alteração do índice de refração (PAUL; MITTAL, 1997).

2.3 Lipídios

Os lipídios podem ser definidos como biomoléculas insolúveis em água de estrutura química diversificada e que podem ser extraídos por solventes não

polares (CAMPBELL; FARREL, 2008). O termo lipídio é empregado para gorduras e óleos e corresponde a toda fração de amostra extraída com solventes orgânicos. Esses solventes apolares extraem a fração lipídica neutra que inclui ácidos graxos livres, mono, di e triacilgliceróis, e alguns mais polares, como fosfolipídios, glicolipídios e esfingolipídios. Esteróis (colesterol), pigmentos lipossolúveis, ceras, resinas e vitaminas podem ser extraídos apenas parcialmente (CECCHI, 2001).

Óleos vegetais podem ser encontrados nas sementes das plantas e em algumas polpas de fruto. Eles são constituídos principalmente de triacilglicerol, sendo encontradas também pequenas quantidades de outros lipídios. Os ácidos graxos que esterificam o glicerol apresentam, muitas vezes, cadeias alifáticas saturadas, porém cadeias insaturadas também se encontram presentes. As diferenças entre os ácidos graxos constituintes dos óleos vegetais determinam as diferenças entre certas propriedades destes óleos, tais como: ponto de fusão, calor e peso específico, viscosidade, solubilidade, reatividade química, e estabilidade térmica (BILICH; SILVA, 2006).

Os lipídios contêm ácidos graxos insaturados, susceptíveis ao desenvolvimento de rancificação. A rancificação é o processo pelo qual o oxigênio reage com a dupla ligação, produzindo peróxidos e radicais livres, que são quimicamente muito reativos. Os produtos da rancificação têm um odor característico, afetam a palatabilidade dos alimentos e podem ser tóxicos. Nos grãos, o óleo está protegido contra a rancificação porque fica compartimentalizado na estrutura celular. Quando o grão é moído para fazer a farinha ele se torna susceptível à rancificação. Grãos e sementes possuem a enzima lipoxidase (lipoxigenase) que estimula a rancificação. Quando a semente é moída, essa enzima e o óleo são misturados e a rancificação ocorre (PUPA, 2004).

A presença de enzimas hidrolíticas nas sementes, principalmente lipases, induz a hidrólise de triacilgliceróis aumentando os ácidos graxos livres (acidez do óleo). Os ácidos graxos livres são extremamente suscetíveis à ação de enzimas oxidativas (lipoxigenases) que associadas ao oxigênio intragranular, provocam a rancificação, e conseqüentemente alterações de sabor e odor das sementes (KIM; CHUNG; LIM, 2014).

A equação química envolvendo a reação de hidrólise de óleos está representada na Figura 5. Os ésteres são degradados por enzimas (lipases) em presença de água e em temperaturas elevadas, produzindo glicerol (triálcool) e os ácidos graxos livres (FURQUIM et al., 2014).

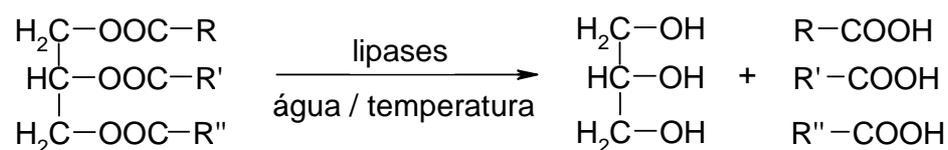


Figura 5 Reação envolvendo a produção de ácidos graxos livres
Fonte: Furquim et al. (2014)

2.3.1 Ácidos graxos

Por definição, ácidos graxos são ácidos carboxílicos alifáticos obtidos da hidrólise das gorduras e óleos naturais. São geralmente formados por cadeias de hidrocarbonetos variando de 4 a 36 átomos de carbonos. Na maioria dos ácidos graxos, essa cadeia é não ramificada e completamente saturada; em outros, a cadeia contém uma ou mais ligações duplas, sendo denominados de monoinsaturados e poli-insaturados, respectivamente (Tabela 1) (COX; NELSON, 2014).

Tabela 1 Principais ácidos graxos de ocorrência natural

Esqueleto carbônico	Nome sistemático	Nome comum
12:0	Ácido <i>n</i> -dodecanoico	Ácido láurico
14:0	Ácido <i>n</i> -tetradecanoico	Ácido mirístico
16:0	Ácido <i>n</i> -hexadecanoico	Ácido palmítico
18:0	Ácido <i>n</i> -octadecanoico	Ácido esteárico
20:0	Ácido <i>n</i> -eicosanoico	Ácido araquídico
24:0	Ácido <i>n</i> -tetracosanoico	Ácido lignocérico
16:1 (Δ^9)	Ácido <i>cis</i> -9-hexadecenoico	Ácido palmitoleico
18:1 (Δ^9)	Ácido <i>cis</i> -9-octadecenoico	Ácido oleico
18:2 ($\Delta^{9,12}$)	Ácido <i>cis, cis</i> -9-12-octadecadienoico	Ácido linoleico
18:3 ($\Delta^{9,12,15}$)	Ácido <i>cis, cis, cis</i> -9,12,15-octadecatrienoico	Ácido α -linolênico
20:4 ($\Delta^{5,8,11,14}$)	Ácido <i>cis, cis, cis, cis</i> -5,8,11,14-icosatetraenóico	Ácido araquidônico

Fonte: Cox e Nelson (2014)

Diferenças de tamanho, grau e posição da insaturação em suas moléculas conferem aos ácidos graxos e aos compostos que os contêm, diferentes propriedades físicas, químicas e nutricionais (BELITZ; GROSCH, 1997).

A consistência dos ácidos graxos à temperatura ambiente é uma consequência das suas propriedades: ácidos graxos saturados com mais de 14 carbonos são sólidos e, se possuírem pelo menos uma dupla ligação são líquidos. A intensidade de associação entre as moléculas de ácidos graxos reflete no valor

do seu ponto de fusão, já que a passagem do estado sólido para líquido envolve a ruptura parcial das interações intermoleculares, ou seja, a temperatura de fusão dos ácidos graxos diminui com o número de insaturações e aumenta com o comprimento da cadeia. Assim, ácido esteárico (saturado) e ácido oleico (insaturado), ambos com 18 carbonos, têm pontos de fusão muito diferentes: 69,0 °C e 13,4 °C, respectivamente (MARZZOCO; TORRES, 2013).

Essas diferenças nos pontos de fusão são devidas a diferentes graus de empacotamento das moléculas de ácidos graxos. Nos compostos completamente saturados, a livre rotação em torno de cada ligação carbono-carbono proporciona grande flexibilidade à cadeia de hidrocarboneto; a conformação mais estável é a forma completamente estendida, na qual a interferência estérica dos átomos vizinhos é mínima. Essas moléculas podem se agrupar de forma compacta formando arranjos quase cristalinos, com os átomos ao longo de sua cadeia em interação de van der Waals com os átomos da cadeia vizinha. Nos ácidos graxos insaturados, uma dupla ligação cis provoca curvatura na cadeia de hidrocarbonetos. Ácidos graxos com uma ou mais dessas curvaturas não podem se agrupar de forma tão compacta como os ácidos graxos totalmente saturados, e as interações entre eles são conseqüentemente mais fracas. Como se gasta menos energia térmica para desfazer esses arranjos fracamente ordenados de ácidos graxos insaturados, estes possuem ponto de fusão consideravelmente mais baixo que os ácidos graxos saturados com o mesmo comprimento de cadeia (COX; NELSON, 2014).

Do ponto de vista metabólico e fisiológico tem sido importante citar a posição da última dupla ligação dos ácidos graxos insaturados em relação ao grupo metila terminal da cadeia carbônica. A informação fornecida está associada às famílias de ácidos graxos, como ômega-3, ômega-6 e ômega-9, as

quais podem apresentar atividades biológicas diferenciadas (VISENTAINER; FRANCO, 2006).

O ácido palmítico, por exemplo, é um ácido saturado com 16 átomos de carbono, sendo abreviado por 16:0, e o ácido oleico que apresenta 18 átomos de carbono e insaturação localizada entre os carbonos 9 e 10 é abreviado 18:1 Δ^9 . Os ácidos graxos ω -3, ou n-3, são compostos poli-insaturados, que possuem a primeira ligação dupla localizada entre os carbonos 3 e 4 da cadeia alifática, a partir da metila terminal (MARZZOCO; TORRES, 2013). Na Figura 6 está representada a estrutura química dos ácidos palmítico, oleico, linoleico e linolênico.

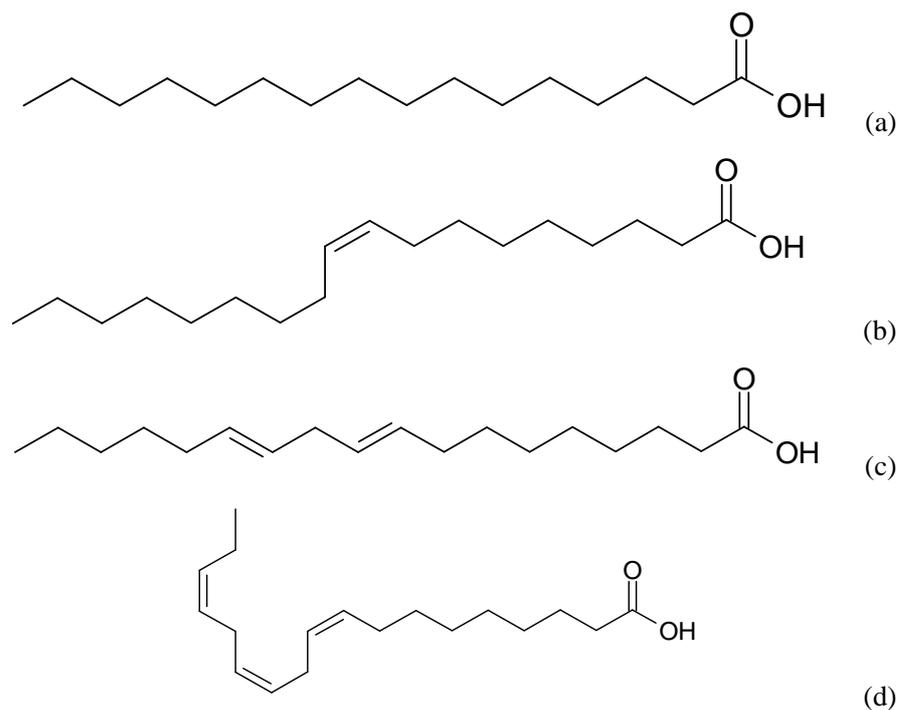


Figura 6 Estrutura química do ácido palmítico (a), ácido oleico (b), ácido linoleico (c) e ácido linolênico (d)

2.4 Métodos de extração de óleo fixo

Os métodos de extrações que serão abordados neste trabalho serão a extração por prensagem e por solvente.

2.4.1 Extração por prensagem

Segundo Costa (2006) para a extração de óleo bruto, faz-se necessária a utilização de sementes secas, em que terá percolações diferentes durante a extração e para essa prática utiliza-se uma prensa hidráulica manual. O cálculo do rendimento de óleo é obtido pela relação entre a quantidade de sementes que entraram na prensa, em gramas, pela quantidade de óleo obtido na prensagem. Após o processo de extração do óleo bruto obtido, este é colocado em centrífuga para a separação das impurezas do óleo; gomas (fosfatídeos hidratáveis), ceras e substâncias coloidais.

2.4.2 Extração por solvente

O processo de extração do óleo é baseado na extração de substâncias solúveis em éter etílico, os lipídios totais, utilizando-se o extrator contínuo tipo Soxhlet. Após a evaporação do solvente, o teor de lipídios totais é determinado por diferença de peso (AOCS, 1998).

2.5 Biodiesel

A primeira menção a respeito do emprego de óleos vegetais em motores diesel foi feita por Rudolf Diesel, quando apresentou um motor abastecido com óleo de amendoim em uma exposição em Paris em 1900 (VERMEERSCH, 2002).

Um dos processos pelo qual a matéria-prima (óleo vegetal ou gordura animal) converte-se em biodiesel é denominado transesterificação, que tem como intuito reduzir a alta viscosidade de óleos vegetais. Essa reação possui a razão molar 1:3 de óleo para álcool, porém a reação é reversível, necessitando, portanto realizá-la em excesso. A transesterificação pode ocorrer através da rota metílica ou etílica com a adição de um catalisador (básico, ácido ou enzimático), conforme representado na Figura 7 (KNOTHE, 2006).

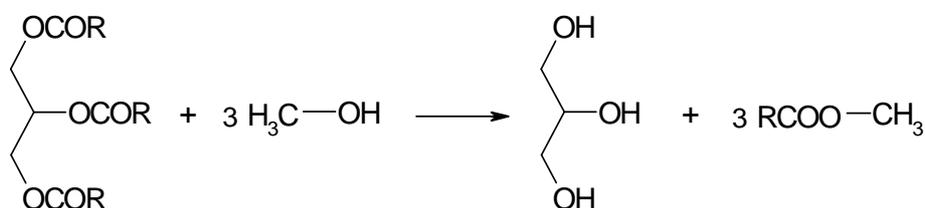


Figura 7 Reação de transesterificação para produção de biodiesel

O biodiesel é definido como o derivado mono-álquil éster de ácidos graxos de cadeia longa, proveniente de fontes renováveis como óleos vegetais, obtido através de um processo de transesterificação, no qual ocorre a transformação de triacilglicerol em moléculas menores de ésteres de ácidos graxos. Sua utilização está associada à substituição de combustíveis fósseis em motores de ciclo diesel. Apresenta um potencial promissor em todo mundo, não só pela sua enorme contribuição ao meio ambiente, com a redução qualitativa e quantitativa dos níveis de poluição ambiental, mas também pela geração de energia renovável em substituição ao óleo diesel e outros derivados do petróleo (COSTA NETO; ROSSI, 2000; PINTO et al., 2005).

O monitoramento da reação de transesterificação é por meio da formação de biodiesel e glicerol, que é um coproduto da reação de síntese de biodiesel (OLIVEIRA et al., 2004). O biodiesel é considerado um combustível

renovável, biodegradável e ambientalmente correto, sucedâneo ao óleo diesel mineral (PARENTE et al., 2003).

2.5.1 Reação de transesterificação

Transesterificação é o termo geral usado para descrever uma importante classe de reações orgânicas na qual um éster é transformado em outro através da troca dos grupos alcóxidos. Tem sido largamente utilizada para redução da viscosidade dos triacilgliceróis, melhorando as propriedades físicas dos combustíveis para o motor a diesel (URIESTE et al., 2008).

A transesterificação mostra-se como uma opção para melhorar o desempenho dos óleos vegetais como combustíveis, sendo um processo simples, cujo produto denominado de biodiesel, terá características similares ao óleo diesel obtido do petróleo (MEHER; SAGAR; NAIK, 2006).

As reações de transesterificação são realizadas em reator de vidro encamisado (A) com três conexões e capacidade interna para 500 mL (Figura 8). Na conexão central encaixa-se um agitador mecânico (B) com o auxílio de uma rolha de alumínio e de rolamento (G). Em uma das conexões laterais, um termômetro (D) é conectado (sendo este opcional) utilizando rolha de borracha perfurada. Na terceira conexão, um condensador de bolas resfriado à água (C) é encaixado também com o uso de rolha perfurada. O controle de temperatura é realizado por banho ultratermostático (E) que recircula água pela camisa do reator (F) (PARENTE et al., 2003).

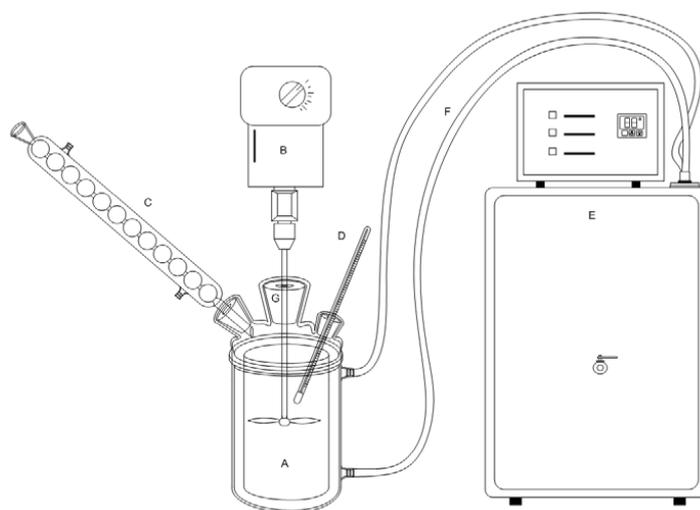


Figura 8 Representação esquemática da montagem utilizada nas reações de transesterificação
Fonte: Parente et al. (2003)

2.5.2 Biodiesel no Brasil

O Brasil foi muito afetado pela alta dos preços do petróleo no mercado internacional ocorrida na década de 70, do século XX. Como reação a esse cenário, o governo brasileiro procurou reduzir progressivamente as importações de petróleo, intensificando a prospecção de petróleo nacional, inclusive em plataformas submarinas. Também houve o desenvolvimento de diversos programas governamentais para a substituição de derivados do petróleo. A primeira iniciativa foi o Pró-Álcool como resposta ao primeiro choque de preço do petróleo em 1973. Posteriormente, com a crise do petróleo de 1979, o governo introduziu novos programas de substituição de derivados do petróleo, entre eles o programa de produção de óleos vegetais para fins energéticos – Pró-Óleo - segundo o qual parte da produção de óleos vegetais seria destinada à substituição do óleo diesel (LIMA, 2007).

Aplicado à realidade brasileira, para o biodiesel, os novos atores são os agricultores familiares; os novos métodos de produção são as usinas construídas especialmente para essa função; os novos métodos de comercialização são o leilão e o selo combustível social; a nova fonte de matéria-prima concentra-se em vegetais menos nobres (dendê, mamona e pinhão manso) (ANP, 2013).

A intenção de se produzir biodiesel, para uso comercial como combustível renovável integrado à matriz energética brasileira, de fato começou a partir de 2003 e mais fortemente a partir do Programa Nacional de Produção e Uso do Biodiesel (PNPB) lançado em 2004 (ANP, 2013).

Em julho de 2003, o Ministério de Minas e Energia (MME) lançou o Programa Combustível Verde – Biodiesel, tendo sido estabelecida uma meta de produção de 1,5 milhões de toneladas de biodiesel, destinado ao mercado interno e à exportação. O objetivo desse programa foi diversificar a bolsa de

combustíveis, diminuir a importação de diesel de petróleo e ainda criar emprego e renda no campo (LIMA, 2007).

Atualmente é configurada a formação do setor do biodiesel, nascido de políticas públicas direcionadas ao atendimento de demandas variadas dos atores envolvidos no setor. É nesse contexto que o Programa Nacional de Uso e Produção de Biodiesel é analisado como principal política para a instituição do mercado de biodiesel brasileiro (ANP, 2013).

É perceptível a participação cada vez mais representativa dos biocombustíveis nos mercados energéticos, o que fica mais evidente com a tendência futura percebida nos inúmeros trabalhos de modelagem de cenários que apontam a biomassa como uma das principais fontes de energia do século XXI (BIODIESELBR, 2015).

Muitas pesquisas voltadas à utilização de biodiesel estão sendo realizadas no país. Destacam-se a seguir algumas dessas iniciativas. A Universidade Federal do Paraná vem desenvolvendo tecnologias para a produção de ésteres extraídos da transesterificação do óleo de soja, visando a sua mistura ao diesel, desde 1983. Desde o ano 2000, existe no *campus* da Universidade Estadual de Santa Cruz, em Ilhéus (BA), uma planta piloto de produção de biodiesel metílico, a partir de óleo de dendê e gorduras residuais. O biodiesel produzido está sendo testado em frotas de veículos da própria Universidade e em embarcações que circulam na Baía de Camamu. O projeto tem um aspecto ambiental e social muito importante, pois recolhe os óleos utilizados na cidade, em cozinhas industriais, restaurantes *etc.* para serem beneficiados e transformados em combustíveis (GARCIA, 2006).

Tassinari (2014) realiza um monitoramento na Caixa Retentora de Gordura (CRG) do Restaurante Universitário da Universidade Federal de Lavras, a fim de verificar a alteração nas características de óleos, analisando os

índices de iodo, acidez, peróxidos, éster, saponificação e refração, como também sua potencialidade para produção de biodiesel por processos tradicionais como a transesterificação alcalina.

A produção e o consumo do biodiesel no Brasil e em alguns países europeus (Alemanha, França, Áustria e Itália) estão recebendo incentivos através de reduções tributárias, financiamentos especiais para produção e alterações nas legislações para que esses países alcancem uma frota significativa de veículos leves, coletivos e de carga que utilizem o biodiesel em diferentes proporções com o óleo diesel (VERMEERSCH, 2002).

3 CONCLUSÃO

A atemoia é um fruto híbrido com características bastante atrativas, portanto deve-se evitar o desperdício de suas sementes ao serem descartadas, agregando valor ao fruto. Devido a seu alto teor de lipídios totais, e com relação às características químicas e físico-químicas é possível a aplicação do óleo de sementes de atemoia ‘Gefner’ como matéria-prima, pois representa uma fonte promissora e de boa qualidade, podendo ser aplicada com segurança na produção de biodiesel.

REFERÊNCIAS

- AGÊNCIA NACIONAL DO PETRÓLEO, GÁS NATURAL E BIOCOMBUSTÍVEIS. **Resolução ANP nº 30/2013**. Biocombustíveis. Disponível em: <<http://anp.gov.br/?pg=60467&m=&t1=&t2=&t3=&t4=&ar=&ps=&cachebust=1412632744151>>. Acesso em: 3 mar. 2015.
- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Resolução nº 270, de 22 de setembro de 2005. Regulamento técnico para óleos vegetais, gorduras vegetais e creme vegetal. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, n. 184, Seção 1. p. 372, 2005.
- AMERICAN OIL CHEMISTS' SOCIETY. **Official methods and recommended practices**. 5th ed. Champaign, 1998.
- BELITZ, H. D.; GROSH, W. **Química de los alimentos**. 2. ed. Zaragoza: Acribia, 1997.
- BILICH, F.; SILVA, R. Análise do potencial brasileiro na produção de biodiesel. In: CONGRESSO DA REDE BRASILEIRA DE TECNOLOGIA DE BIODIESEL, 1., 2006, Brasília. **Anais...** Brasília: Abipti, 2006. 1 CD ROM.
- BIODIESELBR. **ANP publica edital do primeiro leilão do B7**. Disponível em: <<http://www.biodieselbr.com/noticias/regulacao/leilao/anp-publica-edital-primeiro-leilao-do-b7-050914.htm>>. Acesso em: 9 mar. 2015.
- BRAGA SOBRINHO, R. Produção integrada de Anonáceas no Brasil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 36, p. 102-107, 2014. Especial.
- CAMPBELL, M. K.; FARREL, S. **Biochemistry**. 6. ed. São Paulo: Roca, 2008. 751 p.

CECCHI, H. M. **Fundamentos teóricos e práticos em análises de alimentos**. São Paulo: UNICAMP, 2001. 212 p.
COCKS, L.; VAN REDE, C. **Laboratory handbook for oil and fat analysts**. London: Academic, 1966.

CONSTANTINO, A. F. et al. Análise do teor e da qualidade dos lipídeos presentes em sementes de oleaginosas por RMN de baixo campo. **Química Nova**, São Paulo, v. 37, n. 1, p. 10-17, 2014.

COSTA NETO, P. R.; ROSSI, L. F. S. Produção de biocombustível alternativo ao óleo diesel através da transesterificação de óleo de soja usado em frituras. In: **Química Nova**, São Paulo, v. 23, n. 4, p. 531, 2000.

COSTA, T. L. **Propriedades físicas e físico-químicas do óleo de duas cultivares de mamona**. 2006. 115 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola)- Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande, 2006.

COX, M. M.; NELSON, D. L. **Lehninger princípios de bioquímica**. 6. ed. São Paulo: Sarvier, 2014. 1304 p.

CRANE, J. H.; BALERDI, C. F.; MAGUIRE, I. **Sugar apple growing in the Florida home landscape**. Gainesville: University of Florida, 2005. 9 p.

CRUZ, L. S. et al. Caracterização física e química da casca, polpa e semente de atemoia 'Gefner'. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 12, p. 2280-2286, 2013.

FRUTAS Brasil: cultura da atemoia. Disponível em: <<http://minhasfrutas.blogspot.com/2009/04/cultura-da-ateoia.html>>. Acesso em: 3 mar. 2015.

FURQUIM, L. C. et al. Efeito da secagem e do armazenamento das sementes de pinhão-mansó (*Jatropha curcas* L.) na qualidade do óleo. **Revista Científica**, Goianésia, n. 1, p. 51-70, 2014.

GARCIA, C. M. **Transesterificação de óleos vegetais**. 2006. 120 p. Dissertação (Mestrado em Química) – universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2006.
KIM, S. M.; CHUNG, H. J.; LIM, S. T. Effect of various heat treatments on rancidity and some bioactive compounds of rice bran. **Journal of Cereal Science**, London, v. 60, n. 1, p. 243–248, 2014.

KNOTHE, G. et al. **Manual do biodiesel**. São Paulo: E. Blücher, 2006.

LIMA, J. R. O. et al. Biodiesel de babaçu (*Orbignya sp.*) obtido por via etanólica. **Química Nova**, São Paulo, v. 30, n. 3, p. 600-603, 2007.

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

LUTZ, I. A. **Métodos químicos e físicos para análise de alimentos**. 4. ed. São Paulo: IMESP, 2008. 1020 p.

MAIA, E. L. **Material didático teórico: tecnologia do pescado I**. Fortaleza: Universidade Federal do Ceará, 2006.

MARZZOCO, A.; TORRES, B. B. **Bioquímica básica**. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2013. 385 p.

MEHER, L. C.; SAGAR, D. V.; NAIK, S. N. Technical aspects os biodiesel production by transesterification: a review. **Renewable & Sustainable Energy Reviews**, Oxford, v. 10, p. 248-268, 2006.

MENDONÇA, M. A. et al. Alterações físico-químicas em óleos de soja submetidos ao processo de fritura em unidades de produção de refeição no Distrito Federal. **Comunicação em Ciências da Saúde**, Brasília, v. 19, n. 2, p. 115-112, 2008.

OLIVEIRA, D. et al. Influência das variáveis de processo na alcoólise enzimática de óleo de mamona. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 24, n. 2, p. 178-182, 2004.

PARENTE, E. J. S. et al. **Biodiesel**: uma aventura tecnológica num país engraçado. Fortaleza: Tecbio, 2003. 66 p.

PAUL, S.; MITTAL, G. S. Regulating the use of degraded oil/fat in deep-fat/oil food frying. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Boca Raton, v. 37, n. 7, p. 635-662, 1997.

PEREIRA, F. M.; KAVATI, R. Contribuição da pesquisa científica brasileira no desenvolvimento de algumas frutíferas de clima subtropical. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, p. 92-108, 2011. Especial.

PINTO, A. C. et al. Biodiesel, an overview. **Journal of Brazilian Chemistry Society**, Campinas, v. 16, p. 1313-1330, 2005.

PUPA, J. M. R. Óleos e gorduras na alimentação de aves e suínos. **Revista Eletrônica Nutritime**, Viçosa, MG, v. 1, n. 1, p. 69-73, 2004.

SANTOS, C. R. et al. **Produção de atemóia no submédio São Francisco**. Petrolina: Embrapa Semi-Árido, 2001. 10 p.

TASSINARI, T. **Monitoramento de caixa retentora de gordura com aeração opcional visando a obtenção de óleos e gorduras para a produção de biodiesel**. 2014. 79 p. Dissertação (Mestrado em Recursos Hídricos em Sistemas Agrícolas) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2014.

URIOSTE, D. et al. Síntese de padrões cromatográficos e estabelecimento de método para dosagem da composição de ésteres de ácidos graxos presentes no

biodiesel a partir do óleo do babaçu. **Química Nova**, São Paulo, v. 31, n. 2, p. 407-412, 2008.

VERMEERSCH, G. Biofuel: a topical issue. **European Journal of Lipid Science and Technology**, Weinheim, v. 104, p. 360–375, 2002.

VISENTAINER, J. V.; FRANCO, M. R. B. **Ácidos graxos em óleos e gorduras**: identificação e quantificação. São Paulo: Varela, 2006. 120 p.

YANG, Z. et al. Factors affecting oxidation stability of commercially available biodiesel products. **Fuel Processing Technology**, Amsterdam, v. 106, p. 366–375, 2013.

SEGUNDA PARTE – ARTIGOS

**Artigo Publicado na Revista African Journal of Biotechnology
DOI:10.5897/AJB2014.14119**

**Artigo 1 - Caracterização química e físico-química do óleo das sementes de
atemoia ‘Gefner’**

**Chemical and physicochemical characterization of the seed oil from
‘Gefner’ atemoya**

LUCIANA SOARES DA CRUZ^{1*}; ANGELITA DUARTE CORRÊA¹;
VALQUÍRIA ALVES BASTOS¹; PEDRO CASTRO NETO²;
LUCIANA DE MATOS ALVES PINTO¹.

¹Departamento de Química, Universidade Federal de Lavras (UFLA), Campus
Universitário, Caixa Postal 3037, CEP 37200-000, Lavras- MG, Brasil, e-mail:
lucianasoaresdacruz@yahoo.com.br *Autor para correspondência.

²Departamento de Engenharia Agrícola, Universidade Federal de Lavras
(UFLA), Campus Universitário, Caixa Postal 3037, CEP 37200-000, Lavras- MG,
Brasil.

RESUMO

A atemoia é um fruto híbrido derivado do cruzamento entre a fruta-do-conde, mais conhecida como ata (*Annona squamosa L.*), com a cherimoia (*Annona cherimola Mill.*). O objetivo neste trabalho foi comparar duas metodologias de extração do óleo das sementes de atemoia 'Gefner' em relação ao rendimento, características químicas e físico-químicas, visando a sua utilização como biocombustível. A extração física mostrou ser economicamente mais viável que a química, apresentando uma menor quantidade de resíduos e não acarretando oxidação do óleo extraído. Os índices de saponificação e éster foram altos, mostrando que os óleos possuem um alto teor de triacilgliceróis. O perfil de ácidos graxos, índice de iodo e o índice de refração confirmaram o alto grau de insaturação dos ácidos graxos, demonstrando a vantagem de poder garantir uma maior fluidez. O óleo apresenta uma acidez elevada, requerendo um processo de neutralização. As diferentes técnicas de extração não interferiram de forma significativa nos índices analisados, exceto para o índice de peróxido. Os ácidos graxos majoritários são os ácidos oleico, palmítico e esteárico. As sementes de atemoia 'Gefner' representam uma fonte de óleo de boa qualidade, podendo ser aplicadas com segurança na produção de biocombustível.

Palavras-chave: Annona. Biocombustível. Ácidos Graxos.

ABSTRACT

Atemoya is a hybrid fruit derived from the crossing of sugar-apple (*Annona squamosa* L.), with cherimoya (*Annona cherimola* Mill.). The objective in this study was to compare two extraction methods of the 'Gefner' atemoya seeds oil in relation to yield, chemical and physico-chemical characteristics, in order to use the oil as biofuel. The physical extraction proved to be more economically viable than the chemical, with a lower amount of waste and did not cause the oxidation of the extracted oil. Saponification and ester values were high, showing that the oils have high triacylglycerol content. Fatty acid profile, iodine and refractive value confirmed high unsaturation degree of the fatty acids, demonstrating the advantage of ensuring high fluidity. The oil presents a high acidity, requiring a neutralization process. The different extraction techniques did not interfere significantly in the analyzed values, except for the peroxide value. The major fatty acids are oleic, palmitic and stearic. The 'Gefner' atemoya seed represents a source of good quality oil, and could be safely applied in the biofuel production.

Keywords: Annona. Biofuel. Fatty acids.

1 INTRODUCTION

Atemoya is a hybrid fruit derived from the crossing of a tropical fruit, sugar-apple, also known as ata (*Annona squamosa* L.), with cherimoya (*Annona cherimola* Mill.) native to the Andean regions of Chile, Peru, Bolivia, Ecuador and regions of mild climate. Atemoya had its origin in 1908, when the first artificial crossing was performed in the United States Department of Agriculture's Subtropical Laboratory, in Miami. For a long time, there was a certain disinterest in the fruit but, in the 1940s, studies were initiated in Israel, aiming to standardize its spread (MORTON, 1987).

'Gefner' atemoya presents on average 56 seeds per fruit, equivalent to 8.4% of its total weight, and its total lipid content is 27.3 g 100 g⁻¹ (CRUZ, 2012). This content is relatively high, when compared to those of other seeds, which are oil sources used as biofuel.

Plant seeds are usually discarded by industry and consumers, but could be used as an alternative oil source, and be safely applied in the chemical industry, adding more value to the fruit. There is a lack of information on atemoya seed oil in the research literature.

This hybrid can meet desirable and relevant characteristics coming from the two species that participated in its crossing, and it is important to conduct research to develop a technological extraction of the oil from these seeds, which must be efficient, economic and safe to the environment.

Therefore, the objective of this study was to compare two extraction methodologies for the seed oil from 'Gefner' atemoya, for yield, chemical and physicochemical characteristics, in order to use the oil as biofuel.

2 MATERIAL AND METHODS

The orchard where the atemoya was grown is situated in the municipality of Jaíba, located in northern Minas Gerais, during the 2010/2011 agricultural cycle. The geographical coordinates lie between 14°33' and 15°28' south latitude, and 43°29' and 44°06' west longitude, at 500 m altitude. The average annual temperature is 24°C and the average summer and winter temperatures are 32° and 19.5°C, respectively. The fruits were harvested at the appropriate maturation stage, e.g. on time, packed in cardboard boxes and sent overland to Lavras, MG, 1000 kilometers away from Jaíba. The refrigerated transport (20°C) took approximately 10 hours. In Lavras, the fruits were transferred to the laboratory, where they were selected for the absence of defects, size and maturity stage, with 82 fruits for each replicate, totaling 902 fruits.

The seeds from each replicate were separated and washed with distilled water, weighed and dried in a forced-air circulation oven, with temperatures ranging from 60° to 65°C, until they approximately reached a humidity lower than 6%. The seeds were then vacuum-packed in plastic bags and stored at -10°C in a cold chamber until oil extraction, according to the methodology proposed by the AOAC (2012).

Oil extractions were performed by pressing and solvent. Oil pressing was performed in a continuous expeller press. For the oil extraction, 3 kg of dry seeds were used. The chemical extraction was performed with a Soxhlet extractor using hexane as solvent (68°C); the oil was then rotaevaporated at 70°C, using vacuum with a reduced pressure of -760 mmHg for four hours in order to remove the solvent remaining in the sample; no more hexane was removed during this time interval. These oils were collected in amber glass

containers and stored at approximately -20°C to prevent uncontrollable oxidative changes, according to the methodology proposed by the AOCS (1998).

The oils extracted from the two types of treatment were characterized according to standard methods of analysis for oils and fats from the Adolfo Lutz Institute (2008).

Humidity determination was performed by oil dehydration in an oven at 105°C , until constant weight. The determination of total insoluble content consisted in dissolving the residue (resulting from humidity determination) with ether, filtering with filter paper and heating in an oven at 105°C until constant weight. Ash determination was performed by heating the filter paper containing the total insoluble content in ether, incinerating it in a muffle at 550°C for 3 hours. The determination of organic insoluble content in ether was performed in order to reduce the weight of the total insoluble content, as well as the weight of the corresponding ash. The determination of total lipids was performed from 100 g sample, subtracting the mass of humidity from the mass of total insoluble content in ether.

The iodine value determines the degree of unsaturation of the oil and was measured by the Wijs method, and the result is expressed in $\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ dry basis (DB). The acid value was determined by the amount of sodium hydroxide used to neutralize the free fatty acids in one gram of oil, and the result is expressed in $\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ DB. The peroxide value indicates the degree of oxidation of an oil, determined by titration with sodium thiosulphate in the presence of a saturated solution of potassium iodide, with a result expressed in meq kg^{-1} DB. The saponification number is defined as the number of mg of potassium hydroxide required to neutralize the fatty acids resulting from the hydrolysis of 1 g of oil and is expressed in mg KOH g^{-1} DB. The refractive index was determined with an Abbe refractometer at 25°C .

The difference between saponification and acid values results in the ester value, which represents the amount of triacylglycerols in the sample, and is expressed in mg KOH g⁻¹ DB (COCKS; VAN REDE, 1966).

For the determination of the fatty acid profile, oil esterification was performed, using the method of Hartman & Lago (1973): 2 mL of 0.5 mol L⁻¹ NaOH were added, in methanol, to the residue obtained after evaporation. It was then placed in a boiling bath for 5 minutes, where 2.5 mL of esterifying reagent were added. It was again placed in a boiling bath for 5 minutes, and then cooled. After cooling, 2.0 mL of saturated NaCl and 2.5 mL of hexane were added. After stirring, the sample was centrifuged at 2,500 x g for 10 minutes. The phases were separated, the bottom was discarded and the upper part was stored for solvent evaporation, using gaseous nitrogen. The obtained residues were stored under refrigeration until the analyses were performed.

The fatty acid composition was determined by gas chromatography, and a chromatograph (GC-2010, Shimadzu) equipped with a mass detector and a 30 m x 0.25 mm fused-silica capillary column was used, containing polyethylene glycol as the stationary liquid phase. The standard used was a mixture of 37 methyl esters (SupelcoTM 37 Component FAME Mix), from C:4 to C22:6, with a purity of 99.9%.

The following operating parameters were used: “split” injection mode, with a split ratio of 1:20; injection volume of 1 µL; temperature of detector at 240°C; temperature of injector at 220°C; temperature program: beginning at 60°C with a linear ramp of 5°C/minute until reaching 240°C; this temperature was kept for 5 minutes, as well as the heating ramp, at 10°C/minute until reaching 270°C, keeping this temperature. To perform the gas chromatography, it was necessary to redissolve the samples in 0.5 mL hexane. Peak identification was performed by a comparative method with the retention times of the

standard fatty acid esters and the results were performed by integration of the peak areas, and expressed in area percentage.

The experiment was conducted in a completely randomized design in a 2 x 11 factorial scheme, with two treatments (physical extraction and chemical extraction), and eleven repetitions.

Statistical analyses were performed according to standard techniques of the Sisvar software. When the analysis of variance showed a significant difference, the Tukey test was used to compare means, with a probability of 5%.

3 RESULTS AND DISCUSSION

The results of the present study were not compared with other seed oils from other Annonaceae, since records were not found in the literature.

The oil yield in the chemical extraction was $25.92 \pm 0.53 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$, higher than that obtained by pressing, which was $20.04 \pm 2.11 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$. Freire (2001) determined the yield of castor seed oil by chemical extraction and found $48.6 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$. The yield of atemoya seed oil was lower than that of castor bean; however, it is still quite high.

The physical extraction has the advantage of being economically viable, leading to a higher total lipid content, with $95.6 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1} \text{ DB}$, whereas in the chemical extraction, the content was lower, with $88.9 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1} \text{ DB}$ (Table 1). Furthermore, the chemical extraction has the disadvantage of the presence of hexane (approximately $6.7 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1} \text{ DB}$ remained in the oil), since the rotaevaporation process did not completely remove hexane, and resulted in a higher oxidation of the extracted oil, shown later in the analysis of the peroxide value.

Oven drying at 65°C represented a good form of seed dehydration which, after drying, exhibited $3.3 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$ humidity. The oil from the physical extraction had $0.9 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$ humidity, and this content is not a problem, since, for its use, this content may be reduced to the ideal value, which is $0.5 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$ according to ANP (2010), performing a dehydration in an oven.

The levels of total insoluble content and organic insoluble content in ether were statistically equal, showing that the extraction method did not influence the level of these constituents. The levels of organic insoluble content in ether were lower than those reported by Oliveira et al. (2011), who conducted a study with pequi oil and found $5.95 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1} \text{ DB}$. The ash content was 0.5 g

100 g⁻¹ DB for the chemical extraction, higher than that of the physical extraction, which was 0.3 g 100 g⁻¹ DB.

According to Lutz (2008), organic insoluble content in ether indicates the amount of insoluble matter in the organic compound and the amount of residue resulting from the extraction, reducing the quality of the oil and increasing the possibility of rancidification.

The results for the physicochemical characteristics of atemoya seed oils are shown in Table 2. The iodine value (II) of the seed oil from 'Gefner' atemoya in the physical and chemical extractions was statistically equal, 82.0 g 100 g⁻¹ DB and 82.4 g 100 g⁻¹ DB, respectively. These contents were higher than those by Oliveira et al. (2011), who conducted a study with pequi oil and found 6.2 g 100 g⁻¹ DB; and smaller than that of castor seed oil (BRS-149) reported by Costa (2006), which was 92.27 g 100 g⁻¹ DB.

Atemoya seed oil meets the recommendation of ANVISA due to its higher fluidity, satisfying an important characteristic required for use as a biofuel. The Brazilian legislation (ANVISA, 2005) places no limits for II in vegetable oils for use in biofuels but, according to the AOCS (1998), the optimal II must be between 81 and 91 g 100 g⁻¹.

The acid value (IA) in the physical and chemical extractions was also statistically equal, 1.37 g 100 g⁻¹ DB and 1.42 g 100 g⁻¹ DB, respectively. This IA is fairly high, compared with the specifications established by the National Petroleum Agency (ANP, 2010) for vegetable oils, which must be lower than 0.5 mg KOH g⁻¹ DB. The obtained values would be appropriate for the production of biodiesel, since they are fixed in the transesterification reaction.

Silva (2005) found an IA of 1.87 g 100 g⁻¹ DB in andiroba oil, a value which was higher than that found for atemoya seed oil. According to Cnakci & Van Gerpen (2001), a high acidity can be neutralized with a basic catalyst in a

transesterification, and a higher amount of catalyst would be required for the reaction to be conducted efficiently.

The peroxide value (IP) in the physical extraction ($11.1 \text{ meq kg}^{-1} \text{ DB}$) was statistically different from that obtained for the chemical extraction ($22.6 \text{ meq kg}^{-1} \text{ DB}$). Only the IP of the oil from the physical extraction is close to the recommended since, according to ANVISA (2005), the IP should be a maximum of $10 \text{ meq kg}^{-1} \text{ DB}$. According to Lutz (2008), the amount of peroxide indicates the extent to which the oxidation progressed.

There was a significant difference between the saponification numbers (IS) for the two extractions, with $152.93 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1} \text{ DB}$ for the physical and $160.47 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1} \text{ DB}$ for the chemical. These numbers were lower than those found by Silva (2005), who found $193.84 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1} \text{ DB}$ for andiroba oil. According to the AOCS (1998), the ideal is that the IS is between 176 and 187 mg g^{-1} . The values in atemoya seed oil were just below the recommended for biofuel production, which has fatty acids with a low molecular weight.

For the refractive index (IR), there was no significant difference for the two extractions, with 1.170 for the physical extraction and 1.136 nD for the chemical, and these values were considered low, when compared with that of castor bean (Cultivar BR-188 Paraguaçu), which was 1.466 nD, according to Costa (2006). According to the AOCS (1998), the ideal is that IR values range between 1.473 nD and 1.4773 nD. The IR of oils and fats is often used as a criterion of quality and identity since, for an oil, this index increases with II and can be used in the control of the hydrogenation of unsaturated oils (CECCHI, 2003).

The ester value (IE) allows to calculate the percentage of ester which represents the amount of triacylglycerols present in the oil. There was no significant difference between the IE for the extractions, and the percentage of ester for the two extractions was almost insignificant, with $151.56 \text{ mg KOH g}^{-1}$

DB and 99.10% DB for the physical extraction and 159.05 mg KOH g⁻¹ DB and 99.12% DB for the chemical extraction. These values are considered excellent for the application in biofuel since, according to the ANP (2010), the percentage of ester must be at least 96.5%.

Table 3 presents the fatty acid composition of the seed oil from 'Gefner' atemoya for two types of extractions. Unsaturated fatty acids of oils resulting from physical (66.5%) and chemical (66.7%) extractions were in a higher amount. Atemoya seed oil showed a lower content of unsaturated fatty acids, compared with araticum pulp oil (79.3%), and a higher content than that of the *Butia capitata* oil (63.8%) (LOPES et al., 2012).

The highest percentage of unsaturated fatty acids, for the physical and chemical extraction, respectively, was recorded for 9-octadecenoic acid (18:Δ⁹), known as oleic acid, with 58.8% and 46.8%, followed by 11-eicosanoic acid (20:Δ¹¹), known as vaccenic acid, with 6.6% and 6.5%; and 9-hexadecenoic acid (16:Δ⁹), with 0.7% and 0.7%, known as palmitoleic acid. Lopes et al. (2012) found 66% of oleic acid; 0.24% of vaccenic acid and 0.23% of palmitoleic acid in araticum pulp oil, therefore, with percentages different from the results of this study.

Unsaturated fatty acids with the lowest percentage were cyclopropane-octanoic acid (8:0), with 0.2% and 0.2%, and 9,12-octadecadienoic acid (18:Δ^{9,12}), known as linoleic acid, with 0.2% and 0.2%. Lopes et al. (2012) found higher contents of linoleic acid (1.55%) in the araticum oil.

The percentage of saturated fatty acids was 33.5% and 34.2%, resulting from the physical and chemical extraction, respectively. Lopes et al. (2012) reported a percentage of unsaturated fatty acids of 29.7% in araticum pulp oil, lower than that of this study.

The major saturated fatty acids in atemoya seed oil, resulting from chemical and physical extractions, respectively, were hexadecanoic acid (16:0), with 15.0% and 13.4%, known as palmitic acid; octadecenoic acid (18:0), with 14.1% and 14.5%, known as stearic acid. Lopes et al. (2012) reported, in the araticum oil, 10.78% palmitic acid, followed by 6.83% stearic acid, as major saturated acids.

The contents of oleic acid were similar to those of Segall et al. (2006) and Lima et al. (2007) in pequi pulp oil. Oleic (48.7 to 57.4%) and palmitic (34.4 to 46.79%) acid were identified, and the contents of palmitic acid were higher than those found in atemoya. They also reported, in descending order, the following acids: palmitoleic, linoleic, linolenic, stearic and arachidic, among others, and in atemoya, in descending order, are the following acids: oleic, palmitic, stearic, vaccemic, palmitoleic and linoleic.

4 CONCLUSION

The physical extraction of the seed oil from ‘Gefner’ atemoya proved to be a good extraction methodology for oil, since it has a smaller amount of resulting residues, keeping oil quality and reducing the possibility of rancidification, being an economically viable process.

The fatty acid profile, II, IR, IA, IS and IE, showed values which were considered excellent for use as biodiesel in this study.

It is possible to conclude that the use of the seed oil from ‘Gefner’ atemoya as a raw material, is a safe application in the production of biofuel.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors would like to thank Capes and Fapemig for the financial support, CAPQ (Center for Analysis and Chemical Prospecting from the Chemistry Department/UFLA) for the use of equipments.

REFERENCES

AGÊNCIA NACIONAL DE PETRÓLEO, GÁS NATURAL E BIOCOMBUSTÍVEIS. Resolução ANP N°4, de 2.2.2010 – DOU 3.2.2010 – Retificada DOU 22.2.2010. **Especificação de Biodiesel**. Método ABNT n° 01/2008.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTRY. (2012). **Official methods of analysis**. 19thed. Gaithersburg. 3000p.

Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) (2005). RDC n° 270, de 22 de setembro de 2005. Regulamento técnico para óleos vegetais, gorduras vegetais e creme vegetal. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, n. 184, Seção 1. p.372.

CANAKCI, M.; VAN GERPEN, J. (2001). **Trans. ASAE**. p. 1429- 1436.

CECCHI, H. M. (2003). **Fundamentos teóricos e práticos em análises de alimentos**. 2 ed. Campinas, SP, editora da UNICAMP, 207 p.

COCKS, L.; VAN REDE, C. (1966). **Laboratory Handbook for Oil and Fat Analysts**. Academic Press: London,

COSTA, T. L. (2006). **Propriedades físicas e físico-químicas do óleo de duas cultivares de mamona**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola) - Universidade Federal de Campina Grande. 115p.

CRUZ, L. S. LIMA, R. Z.; ABREU, C. M. P. de; CORRÊA, A. D.; PINTO, L. de M. A. (2013). Caracterização física e química da casca, polpa e semente de atemoia 'Gefner'. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 12, p. 2280-2286.

FREIRE, R. M. M. Ricinoquímica. In: AZEVEDO, D. M. P.; LIMA, E. F. (2001). **O agronegócio da mamona no Brasil**. Campina Grande: Embrapa Algodão; Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, p. 295-335.

HARTMANN, L.; LAGO, R. C. A. (1973). Rapid preparation of fatty acid methyl esters from lipids. **Laboratory Practices**, London, v. 22, p. 475-477, INSTITUTO ADOLFO LUTZ (2008). **Métodos químicos e físicos para análise de alimentos**. 4. ed. São Paulo: IMESP.1020 p.

IUPAC (1979). **Standard Methods for the Analysis of Oils, Fats and Derivates**, 6^a ed., Pergamon Press: Oxford.

LIMA, A.; SILVA, A.M.O.; TRINDADE, R.A.; TORRES, R.P.; MANCINI-FILHO, J. (2007). Composição química e compostos bioativos presentes na polpa e na amêndoa do pequi (*Caryocar brasiliense*, Camb.). **Revista Bras. Fruticultura**, v.29, n.3, p.695-698.

LOPES, R. M.; SILVA, J. P. DA; VIEIRA, R. F.; SILVA, D. B. DA; GOMES, I. DA S.; AGOSTINI-COSTA; T. DA S. (2012). **Composição de ácidos graxos em polpa de frutas nativas do cerrado**. Revista Brasileira de Fruticultura. Jaboticabal - SP, v. 34, n. 2, p. 635-640.

MORTON, J. (1987). Atemoya. In: **Fruits of warm climates**. Miami. p.72-75. Disponível em: < <http://www.hort.purdue.edu/newcrop/morton/atemoya.html>.> Acesso em: 03 Jan. 2014.

OFFICIAL METHODS AND RECOMMENDED PRACTICES OF AMERICAN OIL CHEMISTS' SOCIETY, (1998). 5. ed., **AOCS**: Champaign,

OLIVEIRA, E. N. A. DE.; SANTOS, D. DA.C.; JOABIS NOBRE MARTINS, J. N.; BEZERRA, L. C. N. DE M. (2011). **Obtenção e caracterização de margarina convencional e light à base de óleo de pequi**. Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos (B.CEPPA), Curitiba, v. 29, n. 2, jul./dez.

SEGALL, S. D.; ARTZ W. E.; RASLAN, D. S.; FERRAZ, V. P.;
TAKAHASHI, J. A. (2006). Triacylglycerol analysis of pequi (*Caryocar
brasiliensis* Camb.) oil by electrospray and tandem mass spectrometry. **Journal
of the Science of Food and Agriculture**, v.86, n.3, p.445-452.

SILVA, C. L. M. DA. (2005). **Obtenção de ésteres etílicos a partir da
transesterificação do óleo de andiroba com etanol**. Dissertação.
Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Química. Campinas, SP. 64p.

List of Tables:

Table 1 Chemical composition of the seed oil from ‘Gefner’ atemoya, from two types of extraction

Chemical components	Extractions	
	Physical	Chemical
Total lipids (g 100 g ⁻¹ dry basis - DB)	95.6 ± 0.2a	88.7 ± 0.3b
Humidity (g 100 g ⁻¹)	0.9 ± 0.1a	7.6 ± 0.1b
Total insolubles (g 100 g ⁻¹ DB)	3.5 ± 0.1	3.5 ± 0.3
Organic insolubles (g 100 g ⁻¹ DB)	3.2 ± 0.1	3.0 ± 0.3
Ash (g 100 g ⁻¹ DB)	0.3 ± 0.0b	0.5 ± 0.1 a

Data are the mean of 11 replicates ± standard deviation.

Different letters indicate significant differences by the Tukey test at 5% probability.

Table 2 Physicochemical characteristics of the seed oil from ‘Gefner’ atemoya, from two types of extraction

Parameters	Type of extraction	
	Physical	Chemical
Iodine value (g 100 g ⁻¹ dry basis - DB)	82.0 ± 0.29	82.4 ± 0.52
Acid value (mg KOH g ⁻¹ DB)	1.37 ± 0.29	1.42 ± 0.05
Peroxide value (meq kg ⁻¹ DB)	11.1 ± 0.0b	22.6 ± 0.0a
Saponification number (mg KOH g ⁻¹ DB)	152.93 ± 0.12b	160.47 ± 2.30a
Refractive index (nD)	1.170 ± 0.0a	1.136 ± 0.01b
Ester value (mg KOH g ⁻¹ DB)	151.56 ± 0.35	159.05 ± 2.35
Ester (%DB)	99.10 ± 0.16	99.12 ± 0.05

Data are the mean of 11 replicates ± standard deviation.

Different letters indicate significant differences by the Tukey test at 5% probability.

Table 3 Fatty acid profile of the seed oil from ‘Gefner’ atemoya, from two types of extraction, expressed as % of peak area on the chromatogram

IUPAC name (1979)	Extractions		
	Fatty acids	Physical	Chemical
Pentanoic acid	5:0	traces	0.2 ± 0.0
Tetradecanoic acid	14:0	0.2 ± 0.0	0.2 ± 0.0
Pentadecanoic acid	15:0	traces	0.1 ± 0.1
Hexadecanoic acid	16:0	15.0 ± 0.7	13.4 ± 3.5
Heptadecanoic acid	17:0	0.8 ± 0.2	0.8 ± 0.2
Octadecanoic acid	18:0	14.1 ± 0.4	14.5 ± 3.7
Nonadecanoic acid	19:0	0.3 ± 0.1	0.3 ± 0.1
Heneicosanoic acid	20:0	traces	0.1 ± 0.0
Docosanoic acid	22:0	1.2 ± 0.1	1.4 ± 0.7
Tricosanoic acid	23:0	0.2 ± 0.0	0.2 ± 0.1
Tetracosanoic acid	24:0	1.1 ± 0.1	1.4 ± 0.9
Pentacosanoic acid	25:0	0.2 ± 0.0	0.1 ± 0.1
Hexacosanoic acid	26:0	0.2 ± 0.0	0.1 ± 0.0
Cyclopropane-octanoic acid	8:0	0.2 ± 0.0	0.8 ± 0.1

Benzoic acid	7:3($\Delta^{1,3,5}$)	nd	0.3 \pm 0.0
7-hydroxy-7-methyl- octanoic acid	8:2($\Delta^{7\text{-OH-7ME}}$)	nd	0.1 \pm 0.1
9-hexadecenoic acid	16:1(Δ^9)	0.7 \pm 0.2	0.7 \pm 0.2
11-eicosanoic acid	20:1(Δ^{11})	6.6 \pm 0.2	6.5 \pm 0.5
9-octadecenoic acid	18:1(Δ^9)	58.8 \pm 0.4	46.8 \pm 1.1
10-octadecenoic acid	18:1(Δ^{10})	nd	11.6 \pm 8.3
9,12-octadecadienoic acid	18:2($\Delta^{9,12}$)	0.2 \pm 0.0	0.1 \pm 0.0
Σ Saturated		33.5 \pm 4.2	34.2 \pm 4.0
Σ Unsaturated		66.5 \pm 12.8	66.7 \pm 10.4

Data are the mean of 11 replicates \pm standard deviation.

nd: not detected

Artigo a ser enviado para a Revista African Journal of Biotechnology

**Artigo formatado de acordo com as normas da Revista African Journal of
Biotechnology**

**Artigo 2 - Caracterização do biodiesel obtido do óleo das sementes de
atemoia**

LUCIANA SOARES DA CRUZ^{2*}; BÁRBARA LEMES OUTEIRO
ARAÚJO²; LUIZ ROBERTO MARQUES ALBUQUERQUE¹; PEDRO
CASTRO NETO²; ANGELITA DUARTE CORRÊA¹; LUCIANA DE
MATOS ALVES PINTO¹.

¹Departamento de Química, Universidade Federal de Lavras (UFLA), Campus
Universitário, Caixa Postal 3037, CEP 37200-000, Lavras- MG, Brasil, e-mail:
lucianasoaresdacruz@yahoo.com.br *Autor para correspondência.

²Departamento de Engenharia Agrícola, Universidade Federal de Lavras
(UFLA), Campus Universitário, Caixa Postal 3037, CEP 37200-000, Lavras- MG,
Brasil.

RESUMO

O biodiesel é proveniente de fontes renováveis como os óleos vegetais, obtido através de um processo de transesterificação, em que ocorre a transformação dos triacilgliceróis em moléculas menores de ésteres de ácidos graxos e glicerol. A reação de transesterificação do óleo da semente de atemoia 'Gefner', extraído por prensa (física) e por solvente (química), foi realizada com o objetivo de analisar os ésteres metílicos produzidos durante a reação de transesterificação. As reações foram monitoradas por cromatografia gasosa acoplada a um espectrômetro de massas (CG-EM), e Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN-¹H). Para cada óleo foram determinados os ésteres metílicos formados durante a reação de transesterificação com metanol. Observa-se que os valores dos três ésteres metílicos majoritários (16:0, 18:0, 18:1 e 18:2) formados até 25 minutos de reação, são próximos aos obtidos de outros biodieseis relatados na literatura, sendo a área e os tempos de retenção também semelhantes. Não foi possível observar mudança na intensidade dos sinais com o tempo em nenhum dos óleos obtidos pelos dois métodos de extração. Também foi observado que o método de extração não exerceu influência nos tipos de ésteres metílicos formados durante a produção de biodiesel.

Palavras-chave: Annona. Extração de óleo. Transesterificação.

ABSTRACT

The biodiesel is derived from renewable sources such as vegetable oils, obtained by a transesterification process, which occur the transformation of triacylglycerols into smaller molecules of esters from fatty acids and glycerol. The transesterification reaction of the 'Gefner' atemoya seeds oil extracted by pressing (physical) and solvent (chemical) was performed aiming to analyze the methyl esters produced during the transesterification reaction. The reactions were monitored by gas chromatography coupled to a mass spectrometer (GC-MS), and Hydrogen Nuclear Magnetic Resonance spectroscopy ($^1\text{H-NMR}$). For each oil were determined the methyl esters formed during the transesterification reaction with methanol. It was observed that three major methyl esters values (16:0, 18:0, 18:1 and 18:2) formed up to 25 minutes of reaction are close to those obtained from other biodiesels found in the literature; it is the area and retention times also similar. It was not possible to observe change in the signals intensity with time on any oil obtained by the two extraction methods. It was also noted that the extraction method had no influence on the types of methyl esters formed during the biodiesel production.

Keywords: Annona. Oil extraction. Transesterification.

1 INTRODUÇÃO

O biodiesel é definido como o derivado mono-álquil éster de ácidos graxos de cadeia longa, proveniente de fontes renováveis como os óleos vegetais, obtido através de um processo de transesterificação, em que ocorre a transformação dos triacilgliceróis em moléculas menores de ésteres de ácidos graxos e glicerol. Sua utilização está associada à substituição de combustíveis fósseis em motores de ciclo diesel. Apresenta um potencial promissor, não só pela sua enorme contribuição ao meio ambiente, com a redução dos níveis de poluição ambiental, mas também pela geração de energia renovável em substituição ao óleo diesel e outros derivados do petróleo (PINTO et al., 2005).

Em 2013, o Brasil ocupou a posição do 2º maior consumidor mundial de biodiesel, ficando somente atrás dos EUA que teve a demanda de 5,2 milhões de m³. Em relação à produção, os EUA possuem a liderança com produção de 5,1 milhões m³ em 2013, seguidos pela Alemanha e o Brasil, com produção de 3,6 e 3,0 milhões m³ de biodiesel, respectivamente (AGÊNCIA NACIONAL DO PETRÓLEO, GÁS NATURAL E BIOCOMBUSTÍVEIS - ANP, 2013).

Em 2004, o governo brasileiro iniciou o Programa Nacional de Produção do Biodiesel (PNPB). O biodiesel pode substituir, em parte ou totalmente, o diesel mineral para veículos leves, caminhões, tratores e geradores (mistura 2%-5%). A mistura de biodiesel no Brasil é legalmente estabelecida desde 2008. Primeiramente, a mistura obrigatória era de 2% e, pouco a pouco, foi elevada a 5% (KOHLHEPP, 2010).

Segundo Ferrari, Oliveira e Scabio (2005) o biodiesel encontra-se registrado na “Environment Protection Agency - Estados Unidos” como um combustível e como um aditivo para combustíveis. Após a transesterificação, o biodiesel pode ser usado puro a 100% (B100) ou misturado numa proporção de

5 a 100%, cuja utilização está associada à substituição de combustíveis fósseis em motores do ciclo diesel, sem haver a necessidade de nenhuma modificação no motor.

Diversos óleos vegetais têm sido testados em transesterificações com metanol ou etanol e apresentaram sucesso na produção do biodiesel. As sementes de amendoim, girassol e soja, são utilizadas como biodiesel, seus teores de óleo nas sementes são, em g 100 g⁻¹, de 41,3, 60,2 e 24,5 respectivamente, de acordo Constantino et al. (2014).

A atemoieira é um híbrido interespecífico entre a cherimoia e a ata. Foi introduzida no Brasil na década de 80, do século 20. É cultivada principalmente nas regiões Sul e Sudeste do Brasil. Na década de 90, do século 20, este híbrido, variedade 'Gefner' foi introduzido com sucesso no Nordeste do Brasil. No país, já apresenta uma área superior a 1.500 hectares espalhados pelos estados de São Paulo e Paraná e região Nordeste do Brasil (BRAGA SOBRINHO, 2014).

As sementes de atemoia representam 8,4% do peso do fruto e apresentam potencial para serem utilizadas como biodiesel, já que o seu teor em lipídios é de 27,3 g 100 g⁻¹ (CRUZ et al., 2013). Esse teor é próximo ao de outras sementes, como a de soja, que são fontes de óleos para a obtenção de biocombustível. A utilização da semente de atemoia para a obtenção de biodiesel agregará valor ao fruto.

Portanto, o objetivo neste trabalho foi analisar os ésteres metílicos formados no decorrer da reação de transesterificação do óleo das sementes de atemoia 'Gefner', obtido por extração física (prensa) e química (solvente).

2 MATERIAL E MÉTODOS

A atemoia foi cultivada no pomar situado no município de Jaíba, localizado no norte de Minas Gerais/Brasil, durante o ciclo agrícola 2010/2011. Situa-se sob coordenadas geográficas compreendidas entre 14°33' e 15°28' latitude Sul e 43°29' e 44°06' longitude Oeste, a 500 m de altitude. A temperatura média anual é de 24 °C e as médias de verão e inverno são 32 °C e 19,5 °C, respectivamente. Os frutos adquiridos foram colhidos no estágio de maturação adequado para o consumo, de vez, acondicionados em caixas de papelão e enviados, via terrestre, para Lavras, MG/Brasil, distante 1.000 km de Jaíba. Esse transporte refrigerado (20 °C) levou aproximadamente 10 horas. Em Lavras, os frutos foram transferidos para o laboratório, onde foram selecionados quanto à ausência de defeitos, ao tamanho e ao estágio de maturação, sendo 82 frutos para cada repetição, totalizando 902 frutos.

As sementes foram separadas e lavadas com água destilada, pesadas e secas em estufa de circulação forçada de ar, utilizando temperatura de 60 °C a 65 °C até atingirem aproximadamente umidade menor que 6%. Posteriormente, as sementes foram embaladas a vácuo em sacos plásticos e armazenadas à temperatura próxima de -10 °C em câmara fria até a realização das extrações do óleo (AOAC, 2012).

As extrações do óleo foram feitas por prensagem (física) e por solvente (química), segundo Cruz et al. (2013). A prensagem do óleo foi realizada em uma prensa contínua do tipo *expeller* e para extração química utilizou-se o extrator Soxhlet com o solvente hexano (68 °C).

A determinação da umidade foi feita pela desidratação do óleo em estufa, a 105 °C, até peso constante (LUTZ, 2008).

As reações de transesterificação foram realizadas à temperatura de 50 °C por 40 minutos em reator encamisado, no qual foram adicionados 200 mL de óleo vegetal e 50 mL de metanol. Essa mistura foi aquecida a 50 °C e mantida sob agitação mecânica por 20 minutos. Após esse tempo adicionou-se 6 mL de metóxido de sódio (30%), mantendo-se a temperatura e agitação por mais 40 minutos. Posteriormente, transferiu-se a solução para um funil de separação para a separação das fases (biodiesel e glicerina), segundo metodologia proposta por Silva (2005). Foram retiradas 6 alíquotas, nos tempos 0, 10, 20, 30, 40 e 50 minutos de reação. Posteriormente, 1 mL de cada uma das 6 alíquotas retiradas foi tratada com 5 mL de clorofórmio, 0,5 mL de ácido sulfúrico e 10 mL de solução saturada de cloreto de sódio. A fase orgânica obtida foi seca com sulfato de magnésio, rotoevaporada para a retirada do solvente e seca com um fluxo de gás nitrogênio. As amostras obtidas foram analisadas por cromatografia gasosa acoplada a um espectrômetro de massas (CG-EM), e por espectroscopia de ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN-¹H). Para análise por CG-EM as amostras foram ressuspensas em 0,1 mL de hexano.

As amostras foram analisadas em um cromatógrafo gasoso acoplado a um espectrômetro de massas CG-EM QP2010 Plus (Shimadzu, Japan) equipado com injetor automático para líquidos e gases AOC-5000 (Shimadzu, Japan) e uma coluna RTX-5MS (5% phenyl- 95% dimethylsiloxane) 30 m × 0,25 mm × 0,25 µm foram utilizados para a separação e identificação dos compostos. A temperatura do injetor foi mantida a 220 °C e operado no modo split 1:20. O gás de arraste utilizado foi He 5.0 com um fluxo de 1,18 mL min⁻¹. A temperatura do forno foi programada de 60 °C até 240 °C com uma rampa de aquecimento de 5 °C min⁻¹ e de 240 °C até 270 °C com uma rampa de aquecimento de 10 °C min⁻¹ (permanecendo por 7 min). O espectrômetro de massas utilizado foi o de impacto de elétrons (70 eV) utilizando o modo scan (45 a 500 Da) com um corte

de solvente em 3,5 min. A temperatura da interface do detector e da fonte de íons permaneceu a 240 °C e 200 °C, respectivamente. Os compostos foram identificados comparando o espectro de massas obtido com os espectros de massas da biblioteca (Wiley 8 e FFNSC 1.2 libraries).

Para a análise por RMN-¹H, foi usado um espectrômetro EFT-60 (60 MHz) (Anasazi Instruments, Indianapolis, IN) em que foram adquiridos espectros monodimensionais das amostras de biodiesel obtidas pelos dois métodos. As amostras foram previamente tratadas dissolvendo 0,1 mL de biodiesel em 0,1 mL de CDCl₃ com 99,8% de deutério, em tubos RMN de 5 mm. Como padrão de referência interna foi utilizado 0,1 mL de Tetrametilsilano.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O rendimento da reação de transesterificação do óleo obtido por prensagem da semente de atemoia foi: 89% de ésteres metílicos e 11% de glicerina. Já na extração por solvente o rendimento do biodiesel foi de 91% de ésteres metílicos e 9% de glicerina. Esses resultados diferem do trabalho de Ferrari, Oliveira e Scabio (2005) para o biodiesel de soja, que obtiveram 57,26% de ésteres etílicos, 22,29% de glicerina, 10,04% de etanol recuperado e 10,41% de perdas. Observou-se que no biodiesel obtido da semente de atemoia, a concentração de glicerina foi de aproximadamente a metade e, portanto a concentração do biodiesel foi bem maior, além de não ter ocorrido perdas.

Na Tabela 1 está representado o perfil de ésteres metílicos da reação de transesterificação do óleo das sementes de atemoia 'Gefner'. Os ésteres majoritários encontrados no biodiesel de atemoia foram o 18:0, 16:0, 18:1 e 18:2.

A porcentagem de área obtida no tempo de reação de 50 minutos, em que o biodiesel já estava decantado, foi para a prensa/solvente, respectivamente: 16:0 (22,2/24,3), 18:0 (20,64/23,42), 18:1 (28,7/25,26), 18:2 (22,81/15,32). Comparando com os resultados obtidos com os de Urioste et al. (2008), observa-se a presença de um éster a mais, o 18:2.

Urioste et al. (2008), com o objetivo de produzir padrões cromatográficos para determinar com maior precisão ésteres de ácidos graxos obtidos na transesterificação usando os álcoois etanol, propanol e butanol, com o óleo de babaçu, encontraram as seguintes áreas (%) para os ésteres etílicos, propílicos e butílicos provenientes dos seguintes ácidos graxos, respectivamente: 16:0 (24,82; 22,82 e 23,52), 18:0 (21,56; 22,14 e 23,28), 18:1 (24,60; 22,50 e 24,56). Constata-se que, praticamente, não houve diferença entre as áreas dos três ésteres etílicos, propílicos e butílicos formados no biodiesel do babaçu.

Ferrari, Oliveira e Scabio (2005) observaram em seu trabalho com o óleo de soja a predominância de área (%) de ésteres etílicos de ácidos graxos insaturados, sendo para 16:0 (11,29), 18:0 (3,54), 18:1 (22,45), 18:2 (54,62), e para 18:3 (8,11). Observou-se que estes ésteres são os mesmos da transesterificação do óleo de semente de atemoia, exceto 18:3, que não foi encontrado no óleo de atemoia. O éster metílico 18:2 do óleo de semente de atemoia extraído por prensa apresentou área de 22,81% e o de solvente 15,32%, portanto, bem menor que o da soja. Já o éster 18:0 e 18:1 do óleo de atemoia foi maior que o da soja, com 20,64% (prensa) e 23,42% (solvente) e 28,69% (prensa) e 25,26% (solvente), respectivamente. Mostrando que os ésteres que predominam nos biodieseis existentes atualmente são os 16:0, 18:0, 18:1, 18:2 e 18:3.

Marques e colaboradores (2010) enfatizaram a importância da avaliação das áreas dos principais picos, representando a precisão instrumental, a fim de determinar com maior precisão ésteres de ácidos graxos formados durante a reação transesterificação em diferentes trabalhos.

Barbosa et al. (2010) avaliando os ésteres etílicos do óleo da semente de soja encontraram as seguintes áreas (%) para 16:0 (16,0), 18:0 (2,4), 18:1 (23,5), 18:2 (51,2). Observou-se que as áreas de 16:0, 18:0, 18:1 são maiores para atemoia nas duas formas de extração do óleo, prensa e solvente, com o biodiesel já decantado, e menor para 18:2.

Benito et al. (2014) estudando o potencial para biodiesel do óleo de semente de *Annona diversifolia* registraram área (%) para os ésteres metílicos de 16:0 (16,4), 18:0 (5,22), 18:1 (70,4), 18:2 (7,97). Verificou-se que a área para os ésteres metílicos de 16:0, 18:0, 18:2 foram maiores para atemoia, nas duas formas de extração do óleo, prensa e solvente, com o biodiesel já decantado, e menor para 18:1.

Segundo Pinto et al. (2005), um metanol álcool predominantemente utilizado, sendo esse processo adotado em inúmeros países. No Brasil, alguns grupos de

pesquisa e pequenos produtores também utilizam a via metílica para a produção de biodiesel.

Segundo Lôbo, Ferreira e Cruz (2009) o metanol é mais aplicado por ser mais reativo, já o etanol promove uma maior dispersão da glicerina no biodiesel, dificultando a sua separação.

Com relação ao tempo de reação necessário foi de no máximo 30 minutos de reação para a formação dos ésteres metílicos que predominam no biodiesel produzido, e este resultado se assemelha ao de Urioste et al. (2008), que em sua análise com o biodiesel de babaçu teve uma duração máxima de 25 minutos para que os ésteres majoritários (16:0, :18:0 e 18:1) fossem formados.

Encinar et al. (2002) estudando o tempo reacional, verificaram que a reação de transesterificação foi muito rápida, pois a conversão em ésteres etílicos foi próxima do valor máximo com apenas 5 a 10 minutos de reação e se estabilizou no valor máximo após 20 a 30 minutos. Estes valores foram próximos aos utilizados na obtenção do biodiesel da atemoia, com o tempo máximo de 25 minutos de reação.

No entanto, no trabalho do Ferrari, Oliveira e Scabio (2005), após o acompanhamento cromatográfico dos produtos formados após diversos tempos de reação, observaram que o tempo de 5 minutos foi suficiente para a ocorrência da conversão do óleo neutro e seco em éster.

A conversão de ácidos graxos em ésteres metílicos ocorre próxima aos 5 a 10 minutos de reação, se estabilizando no valor máximo entre 20 a 30 minutos de reação.

Segundo Cruz et al. (2015), a extração física por prensa do óleo da semente de atemoia possui a vantagem de ser economicamente viável e acarretar um teor alto com 88,9 g 100 g⁻¹ BS. Além disso, comparando-a com a extração química, em que se utiliza solvente, esta ainda apresenta como desvantagem maior oxidação do óleo extraído.

O perfil dos ésteres metílicos identificados no CG-EM foi confirmado pela análise de RMN-¹H. Nas Figuras 1 e 2 são identificados os principais deslocamentos químicos que caracterizam os ésteres formados.

Após a reação de transesterificação dos óleos de atemoia obtidos pelos dois métodos de extração, prensa e por solvente, observou-se pelos espectros de RMN-¹H, uma diminuição dos sinais referentes aos hidrogênios metilênicos do triacilglicerol entre $\delta = 4,10$ e $4,50$ ppm e um aumento do sinal atribuído aos hidrogênios do grupo metoxila (CH₃-O) em $\delta = 3,68$ ppm, confirmando a presença de um éster metílico. Na Tabela 2 e 3 estão representados os dados de RMN ¹H (60 MHz) do biodiesel (em CDCl₃) comparados com a literatura.

Porém, não foi possível observar uma mudança na intensidade dos sinais com o tempo em nenhum dos óleos obtidos pelos dois métodos de extração, o que sugere que o método de extração não tem influência na característica do óleo obtido, e conseqüentemente no produto formado, o biodiesel.

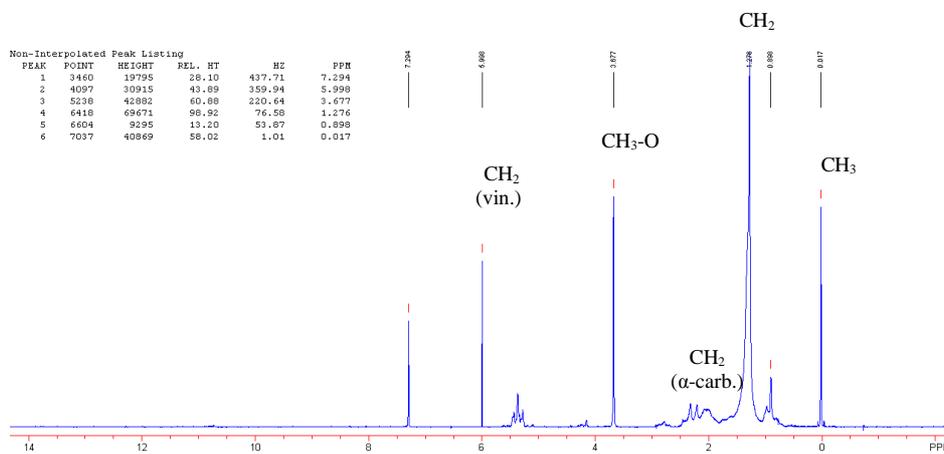


Figura 1 Perfil de ésteres metílicos obtidos no decorrer da reação de transesterificação do óleo das sementes de atemoia 'Gefner', espectro de RMN-¹H, método de extração prensa, tempo 6 de reação.

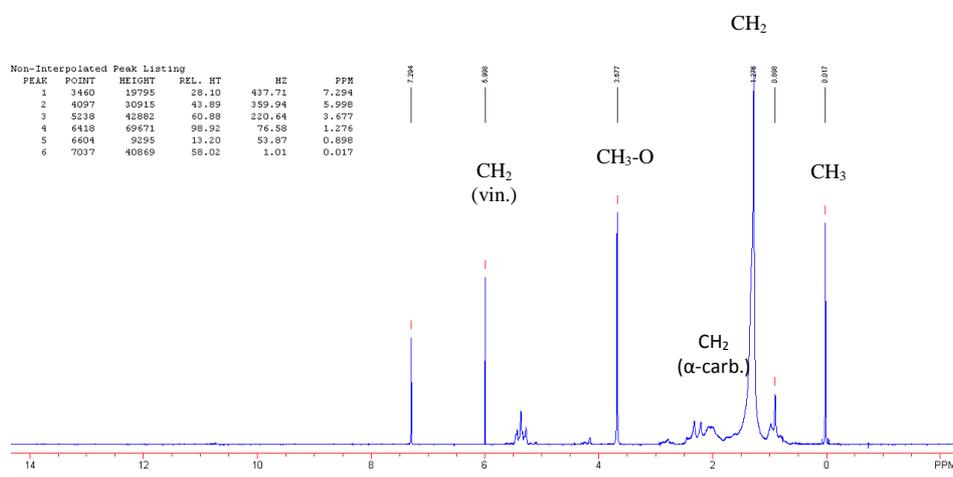


Figura 2 Perfil de ésteres metílicos obtidos no decorrer da reação de transesterificação do óleo das sementes de atemoia 'Gefner', espectro de RMN- ^1H , método de extração por solvente, tempo 6 de reação.

4 CONCLUSÃO

Os ésteres metílicos provenientes dos ácidos graxos 16:0, 18:0, 18:1 e 18:2, formados no decorrer da reação de transesterificação são semelhantes a outros biodieseis existentes atualmente. Os métodos de extração do óleo não tiveram influência nos tipos de ésteres metílicos formados durante a produção de biodiesel.

REFERÊNCIAS

- AGÊNCIA NACIONAL DO PETRÓLEO, GÁS NATURAL E BIOCOMBUSTÍVEIS. Resolução ANP nº 30 (2013). **Biocombustíveis**. Disponível em: <<http://anp.gov.br/?pg=60467&m=&t1=&t2=&t3=&t4=&ar=&ps=&cachebust=1412632744151>>. Acesso em: 3 mar. 2015.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTRY (2012). **Official methods of analysis**. 19th ed. Gaithersburg, 3000 p.
- BARBOSA, C. D.; SERRA, T.M.; MENEGHETTI, S.M.P.; MENEGHETTI, M.R. (2010). Biodiesel production by ethanolysis of mixed castor and soybean oils. **Fuel**, London, v. 89, p. 3791–3794.
- BENITO, R. T. RAMÍREZ, D. G.; PRADA, H. Z.; SÁNCHEZ, J. A. C.; LINO REYES, L.; CHUMACERO, A. R.; SALAZAR, J. A. R. (2014). *Annona diversifolia* seed oil as a promising non-edible feedstock for biodiesel production. **Industrial Crops and Products**, Amsterdam, v. 52, p. 400–404.
- BRAGA SOBRINHO, R. (2014). Produção integrada de Anonáceas no Brasil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 36, p. 102-107, Especial.
- CRUZ, L. S.; CORRÊA, A. D.; BASTOS, V. A.; NETO, P. C.; PINTO, L. de M. A. (2015). Chemical and physicochemical characterization of the seed oil from ‘Gefner’ atemoya. **African Journal of Biotechnology**, v. 14(2), p. 143-148.
- CRUZ, L. S. LIMA, R. Z.; ABREU, C. M. P. de; CORRÊA, A. D.; PINTO, L. de M. A. (2013). Caracterização física e química da casca, polpa e semente de atemoia ‘Gefner’. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 12, p. 2280-2286.
- CONSTANTINO, A. F. JUNIOR, V.L.; SANTOSA, R.B. DOS.; GRECOA, S. J.; RENZO C. SILVA, R.C.; NETO, A.C.; BARBOSA, L.L.; CASTRO, E.V.R. DE; FREITAS, J.C.C. (2014). Análise do teor e da qualidade dos lipídeos presentes em sementes de oleaginosas por RMN de baixo campo. **Química Nova**, São Paulo, v. 37, v. 1, p. 10-17.
- ENCINAR, J. M. GONZÁLEZ, J. F.; RODRÍGUEZ, J. J.; TEJEDOR, A. (2002). Biodiesel fuels from vegetables oils: Transesterification of *Cynara cardunculus* L. oils with etanol. **Energy Fuels**, Washington, v. 19, p. 443-450.

- FERRARI, R. A.; OLIVEIRA, V. S.; SCABIO, A. (2005). Biodiesel de soja: taxa de conversão em ésteres etílicos, caracterização físico-química e consumo em gerador de energia. **Química Nova**, São Paulo, v. 28, n. 1, p. 19-23.
- KOHLHEPP, G. (2010). Análise da situação da produção de etanol e biodiesel no Brasil. **Estudos Avançados**, São Paulo, v. 24, n. 68, p. 223-253.
- LÔBO, I. P.; FERREIRA, S. L. C.; CRUZ, R. S. (2009). Biodiesel: Parâmetros de qualidade e métodos analíticos. **Química Nova**, São Paulo, v. 32, n. 6, p. 1596-1608.
- LUTZ, I. A. (2008). **Métodos químicos e físicos para análise de alimentos**. 4. ed. São Paulo: IMESP, 1020 p.
- MARQUES, M. V.; NACIUK, F. F.; MELLO, A. M. S.; SEIBEL, N. M.; FONTOURA, L. A. M. (2010). Determinação do teor de ésteres graxos em biodiesel metílico de soja por cromatografia gasosa utilizando oleato de etila como padrão interno. **Química Nova**, São Paulo, v. 33, n. 4, p. 978-980.
- PAIVA, D. L.; LAMPMAN, G. M.; KRIZ, G. S.; VYVYAN, J. R. S. (2010). **Introdução à espectroscopia**. 4^o edição, Cengage Learning, São Paulo. p.150-152.
- PINTO, A. C. GUARIEIRO, L. L. N.; REZENDE, M. J. C.; RIBEIRO, N. M.; TORRES, E. A.; LOPES, W. A.; PEREIRA, P. A. P.; DE ANDRADE, J. B.; J. (2005). Biodiesel, an overview. **Journal of Brazilian Chemistry Society**, Campinas, v. 16, p. 1313-1330.
- SILVA, C. L. M. DA. (2005). **Obtenção de ésteres etílicos a partir da transesterificação do óleo de andiroba com etanol**. Dissertação. Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Química. Campinas, SP. 64p.
- URIOSTE, D. CASTRO, M. B. A.; BIAGGIO, F. C.; CASTRO, H. F. DE. (2008). Síntese de padrões cromatográficos e estabelecimento de método para dosagem da composição de ésteres de ácidos graxos presentes no biodiesel a partir do óleo do babaçu. **Química Nova**, São Paulo, v. 31, n. 2, p. 407.

Lista de Tabelas

Tabela 1 Ésteres metílicos obtidos da transesterificação do óleo das sementes de atemoia ‘Gefner’ (% de área do pico), de dois métodos de extração do óleo: prensa (P) e solvente (S).

Ésteres metílicos de ácidos graxos	N ^o de carbonos do ácido graxo proveniente:n ^o insaturação	Tempo de retenção (1 ^a identificação)	Tempo de reação (min)											
			0,1		10		20		30		40		50	
			P	S	P	S	P	S	P	S	P	S	P	S
Methyl octadecanoate	18:0	24,45	25,46	24,65	19,95	20,74	18,50	21,31	20,95	19,96	22,85	21,86	20,64	23,42
Methyl nonanoate	9:0	26,57	0,09	-	-	-	0,02	-	-	-	-	-	0,04	-
Methyl eicosenoate	20:0	28,10	0,07	8,95	0,08	-	0,12	3,5	3,05	2,83	0,03	-	0,06	-
Methyl hexadecanoate	16:0	28,62	27,39	29,39	21,26	21,49	20,47	22,85	22,72	21,61	24,54	23,85	22,2	24,30
Methyl (9z)-9-octadecenoate	18:1	30,09	41,95	24,31	56,62	29,96	32,89	27,95	29,2	29,82	25,06	26,13	28,69	25,26

Methyl heptadecanoate	17:0	30,53		1,77	0,66	0,47	0,39	0,64	0,62	0,44	0,87	0,64	0,44	-
			0,64											
Methyl nonadecanoate	19:0	34,16		0,61	0,14	-	-	-	-	-	0,19	0,14	-	-
			0,14											
Methyl icosanoate	21:0	35,86		-	-	2,92	1,76	-	-	-	4,58	3,78	2,96	6,25
			3,25											
Methyl docosanoate	10:0	38,62		1,64	0,48	0,49	0,25	0,47	0,51	0,48	0,79	0,58	0,51	0,98
			0,56											
Methyl tetracosanoate	24:0	41,04		0,9	0,31	-	0,16	0,34	0,32	0,31	0,47	0,29	0,3	0,51
			0,34											
Methyl tetradecanoate	14:0	24,45	-	0,49	0,19	-	0,06	0,24	0,19	0,16	0,3	-	-	-
Methyl (9z)-9-hexadecenoate	16:1	28,19	-	1,31	0,3	0,45	0,3	0,94	-	0,36	1,56	0,94	0,5	1,65
Methyl (9z,12z)-9,12-octadecadienoate	18:2	31,86	-	3,73	-	23,0	24,8	21,1	22,0	23	17,7	21,03	22,81	15,32
						8	6	2	4		2			
Methyl (11e)-11-icosenoate	20:1	35,45	-	1,53	-	-	0,14	-	-	0,44	0,84	0,59	0,42	1,15

Tabela 2 Deslocamentos químicos (ppm) obtidos por RMN-¹H (60 MHz) do biodiesel, em CDCL₃ a 25 °C, extração prensa

δ_H		
H	Biodiesel atemoia	Paiva et al. (2010)
CH ₃	0,89	0,90
CH ₂	1,27	1,2 - 2,5
CH ₂ (α -carbonila)	2,40	2,1 - 2,5
CH ₃ -O	3,68	3,5 - 4,8
CH ₂ (vinílico)	5,99	4,5 - 7,0

Tabela 3 Deslocamentos químicos (ppm) obtidos por RMN-¹H (60 MHz) do biodiesel, em CDCL₃ a 25 °C, extração por solvente

δ_H		
H	Biodiesel atemoia	Paiva et al. (2010)
CH ₃	0,89	0,90
CH ₂	1,27	1,2 - 2,5
CH ₂ (α -carbonila)	2,40	2,1 - 2,5
CH ₃ -O	3,68	3,5 - 4,8
CH ₂ (vinílico)	5,99	4,5 - 7,0